BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW

Continue signalering van toxische stoffen in het aquatisch milieu met behulp van biologische bewakingssystemen.
Literatuurstudie

J. Botterweg
(Adviesburo BKH, Den Haag
in opdracht van D.B.W./RIZA, Lelystad)

Publikaties en rapporten 1988-5 van het project
"Ecologisch Herstel Rijn", september 1988
(Programma section I. Bioalarm)

Participating Institutes:

On behalf of the Ministry of Transport and Public Works:
Institute for Inland Water Management and Waste Water Treatment
(D.B.W./RIZA), P.O. Box 17, 8200 AA Lelystad).

On behalf of the Ministry of Housing, Physical Planning and the Environment:
National Institute for Public Health and Environmental Protection
(RIVM), P.O. Box 1, 3720 BA Bilthoven.

On behalf of the Ministry of Agriculture and Fisheries:
Netherlands Institute for Fishery Investigations (RIVO),
P.O. Box 68, 1970 AB IJmuiden.

D.B.W./RIZA nr. 89.002

tv3132/46

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS
0000 0334 8618

"Using biological early warning systems for continuous monitoring of toxic substances in the aquatic environment".

ABSTRACT

A review of the literature on biological early warning systems for continuous monitoring of toxic substances in the aquatic environment was carried out.

Monitoring the quality of water using biological early warning systems (BEWS) can be a useful supplement to traditional monitoring methods which are based on chemical analyses. In these analyses the number of parameters is limited and the measured concentrations do not always provide the desired information i.e. the possible effects of the pollution on aquatic organisms.

Equipment which measures biological parameters automatically and continuously is currently available or is being developed. At this moment several of the most recent developments are being tested.

In this literature study 32 biological early warning systems are reviewed. 13 systems are compared for their sensitivity for toxic substances and for their usefulness in a continuous monitoring programme.
Comparison of the sensitivity of these BEWS was only possible for a few substances.
Relatively sensitive systems are those based on respiratory movements of fish, nitrification measurements in bacteria and systems which use photosynthetic organisms such as algae and cyanobacteria.
Relatively insensitive systems are those based on rheotaxis of fish, valve movements of bivalves and measurements based on bacterial oxygen demand.

It appears that there is no system or organism which is most sensitive for all toxic substances.
To detect a wide range of toxic substances it is therefore recommended that different organisms which are sensitive for different substances should be used at the same time in one location.

Data from laboratory experiments and standard toxicity tests can offer information about the sensitivity of the organisms which could be used in a biological early warning system.
Photosynthetic organisms (algae and cyanobacteria) and waterfleas (Daphnia magna) appear to be suitable due to their proven high sensitivity.
Developing and testing systems in which these organisms are used is therefore recommended.

Prior to implementation of BEWS in surface waters or effluents a period of testing in situ is necessary. This is because the high sensitivity shown in the laboratory can be accompanied by a high sensitivity for disturbances in the field situation.
For the application in a continuous monitoring programme BEWS should also have a minimal risk of false alarms, be easy to handle, need little maintanance and be suitable for fully automatic operation. For these criteria the system of Juhnke and Besch, a fish monitor based on rheotaxis of fish, offers perspective.

For the maintenance and operation of a BEWS some knowledge of the organism concerned is necessary. It must be expected that systems with a high sensitivity will require a large amount of supervision by skilled staff.

bkh

VOORWOORD

Na de ramp bij de Zwitserse firma Sandoz in november 1986, waarbij tonnen insecticiden, herbiciden en fungiciden in de Rijn terecht kwamen hebben de Rijnoeverstaten afspraken gemaakt over herstelmaatregelen voor de Rijn.
Rijkswaterstaat stelde een programma samen, het Rijn Aktie Programma (RAP) waarin doelstellingen voor het jaar 2000 worden geformuleerd.
Eén van de onderdelen van dit programma is een uitbreiding en een verbetering van de kwaliteitsbewaking van het Rijnwater. Biologische bewakingsssystemen kunnen daartoe een belangrijke bijdrage leveren.
Aan Adviesbureau BKH werd op 2 februari 1988 door Rijkswaterstaat Dienst Binnenwateren RIZA opdracht verleend een tweetal biologische bewakingsssytemen in Lobith op hun effectiviteit te beoordelen.
De uitvoering van het project berust bij drs. J. Botterweg (BKH). Drs. C. van de Guchte (DBW/RIZA) en dr. ir. I van der Putte (BKH) dragen zorg voor de begeleiding.

De onderhavige literatuurstudie vormt een onderdeel van dit project en heeft als doel een overzicht te geven van de bestaande en in ontwikkeling zijnde biologische waarschuwingssystemen.
In deze studie wordt de gevoeligheid voor toxische stoffen en de bruikbaarheid in een continu bewakingssysteem van de diverse systemen besproken.

bkh

INHOUD BLZ.

SAMENVATTING iii

1. INLEIDING 1
   1.1. Het begrip biomonitoring 1
   1.2. Het belang van biologische bewakingssystemen 1
   1.3. Criteria voor bewakingssystemen 2
   1.4. Toepassingsmogelijkheden 2
   1.5. Beperkingen 3
   1.6. Doelstelling literatuuronderzoek 3

2. BEWAKINGSSYSTEMEN MET VISSEN 4
   2.1. Systemen die gebruik maken van rheotaxis en 'avoidance' 4
   2.2. Systemen die de activiteit van vissen meten 7
   2.3. Systemen die ademhalingsresponsen registreren 7

3. BEWAKINGSSYSTEMEN MET WATERVLOOIEN 10

4. BEWAKINGSSYSTEMEN MET TWEEKLEPPIGEN 11

5. BEWAKINGSSYSTEMEN MET INSECTEN(LARVEN) 12

6. BEWAKINGSSYSTEMEN MET ALGEN EN (CYANO)BACTERIEN 13
   6.1. Bacteriën 13
   6.2. Fototrofe micro-organismen 14

7. OVERIGE BEWAKINGSSYSTEMEN 15

8. DETECTIEGRENZEN 16

9. BEOORDELINGSOVERZICHT GEBRUIKSCRITERIA 21

10. CONCLUSIES 23

LITERATUUR

SAMENVATTING

Het bewaken van de waterkwaliteit met behulp van biologische systemen kan een belangrijke aanvulling vormen op de traditionele methode welke voor een belangrijk deel gebaseerd is op de uitvoering van een routinematig chemisch-analytisch meetprogramma.
Dit laatste is doorgaans beperkt van opzet met name wat betreft het aantal te meten parameters. Bovendien geven gemeten concentraties niet altijd de gewenste informatie over mogelijke effecten op aquatische organismen.
Apparatuur waarmee door middel van een automatische en volcontinue registratie van biologische parameters een meer geïntegreerd beeld van de waterkwaliteit verkregen kan worden is deels reeds commercieel beschikbaar en wordt deels nog ontwikkeld en uitgetest.

In de onderhavige literatuurstudie zijn een 32-tal biologische bewakingssystemen in beschouwing genomen. Van deze 32 zijn 13 systemen op basis van de gevoeligheid voor toxische verbindingen en de bruikbaarheid in een continu bewakingsprogramma vergeleken.

De vergelijking van de bestaande systemen op basis van gevoeligheid voor toxische stoffen blijkt slechts voor een gering aantal verbindingen mogelijk te zijn. In grote lijnen komen als relatief gevoelig naar voren:
- bewakingssystemen die ademhalingsbewegingen bij vissen registreren;
- systemen die gebruik maken van de nitrificatiemeting bij bacteriën;
- systemen die gebruik maken van fototrofe organismen (ééncellige algen of cyanobacteriën.

Relatief ongevoelig zijn:
- visbewakingssystemen die een verlies van rheotaxis registreren;
- klepbewegingsregistratiesystemen bij mosselen;
- systemen die gebaseerd zijn op de meting van zuurstofconsumptie bij bacteriën.

Het blijkt dat niet gesproken kan worden van een meest gevoelig systeem of een meest gevoelig organisme voor alle mogelijk voorkomende verbindingen.
Om een zo groot mogelijk aantal stoffen te kunnen signaleren verdient het derhalve aanbeveling organismen die gevoelig zijn voor verschillende verbindingen naast elkaar in biologische bewakingssystemen te gebruiken.
In dit kader kunnen gegevens uit laboratoriumexperimenten en standaardtoxiciteitstesten een goede indicatie geven over de gevoeligheid van het organisme waarvan in een systeem gebruik wordt gemaakt. Omdat fototrofe organismen (ééncellige algen en cyanobacteriën) en watervlooien een hoge gevoeligheid hebben verdient het aanbeveling systemen die met name gebruik maken van deze organismen uit te testen of verder te ontwikkelen.

Voor toepassingen van dergelijke systemen in oppervlaktewater of effluenten is echter een testperiode in de veldsituatie noodzakelijk, aangezien hoge gevoeligheden met een hoge storingsgevoeligheid gepaard kunnen gaan. Daarnaast zijn onderhoudsvriendelijkheid, eenvoudige bediening, de mogelijkheid tot automatisering, alsmede een klein risico op vals alarm criteria die mede belangrijk zijn voor
een succesvolle toepassing van de systemen in een continu bewakingsprogramma.
Wat betreft laatstgenoemde criteria lijkt het Arena-basin van Juhnke en Besch - een volledig geautomatiseerd visbewakingssysteem gebaseerd op rheotaxis - veelbelovend.

Voor alle systemen geldt dat enige kennis over het gebruikte organisme voor het onderhoud en de bediening van de apparatuur van belang is. De meer gevoelige systemen lijken over het algemeen meer onderhoud te vragen alsmede een grotere inzet van personeel.

1. INLEIDING

1.1. Het begrip biomonitoring

Het bewaken van de waterkwaliteit met behulp van biologische systemen wordt vaak aangeduid als biomonitoring .
In deze studie wordt de beschrijving van Matthews et al. (1982) als uitgangspunt gehanteerd: "Biomonitoring is het gebruik van een biologische respons om veranderingen in het milieu te signaleren met de bedoeling deze informatie in een kwaliteitsprogramma te gebruiken".
Voor deze studie wordt biomonitoring specifiek gedefinieerd als "het gebruik van aquatische organismen om zeer snel een verandering in de toxische potentie van het te beoordelen water te signaleren". In plaats van het begrip biomonitoring wordt hiervoor ook wel de term bio-alarmering gebruikt.
Dit literatuuronderzoek beperkt zich tot die biomonitoring technieken waarmee nu of in de nabije toekomst automatische en volcontinue registratie van biologische parameters kan worden uitgevoerd, de zogenaamde "early warning systems" (Van der Schalie, 1986).
Buiten het bestek van deze studie valt bijvoorbeeld:

- onderzoek waarbij concentraties van milieuvreemde stoffen in organismen worden gemeten;
- onderzoek naar de reacties van levensgemeenschappen op de waterkwaliteit op de lange termijn (community studies);
- vaststelling van de toxiciteit van oppervlaktewater of effluenten met behulp van statische toxiciteitstoetsen.

1.2. Het belang van biologische bewakingssystemen

Het meten van een biologisch signaal, ofwel het signaleren van een plotselinge verandering van een biologisch signaal kan een belangrijke aanvulling vormen op de traditionele chemische en fysische bewaking van de waterkwaliteit (Cairns, 1979; Slooff et al., 1984a; Matthews et al., 1982; I.R.C. Untergruppe, 1987; CCRX, 1987).
Hierbij spelen de volgende overwegingen een rol:

1. In oppervlaktewater en in effluenten komen milieuvreemde toxische verbindingen in zulke grote aantallen voor dat detectie van alle stoffen niet mogelijk is. Knie (pers. meded.) schat dat in de Rijn tussen de 30.000 en de 50.000 verschillende milieuvreemde verbindingen voorkomen. Van een continu-registratie kan daarom geen sprake zijn.
2. Van de stoffen die chemisch-analytisch te detecteren zijn, geven de gemeten concentraties niet altijd informatie over de biologische beschikbaarheid of over de effecten op aquatische organismen.
3. De mogelijk gecombineerde werking van verschillende toxicanten, die voor een aantal stoffen is aangetoond (van Leeuwen et al., 1987) zullen met chemische analyses evenmin kunnen worden gesignaleerd.
4. Veel stoffen komen in zulke lage concentraties in het water voor dat ze onder de detectiegrenzen van de apparatuur liggen. Deze lage concentraties kunnen echter wel toxisch zijn voor aquatische organismen.

Bovenstaande overwegingen pleiten voor het gebruik van aquatische organismen bij de bewaking van de oppervlaktewaterkwaliteit naast de registratie van chemisch-analytische gegevens.

1.3. Criteria voor bewakingssystemen

Diverse auteurs hebben een aantal criteria voor een optimaal functionerend biologisch bewakingssysteem geformuleerd (Poels, 1977; Koeman et al., 1978; Slooff et al., 1984b). Het meest volledig is Cairns (1979), die de volgende criteria heeft opgesteld:

1. De biologische parameter (gedrag of fysiologie) moet niet alleen kwantificeerbaar, maar bovendien continu en automatisch te meten zijn.
2. De biologische respons moet snel (binnen enkele uren) en betrouwbaar te detecteren zijn.
3. Het systeem moet een minimum aan vals alarm-meldingen geven.
4. Bij het systeem moet een doeltreffende analysemethode van de gegevens worden ontwikkeld; de ruis die wordt veroorzaakt door individuele verschillen tussen organismen en door de acclimatisatie van de organismen aan het testsysteem moet herkend kunnen worden.
5. Het systeem moet eenvoudig te bedienen zijn en de resultaten moeten gemakkelijk te interpreteren zijn.
6. Het in het systeem gebruikte organisme moet gemakkelijk te verkrijgen en goedkoop zijn. Bovendien is het wenselijk een soort te gebruiken die in het desbetreffende water inheems is.
7. Het bewakingssysteem moet betrouwbaar zijn en weinig onderhoud vergen.

1.4. Toepassingsmogelijkheden

Biologische bewakingssystemen worden globaal voor twee doeleinden gebruikt (Van der Schalie, 1986):

1. Ter bescherming van het aquatisch organisme in hun natuurlijke omgeving of in afvalwaterzuiveringen.
2. Ter bescherming van de volksgezondheid door middel van de signalering van toxische verbindingen in drinkwater.

Daartoe kunnen deze systemen op diverse plaatsen worden opgesteld, te weten (zie fig. 1): in oppervlaktewater (1), bij innamepunten van drinkwaterproductiebedrijven (2), in influenten van afvalwaterzuiveringsinstallaties (3) en in effluenten van industrieën of waterzuiveringsinstallaties (3,4).

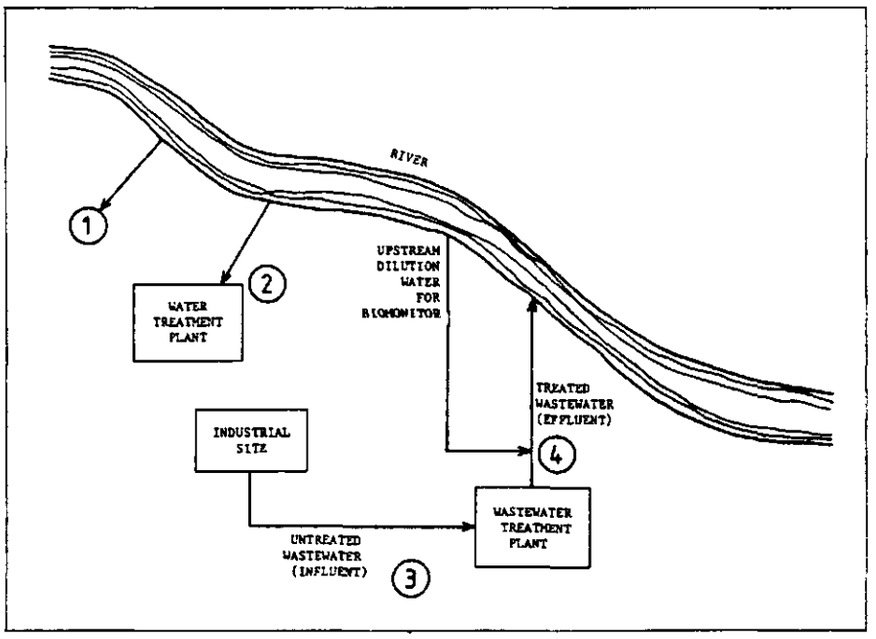


Fig. 1. Plaatsen waar bio-alarmeringssystemen kunnen worden opgesteld (Toelichting zie tekst) (Uit:Van der Schalie, 1986).

Daarnaast kunnen bio-alarmeringssystemen behalve een signalerende en voorspellende funktie ook een controlerende funktie vervullen met name in effluenten van industrieën en waterzuiveringsinstallaties (Slooff et al., 1984b).

1.5. Beperkingen

Continu-bewaking op het voorkomen van toxische stoffen met behulp van aquatische organismen kent een aantal beperkingen.

- Lange termijn effekten kunnen met deze systemen niet worden opgespoord: "bio-alarmsystemen" registreren alleen acute toxiciteit. Ook voorspellingen met betrekking tot lange termijneffekten kunnen met behulp van de geregistreerde signalen niet worden gedaan.
- In oppervlaktewater hebben deze systemen slechts een signalerende funktie. Een calamiteit wordt geregistreerd, niet voorkomen. Wel kunnen gebruikers van het water stroomafwaarts worden gewaarschuwd geen water uit de rivier te onttrekken. Worden de systemen gebruikt om effluenten te bewaken dan kan de bewaking een procesbesturende funktie hebben: stoppen van een lozing door middel van opslag in calamiteitenbekkens behoort dan tot de mogelijkheden (Solyom, 1977).
- Omdat er niet voor alle chemische verbindingen analysemethodes zijn, zal het traceren van een verbinding die een alarm veroorzaakt heeft niet altijd mogelijk zijn. Dit kan voor sommige gebruikers onwerkbaar zijn in verband met stofspecifieke normen en/of te ondernemen akties.

1.6. Doelstelling literatuuronderzoek

Dit literatuuronderzoek heeft als doel een overzicht te geven van bestaande en in ontwikkeling zijnde 'bio-alarmeringssystemen'. Daarbij zal worden nagegaan in hoeverre deze systemen aan een aantal criteria voldoen waarvan de voornaamste twee zijn:

1. de gevoeligheid voor bepaalde toxische verbindingen en
2. de bruikbaarheid in een continu bewakingsprogramma (zie ook 1.3.).

2. BEWAKINGSSYSTEMEN MET VISSEN

Vanaf de zestiger jaren is door veel onderzoeksinstituten gewerkt aan de ontwikkeling van bio-alarmsystemen met vissen om de aanwezigheid van toxische stoffen in het aquatisch milieu te kunnen waarnemen. Daarbij wordt gebruik gemaakt van verschillende direkt en continu meetbare responsen op toxische stoffen.
Een aantal systemen zijn gebaseerd op rheotaxis, de eigenschap van vissen uit stromend water om tegen de stroom in te blijven zwemmen. Andere registreren de aktiviteit of de bewegingen van de vissen of een bepaald gedrag, zoals het ontwijken van de toxische stof (avoidance). Weer andere visbewakingssystemen maken gebruik van ademhalingsresponsen, zoals kieuwdekselbewegingen of respiratie.
In dit hoofdstuk zullen de verschillende systemen worden besproken, ingedeeld naar de biologische respons waarmee ze werken.
Stofspecifieke gevoeligheden (detectiegrenzen) van de diverse systemen worden in hoofdstuk 8 vermeld, evenals een overzicht van de praktische gebruikseigenschappen.

2.1. Systemen die gebruik maken van rheotaxis en 'avoidance'

Bij deze systemen wordt gebruik gemaakt van de eigenschap van vissen uit stromend water om tegen de stroom in te blijven zwemmen.
Een plotselinge verontreiniging van het water kan in principe twee verschillende reacties teweeg brengen: de vis probeert de stof te ontwijken en zwemt met de stroom mee of de conditie van de vis verslechtert zo snel dat zwemmen tegen de stroom in niet meer mogelijk is. De vis komt achterin de testruimte terecht waar zijn aanwezigheid op verschillende manieren kan worden geregistreerd.
In het systeem dat ontwikkeld is door Poels (1977) wordt het afwijkende gedrag van regenboogforellen (Salmo gairdneri) met behulp van fotoëlektrische cellen geregistreerd (foto 1).

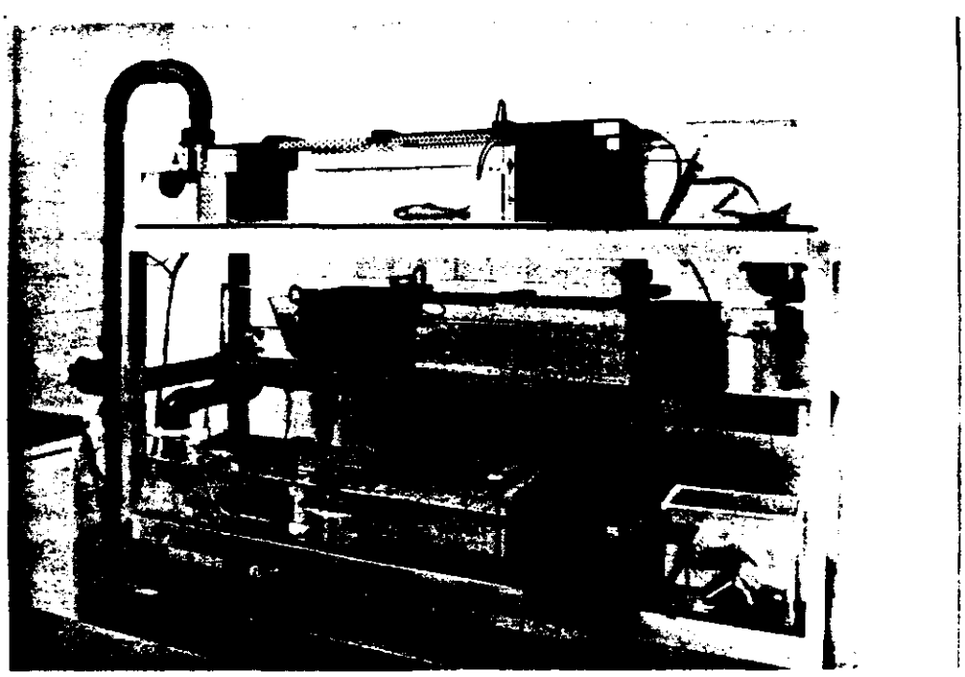


FOTO 1. Bio-alarmeringssysteem volgens het systeem van Poels (1977) waarbij het verlies van rheotaxis van forellen met behulp van foto-elektrische cellen wordt geregistreerd (foto:Waterwinningsbedrijf Brabantse Biesbosch).

Ook Van Hoof (1980) maakte gebruik van deze registratie techniek. Van Urk (unpubl.results) testte dit systeem voor koper uit in Rijnwater.
Een andere manier van registreren is beschreven door Juhnke and Besch (1971)(fig. 2).

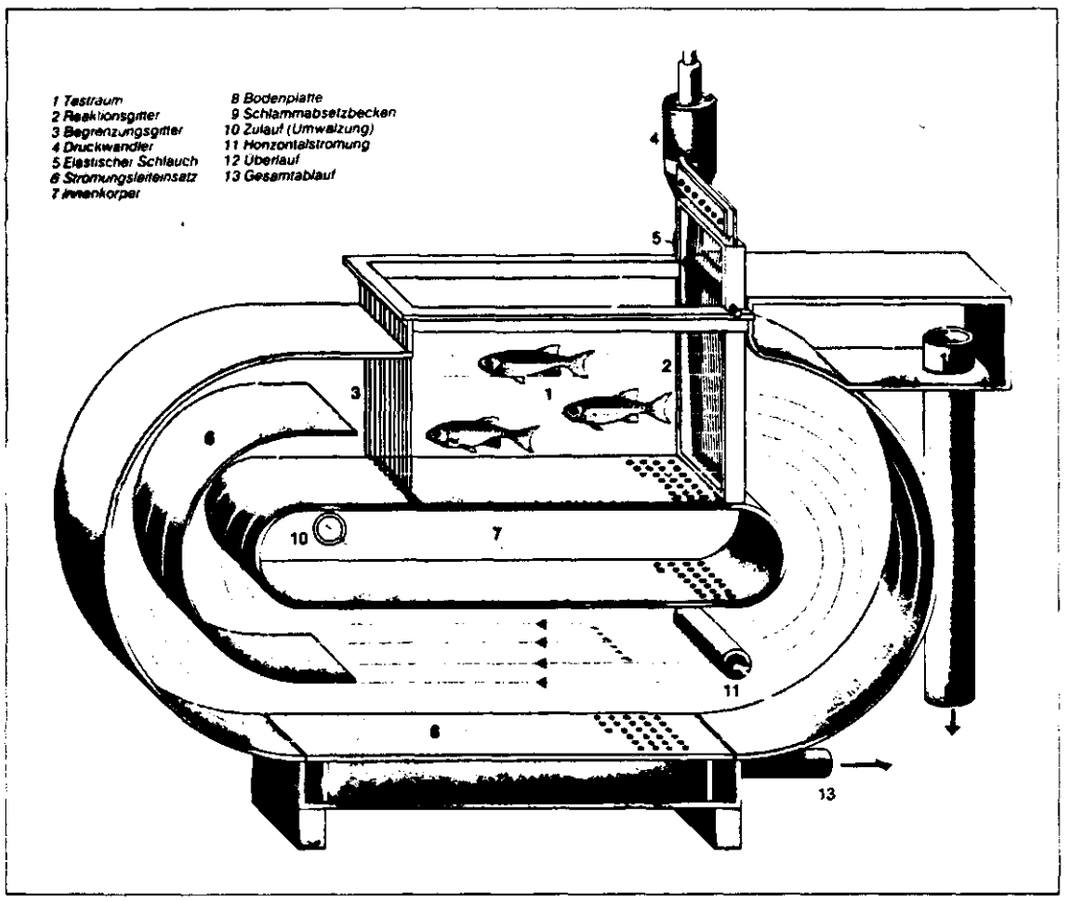


Fig. 2. Arena-basin van Juhnke en Besch (1971) gebaseerd op rheotaxis.
Gedragsverandering van de vissen wordt geregistreerd met behulp van drukgevoelige snaren (tekening: Jüstel, 1987).

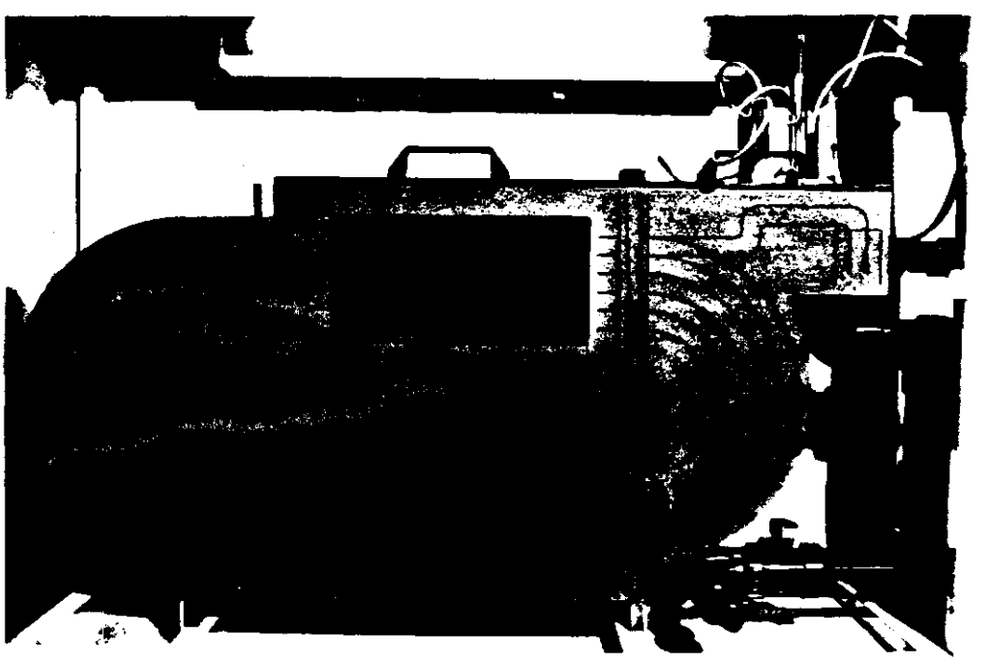


FOTO 2 Vis-rheotaxissysteem volgens het Arena-basin van Juhnke en Besch (foto BKH)

In hun zogenaamde "Arena Basin" waarin de stroom kunstmatig wordt versneld, worden gedragsveranderingen van de vissen doorgegeven doordat de vissen in aanraking komen met een aantal snaren achterin de testruimte. De trilling wordt door een microfoon versterkt en daarna geregistreerd (foto 2). Ermisch en Juhnke (1973) bepaalden detectiegrenzen en reactietijden van twee verbindingen in dit systeem.
Scharf (1979) testte goudwinden en Besch et al. (1977) karpers in een vergelijkbaar doorstroomsysteem waarbij de reacties van de vissen met infrarood werden geregistreerd. Scharf (1979) bouwde, om storingen ten gevolge van grove deeltjes in het water te voorkomen een "lift" in het systeem in, die de vis uit het water tilt bij verlies van rheotaxis (fig 3). De infrarood sensor bevindt zich boven het wateroppervlak.

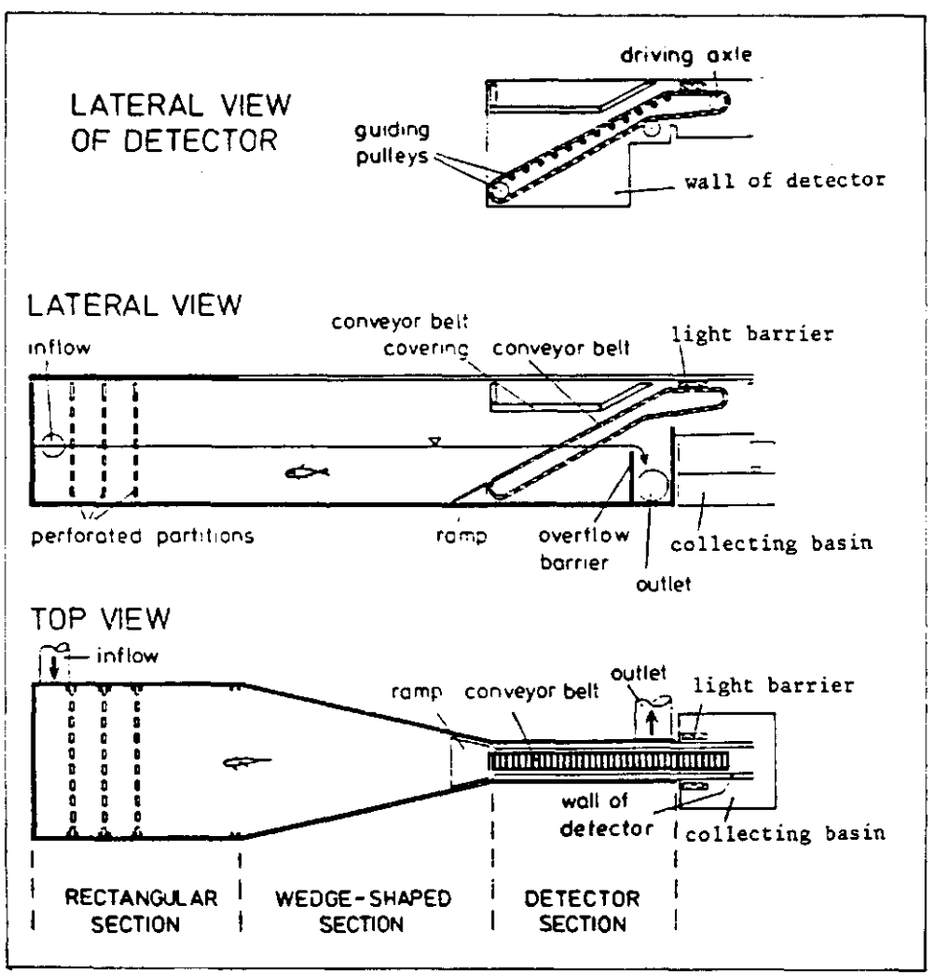


Fig. 3. Bio-alarmsysteem waarbij het verlies van rheotaxis met behulp van lichtcellen boven het water wordt geregistreerd (Uit: Scharf, 1979).

Hasselrot (1975) bouwde een doorstroomsysteem om het effluent van een rioolwaterzuiveringsinstallatie in een verdunning van 1:1 te bewaken. Een stroomversnelling werd gecreëerd met behulp van een propeller; registratie van het verlies van rheotaxis vond plaats met behulp van fotoëlektrische cellen.
Het verschijnsel dat vissen toxische stoffen ontwijken is door verschillende auteurs (Cairns and Cherry, 1983; Hartwell et al., 1986) beschreven in zeer langzaam stromend water; de zogenaamde "avoidance" experimenten. In de testkamer (Westlake en Lubinski, 1976; Lubinski et al., 1977) worden de vissen met een videocamera geobserveerd.

2.2. Systemen die de activiteit van vissen meten

Door de plotselinge aanwezigheid van een toxische stof kunnen vissen hun activiteit verhogen of verlagen. De activiteit kan met sensoren in de vis, sensoren in de testruimte of met behulp van videocamera's worden geobserveerd.
Een aantal onderzoekers maakte gebruik van fotoëlektrische cellen (Cairns et al., 1974; 1975). Onderbreking van de lichtbundel geeft een signaal, het aantal signalen is een maat voor de activiteit van de vis of geeft een indruk van het bewegingspatroon (fig. 4).

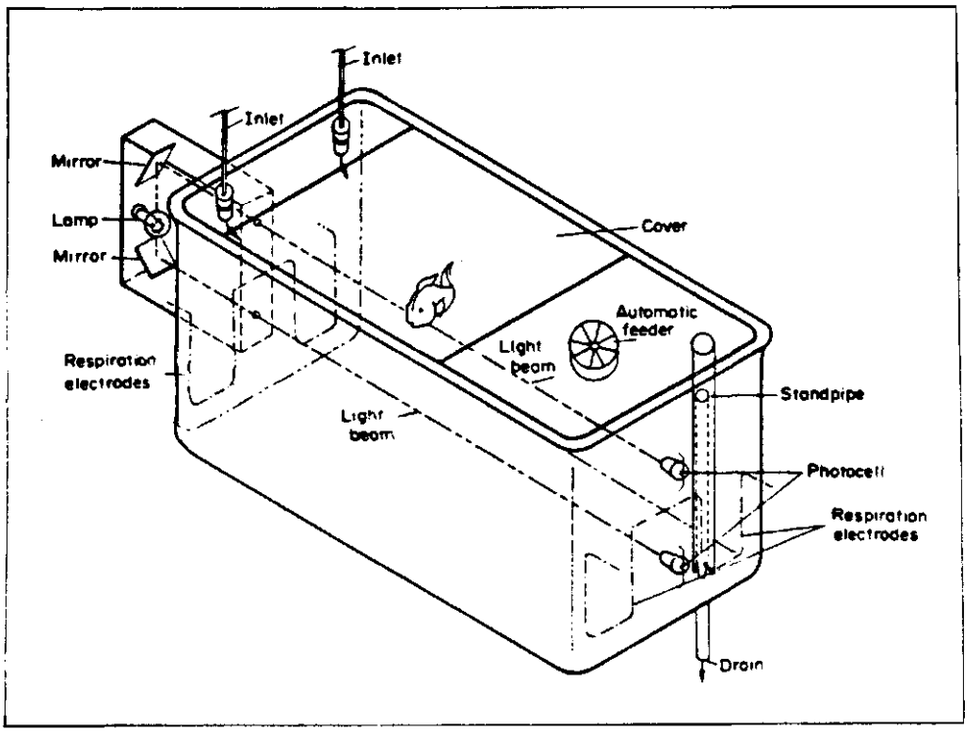


Fig. 4. Monitortank waarbij de activiteit van de vissen met behulp van fotocellen wordt gemeten (Uit Cairns et al., 1975).

Een tweede gebruikte methode is het observeren van de visbeweging met behulp van een videocamera (Lubinski et al., 1977).
Fischer (1983) maakte gebruik van een systeem dat de door de beweging van de vis opgewekte waterbeweging registreerde. Een flexibele, vertikaal in het water opgehangen peddel werd als sensor toegepast.
Petry (1982) ontwikkelde de "Motility-test", waarbij kleine magneten bij forellen worden geïmplanteerd waarna de beweging van de vissen wordt geregistreerd.
Voorts wordt over het meten van bio-elektrische responsen van vissen met behulp van uitwendige electroden gerapporteerd door Morgan et al. (1984).
De Preference-Avoidance kamer van Lubinski et al. (1977), waarbij een videocamera de activiteit waarneemt is ook toegepast om effecten op vissen en andere aquatische organismen te meten (Doane et al., 1984).

2.3. Systemen die ademhalingsresponsen registreren

Ademhalingsbewegingen van vissen kunnen versnellen of vertragen onder invloed van een toxische stof.
Veel publicaties hierover zijn verschenen van de hand van John Cairns Jr. of van onderzoekteams waar hij deel van uit maakt. In Nederland is veel werk aan ademhalingsresponsen bij vissen verricht door Slooff (1983) en van der Putte (1981).

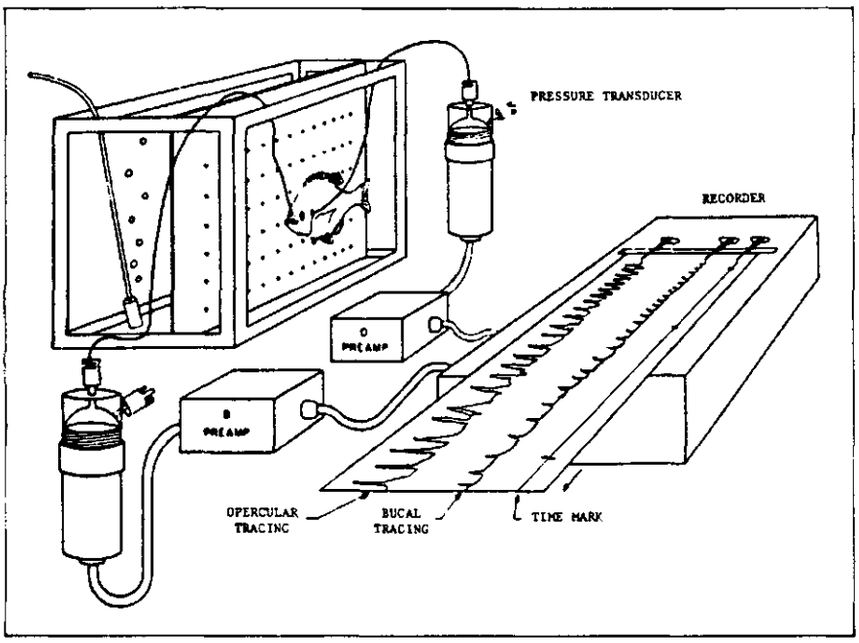


Fig. 5. Registratie van kieuwbewegingen met behulp van inwendige elektroden (Uit: Sparks et al., 1972).

Globaal wordt er gebruik gemaakt van twee verschillende systemen:
Eén maakt gebruik van elektrodes die aan de vis zijn bevestigd (Sparks et al. 1972) (fig. 5), de ander meet de ademhalingsresponsen met behulp van elektrodes die in of aan de wand van de aquariumruimte, de elektrodekamer, zijn gemonteerd (spoor et al., 1971, Evans and Johnson, 1985).
Slooff (1979; 1983) onderzocht in een elektrodekamer met externe elektrodes de detectiegrenzen van dit systeem voor dertien verschillende contaminanten en vergeleek deze resultaten met een ander bio-alarmeringssysteem, namelijk de klepbewegingsregistratie van driehoeksmosselen (zie hoofdstuk 8).
Van der Putte (1981;1982) bestudeerde met een dergelijke elektrode kamer de invloed van chroom in combinatie met verschillende pH-waarden op de ademhalingsbewegingen van forellen (foto 3).
Van het systeem van Evans en Johnson (de WRC Mk 3-motor), waarbij de ademhalingsrespons met zilverchloride electroden wordt geregistreerd, zijn de detectiegrenzen en detectietijden van negen veel voorkomende verontreinigingen bepaald (Evans and Johnson, 1986) (gegevens in hoofdstuk 8).
Van de electrodekamer waar Cairns en zijn groep mee werkte is in 1982 het laatste artikel verschenen (Thompson et al. 1982).

Detectiegrenzen voor waterverontreinigingen zijn met dit systeem niet bepaald. Nagenoeg alle literatuur handelt over de (statistische) verwerking van de signalen die dit systeem produceert.

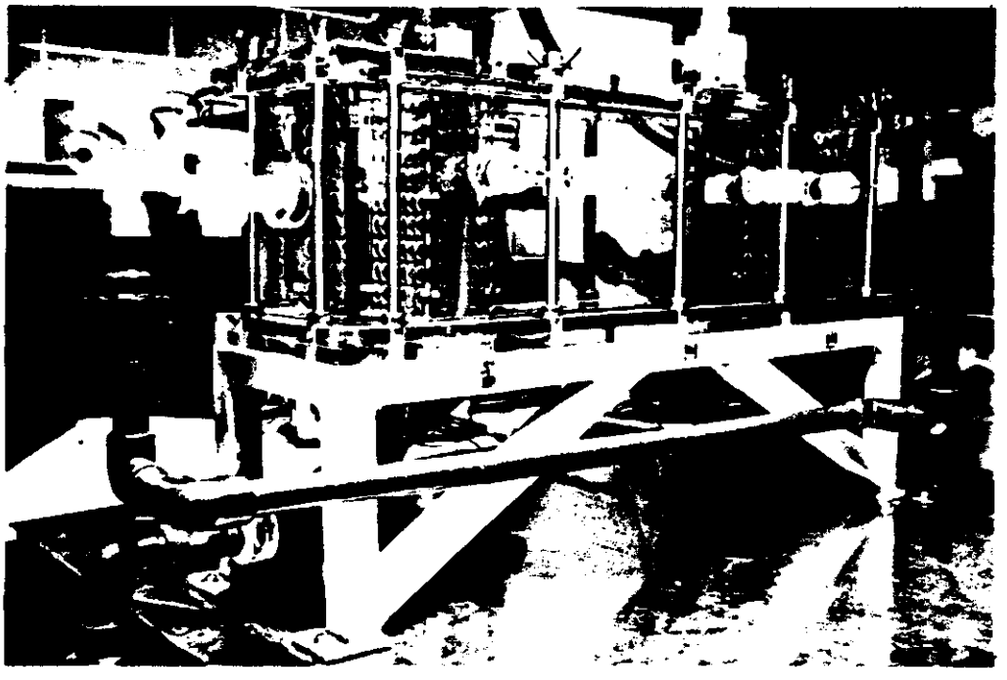


FOTO 3. Electrodekamer volgens het systeem van Spoor (1971). Kieuwbewegingen worden door middel van externe elektrodes gemeten (foto: Ike van der Putte).

3. BEWAKINGSSYSTEMEN MET WATERVLOOIEN

Watervlooien (Cladocera) zijn kleine kreeftachtigen die een belangrijke schakel in de aquatische voedselketen vormen. Ze blijken een hoge gevoeligheid voor toxische stoffen te bezitten en vertonen duidelijk waarneembare en reproduceerbare reacties op toxische stoffen.
Watervlooien, in het bijzonder van het geslacht Daphnia, zijn gemakkelijk te kweken en zijn daardoor geschikte organismen voor toxiciteitstesten. Gestandaardiseerde testen met watervlooien worden gebruikt om de toxiciteit van afzonderlijke stoffen, van mengsels van verbindingen, van effluenten en van oppervlaktewateren te bepalen.
Naast de "statische Daphnia-test", waarbij Daphnia's gedurende 24 of 48 uur in statische systemen aan het te onderzoeken monster worden blootgesteld (NEN-norm 6501), worden ook toxiciteitsexperimenten in "doorstroomsystemen" uitgevoerd (van Leeuwen et al. 1985). Bij deze testen wordt letaliteit (LC_0 en LC_{50}waarden) en reproductie bepaald. Eind jaren 70 is in Duitsland een dynamische "Daphnia-test" ontwikkeld om sub-letale effecten op Daphnia's continu te kunnen registreren (Knie, 1978, 1982). In deze dynamische Daphnia-test wordt met behulp van lichtsensoren een verandering in de zwemactiviteit van de watervlooien geregistreerd. Vooral voor organisch-aromatische amines en fosforzuuresters in oppervlaktewater blijken Daphnia's veel gevoeliger dan vissen (Knie, 1983). Dit bleek ondermeer bij de verontreiniging van de Rijn na de ramp bij de Zwitserse firma Sandoz in november 1986, waarbij het Daphnia-bewakingssysteem in Bad-Honnef, 480 km stroomafwaarts van de ramp, reageerde: alle Daphnia's in het testsysteem stierven (LWA, 1987; Knie 1988, in press). De detectiegrenzen van het systeem voor afzonderlijke stoffen zijn nog niet bepaald. Wel zijn concentraties van stoffen in Rijnwater bekend waarbij stress van de organismen in het systeem waargenomen werd (Knie, 1988, in press) (zie tabel 1).

4. BEWAKINGSSYSTEMEN MET TWEEKLEPPIGEN

Tweekleppigen (Bivalven) zijn bekend om hun vermogen chemicaliën te accumuleren en worden met name om deze reden in biomonitoringsprogramma's gebruikt. Sommige tweekleppigen zijn in staat om de stress te vermijden door hun kleppen te sluiten (Salanki, 1979; Doherty et al., 1987). Van deze eigenschap kan gebruik worden gemaakt om lage concentraties van toxicitanten in het water te signaleren (zie foto 4).
Slooff et al. (1983) beschreef een "bio-alarmsysteem" waarbij hij de klepbeweging van de zoetwatermossel Dreissena polymorpha onder invloed van dertien verschillende chemicaliën registreerde. Hij vergeleek de resultaten met die van zijn visbewakingssystemen (ademhalingsrespons met behulp van externe elektrodes). Alleen voor koper was de klepbewegings-apparatuur gevoeliger, voor de overige twaalf verbindingen lagen de detectiegrenzen van het visbewakingssysteem lager.
Metingen in het veld met deze apparatuur in een effluent van een elektriciteitscentrale in Zweden gedurende 5 dagen (Slooff and de Zwart, 1986) leverden de volgende resultaten op: geen vals alarmmeldingen en één maal een sluitrespons die reproduceerbaar bleek.
Vanaf 1985 is bij de KEMA in Arnhem ontwikkelingswerk gedaan aan de bruikbaarheid van klepbewegingsapparatuur bij waterkwaliteitsbewaking met name op het gebied van de technische uitvoering en de benodigde software (Jenner, 1987; Noppert, 1987). Cadmiumconcentraties van 50 ppb gaven ten opzichte van een controle gedragsafwijkingen te zien. In de veldmeetperiode werd door de mosselen op de "Sandoz-pluim" echter niet gereageerd.



FOTO 4. Klepbewegingsregistratie KEMA (foto: Frank Noppert).

5. BEWAKINGSSYSTEMEN MET INSEKTEN(LARVEN)

Om de toxiciteit van bepaalde verbindingen voor muggelarven te testen zijn verschillende technieken ontwikkeld. Een systeem dat in staat bleek om effecten van zeer lage chroomconcentraties op Chironomus spec. larven te meten is het "Optical-fiber lightinterruption biomonitoring system" van Batac-Catalan and White (1983). Er werd aangetoond dat zeer lage concentraties zware metalen effect hebben op de ademhalingsbewegingen van chironomiden.
Een ander systeem waarmee activiteitsveranderingen in muggelarven kunnen worden geregistreerd, is de impedantie-conversie techniek (Heinis and Swain, 1986). Hiermee konden bij de muggelarven Glyptotendipes pallens en Chironomus riparius effecten van lage concentraties cadmium worden geregistreerd (Heinis, 1987). Ten behoeve van continu-metingen is verdere ontwikkeling noodzakelijk.

6. BEWAKINGSSYSTEMEN MET ALGEN EN (CYANO)BACTERIEN

Vanuit nogal uiteenlopende onderzoeksrichtingen is gewerkt aan de ontwikkeling van methodes om de waterkwaliteit met behulp van algen en (cyano)-bacteriën te beoordelen. Waterkwaliteitsbeheerders, toxicologen, aquatisch oecologen en microbiologen hebben zich hiermee bezig gehouden.

6.1. Bacteriën

Bij waarnemingen aan bacteriën wordt van drie verschillende parameters gebruik gemaakt: nitrificatie, zuurstofgebruik en lichtproductie.

1. Nitrificatie

In een doorstroomsysteem wordt het verontreinigde water via een percolerend filter, met daarop een mengcultuur van Nitrisomonas en Nitro bacter soorten, geleid (Holland and Green, 1975). Remming van de nitrificatie is de biologische parameter. Voor en na de bacteriecultuur wordt het ammoniumgehalte continu gemeten. Van dit systeem werd de gevoeligheid voor 13 verschillende veel voorkomende microverontreinigingen bepaald. Voor fenol en cyanide is dit een gevoelig systeem. Uit experimenten in vijf verschillende rivieren bleek dat de gevoeligheid in oppervlaktewater lager was dan in de laboratoriumstudies (Stroud and Jones, 1975).

2. Zuurstofgebruik

Er zijn verschillende systemen beschreven die het microbiële zuurstofgebruik registreren.

a. Om een vergiftiging van de bacteriepopulatie van een rioolwaterzuiveringsinstallatie te voorkomen werd een bio-alarmeringssysteem ontworpen waarbij continu negen verschillende parameters in een bacteriecultuur werden gemeten in een kleine "actief-slib" eenheid. Zuurstof bleek de meest geschikte parameter in dit bewakingssysteem. Het systeem kan continu meten en is volledig geautomatiseerd. Detectiegrenzen voor toxicanten zijn niet bepaald (Clarke et al., 1977).
b. In Zweden werd de "Toxiguard" ontwikkeld, een bio-alarm systeem dat de zuurstofproductie van een op een filter groeiende populatie bacteriën continu registreert (Solyom, 1977). De "Toxiguard" werd gedurende enkele maanden in effluenten van drie verschillende chemische bedrijven uitgetest: bij twee farmaceutische bedrijven en een bedrijf dat anorganische verbindingen synthetiseert. In deze effluenten functioneerde deze apparatuur naar wens. Op het systeem is patent verkregen waarna het in productie is genomen.
c. Een derde bewakingssysteem dat gebruik maakt van zuurstofconsumptie door bacteriën is nog in ontwikkeling (Shieh and Yee, 1985). Ook hier worden de bacteriën op een filter gehouden en in contact gebracht met het te testen water. Drie anorganische verbindingen en vier zware metalen zijn getest. Voor chroom en cyanide bleek het systeem gevoeliger dan systemen met andere organismen.

3. Lichtproductie

Photobacterium phosphoreum, een luminescerende bacterie, wordt gebruikt in het zogenaamde "Microtox Assay System" (Beckman; Bulich, 1979) en de "LUMIS tox" (Anonymus, 1987; Link et al., 1987). Parameter is de remming van de lichtproductie in aanwezigheid van toxicanten. In vergelijking met andere standaard-toxiciteitstesten is dit een gevoelige en snelle methode (De Zwart en Slooff, 1983). De bestaande systemen zijn niet geautomatiseerd. Continu-metingen zijn niet mogelijk. In de Duitse Arbeitsgruppe ad-hoc "Wirkungstests" (Anonymus, 1988) wordt deze test genoemd bij de groep biologische testst waarvan verdere ontwikkeling wenselijk is.

6.2. Fototrofe micro-organismen

Om herbiciden te kunnen detecteren ligt de keuze van fototrofe organismen voor de hand. Groeiremming, vermindering van de fotosynthesecapaciteit of membraanveranderingen zijn de meest voorkomende gevolgen van deze stoffen. Geïsoleerde protoplasten van hogere planten en eencellige algen worden gebruikt om deze parameters onder invloed van toxische verbindingen te detecteren. Er wordt van drie verschillende parameters gebruik gemaakt: fluorescentie, fotosynthese-remming en morfologische veranderingen.

1. Fluorescentie

Er zijn twee systemen beschreven die (in-vivo) fluorescentie als parameters hanteren.
Noack et al. (1985) ontwikkelden een fluorescentiesysteem om snel eutrofiëringsgevolgen (kwantitatief en kwalitatief) in phytoplanktonsamenstelling te kunnen signaleren. Dit systeem is volledig geautomatiseerd. Gevoeligheid voor individuele milieuvreemde stoffen is niet bekend.
Een systeem dat uitgebreid getest is op zijn gevoeligheid voor milieuvreemde verbindingen is dat van Benecke et al. (1982). Algen (Scenedesmus subspicatus), die in een chemostaat bij een constante dichtheid worden gekweekt, worden in doorstroomcuvetten gepompt en hun fluorescentiecurve wordt bepaald. Inmiddels is voor 35 stoffen de detectiegrens van dit systeem vastgesteld (Schmidt, 1987). Aan automatisering wordt momenteel gewerkt. Dit systeem is voor een aantal verbindingen (PCP, cadmium, trichloorethyleen, 2,4 D) gevoeliger, of even gevoelig als andere bioalarmsystemen.

2. Fotosynthese-remming

Een in Engeland ontwikkeld systeem dat een remming van de fotosynthese in de cyanobacterie Synechococcus spec. registreert is nog in de testfase. Aan een elektrode worden de door de micro-organismen gereduceerde fotosynthese intermediairen gereoxideerd waardoor een stroom wordt opgewekt. Cyanobacteriën bleken de meest geschikte organismen voor deze meetmethode. Hiermee werden lage detectiegrenzen voor verschillende herbiciden (DCMU, chloortoluron, linuron) gevonden (Rawson et al., 1987). Dit systeem wordt momenteel op verschillende plaatsen uitgetest in oppervlaktewater (Engeland, België, Duitsland).
Ook in Duitsland is een systeem ontwikkeld dat de remming van de fotosynthese kan detecteren (Schnabl and Youngman, 1987). In dit systeem wordt gebruik gemaakt van protoplasten van Vicia faba (tuinboon). Parameter is de afname in zuurstofproductie. Het systeem is niet geautomatiseerd en continu-meting is (nog) niet mogelijk.

3. Morfologische veranderingen

In de Verenigde Staten heeft een groep gewerkt aan automatische determinatie van diatomeeën om snel en direct een beeld van de waterkwaliteit te krijgen (Cairns et al. 1973).
Dit resulteerde in een systeem, waarbij gebruik gemaakt wordt van een microscoop die de beelden opslaat. Daarna vergelijkt een micro-optische processor de beelden met dia's van diverse soorten (Cairns et al. 1982). De techniek wordt "laser-holografy" genoemd. Met dit systeem kunnen niet alleen taxonomische verschillen, maar ook subletale effecten als veranderingen in diktes van celwanden worden gedetecteerd. Het systeem is volledig geautomatiseerd, maar continu-meting is hiermee (nog) niet mogelijk.

7. OVERIGE BEWAKINGSSYSTEMEN

Verstoring van enzymsystemen, is één van de belangrijkste mechanismen van een vergiftiging. Om de toxiciteit van bepaalde verbindingen te kunnen vaststellen worden methodes ontwikkeld die gebaseerd zijn op de remming van een enzymactiviteit ("biosensors"). Vooral de snelheid van de respons (enkele minuten) is een belangrijk voordeel ten opzichte van andere toxiciteitstesten.
Een "dip-stick" (kleurreactie) en een continu-monitoring systeem gebaseerd op warmteproductie worden beschreven door Morgan et al. (in press) en Grabow et al. (19). Volgens de auteurs zijn de systemen gevoeliger dan visbewakingssystemen.
Christensen et al. (1983); Tran-Minh (1985) en Hall (1986) beschrijven ook testmethodes met behulp van geïsoleerde enzymen. De resultaten zijn met betrekking tot de gevoeligheid voor toxicitanten veelbelovend, maar er zijn nog geen ontwikkelingen om deze methodes te automatiseren of anderszins geschikt te maken voor continu-monitoring.

8. DETECTIEGRENZEN

Uit de in de voorgaande hoofdstukken beschreven bio-alarmsystemen (zie overzicht) zijn een aantal systemen geselecteerd en vergeleken op basis van gevoeligheid voor toxische verbindingen. Selectie is gemaakt op grond van de beschikbaarheid van toxiciteitsgegevens (detectiegrenzen) van de systemen en van de mogelijkheid om het signaal continu en automatisch (nu of in de toekomst) te meten.

Overzicht bio-alarmsystemen

organisme	parameter	auteur
1. vissen	a. rheotaxis/avoidance	1. Poels
		2. Juhnke
		3. Scharf
		4. Hasselrot
		5. Lubinski
	b. activiteit	6. Cairns
		7. Lubinski
		8. Fischer
		9. Petry
		10. Morgan
	c. ademhaling	11. Sparks
		12. Spoor
		13. Evans
2. watervlooien	a. activiteit	14. Knie
3. tweekleppigen	a. klepbeweging	15. Slooff, Jenner
4. insecten	a. activiteit	16. Batac-Catalan
		17. Heinis
5. fototrofe organismen	a. fluorescentie	18. Noack
		19. Benecke
	b. fotosynthese	20. Rawson
		21. Schnabel
	c. morfologie	22. Cairns
6. bacteriën	a. nitrificatie	23. Holland
	b. zuurstofgebruik	24. Clark
		25. Solyom
		26. Shieh
	c. lichtproductie	27. Bulich
		28. Link
7. "biosensors"	a. activiteit	29. Grabow
		30. Christensen
		31. Tran-Minh
		32. Hall

In tabel 1 zijn de detectiegrenzen van de 13 geselecteerde systemen weergegeven voor 65 verbindingen.
Indien bekend, is ook de tijdsduur waarna de reactie bij de betreffende concentratie optrad vermeld. Ter vergelijking zijn acute toxiciteitswaarden uit een standaardtoets vermeld: LC_{50} waarden van Goudwinden (Juhnke and Lüdeman, 1978) en LC_{50} waarden van andere vissen (Verschueren, 1983; Baier et al., 1985; BKH/DBW/RIZA 1988).

bkh

Tabel 1. Detectiegrenzen van biologische bewakingssystemen (indien niet anders vermeld waarden in mg/l en reactietijden tussen haakjes in minuten)

bewakingssysteem	A	B	C	D	E	F	G	LC50	LC50
	MRC	Avoidance	Arena	Fisher	Poels	Spoor	Petry	Goudu.	andere vis
pricipe	ademhaling	avoidance	rheotaxis	aktiviteit	rheotaxis	kieuwben.	aktiviteit	1)	2)
stof					(KIWA)				
acrylonitrile						5((24h)		13	
allyl thiourea									
amino-cresol									
ammonia	0,11(17)					5((24h)	0,021(10)		0,16
aniline								61	48
arseen									
atrazine								33	1.25
azijnz.ethylester									
broomfenol									
cadeius							0,025((24h)		0.001
captan					0,25(4h)				0.03
carbaryl					1,5(4h)			20	
chloorbenzeen								22	
chlooraniline									14
chloorfenol									
chloortoluron									3,5
chloride		0,85-0,4(?)							
chloroform						20((24h)		162	18
chroom						5(24h)			47
cyanide					0,5(15)	0,01-0,13((24h)			
2,4 D									30
DCMU(diuron)									4,3
DDT			0,05(?)						0,053
dichloorbenzeen						0,5((24h)			9.1
detergenten							2,7-8,7(10)		
dichloorethaan									350
dichloorfenol									7,8
dichloormethaan								120-160	
dieselolie	11 ul/l(35)							10	
dinitrobenzeen									0,2
dinitro-o-cresol(DNOC)					0,25(19h)			29	0,066
dinitrotoluol									
diquat dibromide									20
endosulfan (thiodan)			0,1(3h)-0,001(84h)						0,001
endrin			0,02(12h)-0,004(84h)						0,00009
ethylbenzine					26 ul/l(30)				
fenol	2(28)					1-4((24h)	5,1(10)	14	5,6
formaldehyde	110(38)							50	60
hexachlorobutadien						0,05((24h)		470	0,09
kerosine		3,5-4,9%WSF(7)		2,3(1-38)					
koper					0,5(4h)	0,06-0,05((24h)			0,02
kwik					1	0,01((24h)			0,002
lindaan(HCH,BCH)	0,003(21)				0,06(45)	0,04((24h)		0,03	0,02
linuron									16
lood						1,0((24)			0,14
malathion					2(3h)				0,004
methanol								>10.000	29,4
monolinuron								74	3,1
nitrobenzeen								60	
4-nitrofenol									
2-nitrofenol									
nitro-cresol									
nitrotoluol									
paraquat	0,8(26)								15
pentachloorfenol	0,14(33)					0,05-0,07((24h)			
peryleen								0,3	0,03
petroleus	3 ul/l(60)								
seleniua					100				
tolueen					12 ul/l(150)	2,5((24h)			5
tetrachloorethyleen					4 ul/l(30)				45
trichloorbenzeen									
trichloorethyleen						5((24h)		136	40,7
trichloorfenol	0,2(20)								
trimitrofenol									1,6
xyleen						2((24h)			3,3
zink							1,5(10)		
Sandoz	-	-	geen reactie	-	geen alarm	-	-		

1) Juhnke en Ludeaann (1978)
2) Verschueren (1983), BKH (1988)

Toelichting tabel
A: MRc Mk 3 Fish monitor (Evans et al.,1986)
B: Preference-Avoidance Chamber (Boone et al., 1984)(Cairns and Cherry, 1983)
C: Arena Basin (=Kerren Aquator)(Besch and Juhnke,1972; LWA,1984,1987)
D: Paddle-systeem (Fisher, 1983)
E: KIWA-systeem (Poels,1977)(el Marith, 1980)(van Urk, ongepubl.)(v Hoof, 1980)
F: Electrodekamer Spoor (Spoor et al.,1971; Morgan, 1977; Slooff, 1979 ;vd Putte, 1983)
G: Motility-test(Petry,1982)
H: Dynamische daphnia-test (Knie,1988)
I: Kleefbewegings-registratie (Slooff et al., 1983; Slooff and De Zwart, 1986; Doherty et al., 1987, Jenner, 1987)
J: insekt (Meinis, 1987; Balac-Catalan and White, 1983; Leuchs, 1986)
K: bakterien-nitrificatie (Holland and Green, 1975)
L: bakterien-O2-gebruik (Clarke et al, 1977; Solyom, 1977; Shieh and Yee, 1985)
M: fototrofe organismen (Schmidt, 1987; Rawson et al., 1987)

bkh

Tabel 1 (vervolg)

bewakingssysteem	H daphnia 8) activiteit	I tweeklep kleppen.	J insekt aktiviteit	K bakterie nitrificatie	L bakterie O2-gebruik	M fototrofe
stof						
acrylonitrile						
allyl thiourea				0,1(100)		
amino-cresol						0,4(90)
ammonia				-		
aniline						0,032(90)
arseen						
atrazine						0,033(90)
azijnz.ethylester						1,2(90)
broomfenol						5,1(90)
cadmium		9,37	10	2,0(130)		0,007(90)
captan						
carbaryl						
chloorbenzeen	0,017-0,087					
chlooraniline						0,045(90)
chloorfenol						6,5(90)
chloortoluron						0,2(10)
chloride						
chlorofors		106				
chroom			0,1	5,0	25(30)	
cyanide		0,53		0,04	5(30)	0,007(90)
2,4 D	0,006-0,016					11,6(90)
DCMU(diuron)						0,2(10)
DDT						
dichloorbenzeen		2,4				
detergenten						
dichloorethaan	0,005-0,045					
dichloorfenol						0,2(90)
dichlooretheen	0,005-0,060					
dieselolie						
dinitrobenzeen						0,034(90)
dinitro-o-cresol(DNOC)						
dinitrotoluol						0,17(90)
diquat dibromide				0,1(1300)		
endosulfan (thiodan)				0,1		
endrin						
ethylbenzine						
fenol		26,4		1,5		7,8(90)
formaldehyde						
hexachlorobutadien		0,26				
kerosine						
koper		0,03		4,0		0,003(90)
kwik					0,5(30)	0,037(90)
lindaan		0,11		(verz.)		
linuron						0,2(90)
lood					50(30)	
malathion				50		
methanol						23,5(90)
monolinuron						0,014(90)
nitrobenzeen	0,004					
4-nitrofenol						5,0(90)
2-nitrofenol						8,9(90)
nitro-cresol						4,8(90)
nitrotoluol						0,66(90)
paraquat				4,0		
pentachloorfenol		0,34				0,056(90)
peryleen						0,15(90)
petroleum						
seleniun						
tolueen		9,4				
tetrachloorethyleen						
trichloorbenzeen						6,5(90)
trichloorethyleen		9,7				6,0(90)
trichloorfenol						40(90)
trinitrofenol						0,23(90)
xyleen		16,2				
zink						
Sandoz	sterfte	geen reactie	-	-	-	-

8) concentraties gemeten in Rijnwater na een verandering in aktiviteit

Toelichting tabel

A: MRc Mk 3 Fish monitor (Evans et al.,1984)
B: Preference-Avoidance Chamber (Doane et al., 1984)(Cairns and Cherry, 1983)
C: Arena Basin (=Kerren Aquator)(Besch and Juhnke,1972; LWA,1986,1987)
D: Paddle-systeem (Fisher, 1983)
E: KIWA-systeem (Poels,1977)(e) Harith, 1980)(van Urk, ongepubl.)(v Hoof, 1980)
F: Electrodekaser Spoor (Spoor et al.,1971; Morgan, 1977; Slooff, 1979 ;vd Putte, 1983)
G: Motility-test(Petry,1982)
H: Dynamische daphnia-test (Knie,1988)
I: Kleppenwegings-registratie (Slooff et al., 1983; Slooff and De Zwart, 1986; Doherty et al., 1987, Jenner, 1987)
J: insekt (Heinis, 1987; Batac-Catalan and White, 1983; Leuchs, 1986)
K: bakterien-nitrificatie (Holland and Green, 1975)
L: bakterien-O2-gebruik (Clarke et al, 1977; Solyom, 1977; Shieh and Yee, 1985)
M: fototrofe organismen (Schmidt, 1987; Hawson et al., 1987)

arseen						
atrazine						0,033(90)
azijnz.ethylester						1,2(90)
broomfenol						5,1(90)
cadmium		0,37	10	2,0(130)		0,007(90)
captan						
carbaryl						
chloorbenzeen	0,017-0,087					
chlooraniline						0,045(90)
chloorfenol						6,5(90)
chloortoluron						0,2(10)
chloride						
chloroform		106				
chroom			0,1	5,0	25(30)	
cyanide,		0,53		0,04	5(30)	0,007(90)
2,4 D	0,006-0,016					11,6(90)
DCMU(diuron)						0,2(10)
DDT						
dichloorbenzeen		2,4				
detergenten						
dichloorethaan	0,005-0,045					
dichloorfenol						0,2(90)
dichloormethaan	0,005-0,060					
dieselolie						
dinitrobenzeen						0,034(90)
dinitro-o-cresol(DNOC)						
dinitrotoluol						0,17(90)
diquat dibromide				0,1(1300)		
endosulfan (thiodan)				0,1		
endrin						
ethylbenzine						
fenol		26,4		1,5		7,8(90)
formaldehyde						
hexachlorobutadien		0,26				
kerosine						
koper		0,03		4,0		0,003(90)
kwik					0,5(30)	0,037(90)
lindaan		0,11		(verz.)		
linuron						0,2(90)
lood					50(30)	
malathion				50		
methanol						23,5(90)
monolinuron						0,014(90)
nitrobenzeen	0,004					
4-nitrofenol						5,0(90)
2-nitrofenol						8,9(90)
nitro-cresol						4,8(90)
nitrotoluol						0,66(90)
paraquat				4,0		
pentachloorfenol		0,34				0,056(90)
peryleen						0,15(90)
petroleum						
selenium						
tolueen		9,4				
tetrachloorethyleen						
trichloorbenzeen						6,5(90)
trichloorethyleen		9,7				6,0(90)
trichloorfenol						40(90)
trinitrofenol						0,23(90)
xyleen		16,2				
zink						
Sandoz	sterfte	geen reactie	-	-	-	-

a) concentraties gemeten in Rijnwater na een verandering in aktiviteit

Een vergelijking van de systemen op basis van gevoeligheid voor toxische stoffen kan door gebrek aan overeenstemming in de gegevens slechts voor 18 van de 65 verbindingen gemaakt worden (zie tabel 2).
Voor 10 van deze 18 verbindingen is de electrodekamer van Spoor (Spoor et al., 1971) het meest gevoelige systeem. De gevoeligheid voor de overige 8 verbindingen is verdeeld over 6 verschillende bewakingssystemen, 5 in een systeem waarin vissen worden gebruikt, 3 waarin een ander organisme gebruikt wordt.
De electrodekamer van Spoor (ventilatiebewegingen van forellen) is door Slooff (1983) gedurende een periode van een jaar getest in oppervlaktewater (Maas, Keizersveer). Het systeem gaf een onacceptabel aantal vals-alarm meldingen en geen enkele alarmmelding kon worden gecorreleerd met de aanwezigheid van toxicanten in het Maaswater. Bij vissterfte stroomopwaarts als gevolg van een cyanideverontreiniging reageerde het systeem niet omdat de cyanideconcentratie ter hoogte van het meetpunt was afgenomen tot onder het detectie-niveau van het systeem. Dit systeem is gevoelig, maar door zijn hoge storingsgevoeligheid niet geschikt voor betrouwbare continu-bewaking in oppervlaktewater.
Indien dit systeem om bovenstaande overwegingen buiten beschouwing gelaten wordt is nog slechts een vergelijking op basis van 13 van de 65 verbindingen mogelijk.
Voor 6 van deze verbindingen is één van de systemen waarin een fototroof organisme gebruikt wordt het meest gevoelig, voor de overige 7 verbindingen zijn 6 verschillende systemen het meest gevoelig.
Duidelijk is dat niet gesproken kan worden van het meest gevoelige systeem of het meest gevoelige organisme.
Aangetekend moet worden dat niet alle in de tabel genoemde systemen in oppervlaktewater zijn uitgetest. Uit de ervaringen met de electrodekamer van Spoor (Slooff, 1983) blijkt dat dit een belangrijk struikelblok kan zijn in de toepassing van een systeem waarvan een hoge gevoeligheid in laboratoriumomstandigheden bewezen is.
Ook het systeem van Poels (Van Urk, unpubl. results; el Harith; 1980) gaf problemen bij toepassing in onbehandeld oppervlaktewater (Rijn bij Lobith in 1980). Storingen door slib en algengroei op de lichtcellen kwamen veelvuldig voor, bovendien bleken de vissen bij experimenten met toevoeging van toxicitanten niet het verwachte gedrag te vertonen, zodat ondanks de vergiftiging niet altijd een alarm werd gegeven.
Positieve ervaringen met hetzelfde systeem op voorgezuiverd oppervlaktewater zijn opgedaan bij het Waterwinningsbedrijf Brabantse Biesbosch (Van Breemen, pers. comm.). In acht jaar ontstond slechts één maal een alarmsituatie door een bedrijfsstoring waarbij een hoeveelheid chloor in het af te leveren water terecht kwam. Ook bij de Antwerpse Waterwerken draait dit systeem van Poels al enige jaren naar wens (Van Hoof, pers.comm.).

De twee relatief gevoelige systemen die gebruik maken van fototrofe organismen (Rawson, 1987; Schmidt, 1987) zullen in de loop van 1988 op verschillende locaties in oppervlaktewater worden uitgetest (Van de Guchte, 1988).

Voor de meeste verbindingen en de meeste bio-alarmsystemen liggen de LC_{50} waarden voor vissen vele malen hoger dan de detectiegrenzen van de bio-alarmsystemen. De detectiegrenzen van de twee systemen die gebaseerd zijn op rheotaxis (Poels en Arena-basin) liggen echter nogal dicht bij de LC_{50} waarden en deze systemen zullen daardoor niet voor alle locaties (zie tevens fig. 1) het meest geschikte bio-alarmsysteem blijken te zijn.

bkh

Tabel 2 Vergelijking van de stofspecifieke gevoeligheid van de biologische bewakingssystemen (indien niet anders vermeld waarden in mg/l en reactietijden tussen haakjes in minuten)

bewakingssysteem	A	B	C	D	E	F	G	LC50	LC50
	MAC	Avoidance	Arena	Fisher	Poels	Spoor	Petry	Goudm.	andere vis
principe	ademhaling	avoidance	rheotaxis	aktiviteit	rheotaxis	kieuwbew.	aktiviteit	1)	2)
stof					(KIWA)				
ammonia	0,11(17)					5((24h)	0,021(10)		0,16
cadmium							0,025((24h)		0.001
chloroform						20((24h)		162	18
chroom						5(24h)			47
cyanide					0,5(15)	0,01-0,13((24h)			
endosulfan (thiodan)			0,1(3h)-0,001(84h)						0,001
fenol	2(28)					1-4((24h)	5,1(10)	14	5,6
hexachlorobutadien						0,05((24h)		470	0,09
koper					0,5(4h)	0,06-0,05((24h)			0,02
kwik					1	0,01((24h)			0,002
lindaan(HCH,BCH)	0,003(21)				0,06(45)	0,04((24h)		0,03	0,02
lood						1,0((24)			0,14
malathion					2(3h)				0,004
paraquat	0,8(26)								15
pentachloorfenol	0,14(33)					0,05-0,07((24h)			
tetrachloorethyleen					4 ul/l(30)				45
xyleen						2((24h)			3,3

Tabel 2 (vervolg)

bewakingssysteem	H	I	J	K	L	M
	daphnia 3)	tweeklep	insekt	bakterie	bakterie	fototrofe
	aktiviteit	kieptew.	aktiviteit	nitrificatie	O2-gebruik	
stof						
ammonia						
cadmium		0,37	10	2,0(130)		0,007(90)
chloroform		106				
chroom			0,1	5,0	25(30)	
cyanide		0,53		0,04	5(30)	0,007(90)
endosulfan (thiodan)				0,1		
fenol		26,4		1,5		7,8(90)
hexachlorobutadien		0,26				
koper		0,03		4,0		0,003(90)
kwik					0,5(30)	0,037(90)
lindaan		0,11		(verz.)		
lood					50(30)	
malathion				50		
paraquat				4,0		
pentachloorfenol		0,34				0,056(90)
tetrachloorethyleen						
xyleen		16,2				

Toelichting tabel

A: MAC Rk 3 Fish monitor (Evans et al.,1984)
B: Preference-Avoidance Chamber (Soane et al., 1984)(Cairns and Cherry, 1983)
C: Arena Basin (=Kerren Aquator)(Besch and Juhnke,1972; LWA,1984,1987)
D: Paddle-systeem (Fisher, 1983)
E: KIWA-systeem (Poels,1977)(el Harith, 1980)(van Urk, ongepubl.)(v Hoof, 1980)
F: Electrodetaxer Spoor (Spoor et al.,1971; Morgan, 1977; Slooff, 1979 ;vd Putte, 1983)
G: Motility-test(Petry,1982)
H: Dynamische daphnia-test (Knie,1988)
I: Kiepbewegings-registratie (Slooff et al., 1983; Slooff and De Zwart, 1986; Doherty et al., 1987, Jenner, 1987)
J: insekt (Heinis, 1987; Batac-Catalan and White, 1983; Leuchs, 1986)
K: bakterien-nitrificatie (Holland and Green, 1975)
L: bakterien-O2-gebruik (Clarke et al, 1977; Solyom, 1977; Shieh and Yee, 1985)
M: fototrofe organismen (Schmidt, 1987; Ramson et al., 1987)

9. BEOORDELINGSOVERZICHT GEBRUIKSCRITERIA

In tabel 3 wordt een beoordelingsoverzicht gegeven ten aanzien van de verschillende gebruikscriteria.
Voor een toelichting met betrekking tot de gevoeligheid van de bio-alarmsystemen wordt ook verwezen naar hoofdstuk 8 en tabel 1 en 2.
Systemen waarvan toxiciteitsgegevens bekend zijn, maar die niet konden worden vergeleken met gegevens van andere systemen of met een standaardtoets hebben in de tabel een vraagteken gekregen.
Als relatief gevoelige systemen kunnen worden aangemerkt:de visbewakingssystemen die ademhalingsbewegingen registreren (de WRc 3 monitor en de electrodekamer van Spoor); het systeem gebaseerd op de nitrificatiemeting bij bacteriën en de systemen die met fotrofe organismen werken. Relatief minder gevoelig zijn de twee vis-rheotaxissystemen (Poels en Arena-basin), het klepbewegingsregistratie-systeem bij mosselen en het systeem gebaseerd op de meting van het zuurstofgebruik bij bacteriën. Van de systemen die niet in deze vergelijking konden worden opgenomen biedt de "dynamische Daphnia test" perspectieven door de hoge gevoeligheid voor een aantal verbindingen van het organisme gemeten in standaard toxiciteitstesten (Knie et al., 1983).
Testen ter vergelijking van dit systeem met andere systemen zullen in de loop van 1988 in de Rijn worden uitgevoerd (Nederland: DBW/BKH; Duitsland: Landesamt für Wasser und Abfall Nordrhein - Westfalen).

Tabel 3 Beoordelingsoverzicht gebruikscriteria biologische bewakingssystemen

Criterium	gev	aut	val	int	ond	kosten
Bewakingssystemen						
--met vissen						
1: WRc Mk 3 monitor	+	+	?	-	-	$150,000
2: Preverence-Avoidance kamer	?	-	?	+	+	?
3: Arena-basin	-	+	?	+	+	$50,000
4: Fisher	?	+	?	-	-	?
5: KIWA-systeem	-	+	+/-	+	+	$100,000
6: Electrodekamer Spoor	+	+	-	-	-	?
7: Motility-test	?	+	?	-	-	?
--met andere organismen						
8: Dynamische daphnia-test	?	+	?	+	-	$20,000
9: Klepbewegings registratie	-	-	+	+	+	?
10: insekt	?$	-	?	-	-	?
11: bakterie nitrificatie	+	+	-	+	+	?
12: bakterie O2-gebruik	-	+	+	+	+	?
13: fototrofe	+	-	?	-	-	?

$zie tabel 1

gev: gevoeligheid, + gevoelig, - ongevoelig, ? onvoldoende gegevens;
aut: automatisch/continu, + mogelijk, - nog in ontwikkeling;
val: vals-alarm, + kleine kans, - grote kans, ? (nog) niet getest in oppervlaktewater;
int: interpretatie van de signalen, + makkelijk, - moeilijk;
ond: onderhoud, + weinig, - veel;
kos: kosten, ? (nog) niet bekend

Van alle in de tabel vermelde systemen is het signaal continu te meten, de systemen die volledig geautomatiseerd zijn, zijn aangegeven met een +. Bij twee systemen, het klepbewegingsregistratie-systeem en het systeem waarin fototrofe organismen worden gebruikt, wordt aan automatisering gewerkt. Van de andere met een - aangeduide systemen is niet bekend of er ontwikkelingen in die richting gaande zijn.

De kans op een vals alarm is beoordeeld naar aanleiding van uitgevoerde (veld)experimenten in verschillende toepassingen. Een aantal systemen is getest in rivierwater, een aantal in effluenten en één in de aanvoer van een rioolwaterzuiveringsinstallatie. Zijn er met hetzelfde systeem tegengestelde ervaringen opgedaan dan is dat weergegeven met een dubbel teken +/-.
De systemen die uitsluitend in laboratorium opstellingen zijn getest konden vooralsnog niet op een vals alarm risico worden beoordeeld en hebben in de tabel een vraagteken gekregen.
Van de visbewakingssystemen geeft alleen het Poels-systeem op voorgezuiverd oppervlaktewater weinig risico op vals alarm. De electrodekamer van Spoor geeft een groot risico op vals alarm. Van de overige systemen is te weinig bekend om over dit risico een uitspraak te doen.

Aan alle in tabel 3 genoemde bio-alarmsystemen is "signaalverwerkende" apparatuur geschakeld, dat wil zeggen dat het gedrag van het organisme of het verloop van het proces wordt omgezet in een getal. In principe is een verandering van dat getal een aanwijzing voor de aanwezigheid van een toxische verbinding, bij een grote verandering zal automatisch alarm worden gegeven. Enkele systemen leveren direct een getal (aantal, impulsen, aantal passages van lichtcellen). Bij de meeste systemen moeten echter de geleverde signalen (frequentie kieuwbeweging, klepbeweging) via een computerprogramma worden verwerkt tot een meer bruikbaar signaal. Deze laatste systemen hebben in de tabel een - gekregen.

Alle in de tabel opgenomen systemen vergen nogal wat onderhoud.
Met name wanneer het bewakingssysteem opgesteld staat ter bewaking van slibrijk water, moet rekening worden gehouden met extra onderhoud van de apparatuur.
Bij de systemen die door hun bouw of meetprincipe niet kunnen functioneren met slibrijk water moet rekening worden gehouden met de reiniging van bezinkbakken of filters.
De verzorging en/of de kweek van het, voor het systeem benodigde, biotisch materiaal kan, afhankelijk van de soort, zeer arbeidsintensief zijn.
Van de visbewakingssystemen zijn de rheotaxissystemen het minst onderhoudsgevoelig, van de overige systemen, de klepbewegingsregistratie-apparatuur en de alarmsystemen met bacteriën. De andere systemen vergen hetzij door de apparatuur zelf, hetzij door de kweek of de verzorging van het biotisch materiaal meer onderhoud.

Van slechts enkele systemen is een aanschafprijs bekend. Niet alle in de tabel vermelde systemen zijn commercieel verkrijgbaar.
Naast de aanschafkosten moet uiteraard rekening worden gehouden met exploitatie- en personeelskosten en de kosten van de na een alarm noodzakelijke aanvullende chemische analyses.
Van exploitatie- en personeelskosten zijn geen gegevens bekend, afhankelijk van het systeem zullen deze kosten aanzienlijk kunnen verschillen.

10. CONCLUSIES

Een vergelijking van de beschreven biologische alarmeringssystemen op basis van gevoeligheid is slechts voor een gering aantal verbindingen mogelijk.
Als relatief gevoelige systemen kunnen worden genoemd: systemen die ademhalingsbewegingen bij vissen registreren (de WRc Mk 3 monitor en de elektrodekamer van Spoor), systemen gebaseerd op de nitrificatiemeting bij bacteriën en de systemen die met fototrofe organismen werken.
Als relatief ongevoelige systemen kunnen worden aangemerkt: de vis-rheotaxis systemen (Poels en Arena-basin), het klepbewegingsregistratie-systeem bij mosselen en het systeem gebaseerd op zuurstofverbruik door bacteriën.
De overige systemen kunnen door een gebrek aan gegevens niet in de vergelijking worden opgenomen.

Het blijkt dat niet gesproken kan worden van het meest gevoelige systeem of het meest gevoelige organisme voor alle milieuvreemde verbindingen. Om een zo groot mogelijk aantal stoffen te kunnen signaleren verdient het derhalve aanbeveling organismen met verschillende gevoeligheden naast elkaar te gebruiken.

Gegevens uit laboratoriumexperimenten en standaardtoxiciteitstesten kunnen in dit kader een goede indicatie geven over de gevoeligheid van het organisme waarvan in het systeem gebruik wordt gemaakt. Omdat fototrofe organismen (ééncellige algen en cyanobacteriën) en watervlooien een hoge gevoeligheid hebben verdient het aanbeveling systemen die met name gebruik maken van deze organismen uit te testen of verder te ontwikkelen.
Voor toepassingen van dergelijke systemen in oppervlaktewater of effluenten is echter een testperiode in de veldsituatie noodzakelijk, aangezien hoge gevoeligheden met een hoge storingsgevoeligheid gepaard kunnen gaan. Daarnaast zijn onderhoudsvriendelijkheid, eenvoudige bediening, de mogelijkheid tot automatisering, alsmede een klein risico op vals alarm criteria die mede van belang zijn voor een succesvolle toepassing van de systemen in een continu bewakingsprogramma.
Voorts dient het doel van de bewaking en de beoogde locatie (oppervlaktewater, effluent, inlaat drinkwaterbereiding) een rol te spelen bij de keuze van de bio-alarmsystemen.

Van de meeste biologische alarmsystemen is het signaal continu te meten, enkele zijn nog niet volledig geautomatiseerd.
Van de 13 vergeleken systemen zijn er 9 geautomatiseerd waaronder 6 visbewakingssystemen, 2 bacterie systemen en de "dynamische Daphnia test".
Aan automatisering van het klepbewegingsregistratie-systeem en het systeem, waarin fototrofe organismen worden gebruikt, wordt momenteel gewerkt.

Hoe groot de kans op een vals alarm is, is bij de meeste systemen vooralsnog niet duidelijk.
Een kleine kans op een vals alarm geeft het Poels-systeem op voorgezuiverd oppervlaktewater en het systeem waarin bacterieel zuurstofverbruik wordt gemeten.
Een grote kans op vals alarm geeft de electrodekamer van Spoor en het systeem van Poels wanneer zij op onbehandeld oppervlaktewater worden ingezet.
Wat betreft onderhoudsvriendelijkheid en eenvoudige bediening lijkt het Arena-basin van Juhnke en Besch - een volledig geautomatiseerd visbewakingssysteem gebaseerd op rheotaxis - veelbelovend.

Voor alle systemen geldt dat enige kennis over het gebruikte organisme voor het onderhoud en de bediening van de apparatuur van belang is. Gebrek aan ervaring met zowel organismen als apparatuur kunnen een probleemloze toepassing van biologische bewakingssystemen in de weg staan. Blijvende deskundige en motiverende begeleiding van bedienend personeel is noodzakelijk.

De meer gevoelige systemen lijken over het algemeen meer onderhoud te vragen alsmede een grotere inzet van personeel.

Een vergelijking op basis van kosten van de biologische alarmsystemen is niet mogelijk. Naast de aanschafkosten zal rekening moeten worden gehouden met personeels- en exploitatiekosten alsmede met de kosten van aanvullende chemische analyses na alarmmeldingen.

LITERATUUR

Anonymus (1987).
Lumineszenzmessystem LUMIS tox zur Bestimmung der Wirkung von Wasserinhaltstoffen auf die Leuchtintensität von Photobacterium phosphoreum (Leuchtbacterientest).
Landesambt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen, interne meded.

Anonymus (1988).
Forschungsconzept. Stand: Marz 1988.
Entwicklung, Erprobung und Implementation von Biotestverfahren zur Uberwachung des Rheins.
Umweltbundesambt Arbeitsgruppe ad-hoc "Wirkungstests".

Baier C, Hurle K, Kirchhoff J (1985).
Datensammlung zur Abschatzung des Gefahrdungspotentials von Planzenschutzmittel Wirkstoffen für Gewasser.
DVWK Schriften 74.
Kommissionsvertrieb Verlag Paul Parey. Hamburg, Berlin.

Batac-Catalan Z, White D.S, (1983).
Effect of chromium on larval Chironomidae as determined by the optical-fiber light interruption biomonitoring system.
In: Bishop W.E, Cardwell R.D, Heidolph B.B. (eds) Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Sixth Symposium. American Society for Testing and Materials. Philadelphia. 469-481.

Benecke G, Falke W, Schmidt C (1982).
Use of algal fluorescense for an automated biological monitoring system.
Bull. Environm. Contam. Toxicol 28 (4): 385-395.

Besch W.K, Kemball A, Meyer-Waarden K, Scharf B (1977).
A biological monitoring system employing rheotaxis of fisch Cairns J Jr., Dickson K L, Westlake F (eds.) ASTM Special Technical Publication no. 607. Biological monitoring of water and effluent quality. Symposium. Blacksburg 1975. pp. 56-74.

BKH Adviesbureau, Rijkswaterstaat (1988).
Inventarisatie toxicologische gegevens.
Intern rapport , Dienst Binnenwateren, Lelystad.

Bulich A.A (1979)
Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments.
In: Marking L.L, Kimerle R A (eds.): Aquatic Toxicology, ASTM STP 667. pp: 98-106.

Cairns J.Jr. (1979).
Biological Monitoring - Concept and Scope.
In: Cairns J.Jr, Patil G.P, Waters W.E (eds.) Environmental biomonitoring, assessment, prediction and management. -certain case studies and related quantitatieve issues.
pp 3-20

Cairns J.Jr, Almeida S, Fujii H (1982)
Automated indentification of Diatoms.
Bioscience 32 (2): 98-102.

Cairns J.Jr, Cherry D.S (1983).
A site specific field and laboratory evaluation of fish and asiatic clam population responses to coal fired power plant discharges.
Wat. Sci. Tech. 15: 31-58.

Cairns J.Jr, Dickson K.L, Lanza G (1973).
Rapid biological monitoring systems for determining aquatic community structure in receiving systems.
Biological methods for the assessment of water quality. ASTM STP 528. pp 148-163.

Cairns J.Jr, Dickson K.L, Westlake G.F (1975).
Continuous biological monitoring to establish parameters for water pollution control.
Progress in Water Technology J (5/6): 829-841.

Cairns J.Jr., Hall J.W, Morgan E.L, Sparks R.E, Waller W.T, Westlake G.F (1974).
The development of an automated biological monitoring system for water-quality management.
In: Hemphill D.D (ed.) Environmental Health. 7th Symposium.
University of Missouri, Colombia pp:35-40.

CCRX (1987).
Betekenis van de Sandoz calamiteit voor de bewaking van de kwaliteit van de Rijn.
Coordinatie Commissie voor de metingen van Radioactiviteit en Xenobiotische stoffen. Leidschendam.

Christensen G.M, Olson D, Riedel B (1983).
Chemical effects on the activity of eight enzymes: a revieuw and a discussion relevant to environmental monitoring.
Environmental Research 29: 247-255.

Clarke A.N, Eckenfelder W.W Jr., Roth J.A (1977).
The development of an influent monitor for biological treatment systems.
Progress in Water Technology 9 (5/6): 103-107.

Doane T.R, Cairns J.Jr, Buikema L.Jr (1984).
Comparison of biomonitoring techniques for evaluating effects of jet fuel on bluegill sunfish (Lepomis macrochirus).
In: Pascoe D, Edwards R.W (eds.) Freshwater Biological monitoring. Proc. Conference Cardiff 1984. Pergamon Press.
pp. 103-112.

Doherty F.G, Cherry D.S, Cairns J.Jr. (1987).
Valve closure responses of the Asiatic Clam (Corbicula fluminea) exposed to cadmium and zinc.
Hydrobiologia 153:159-167.

Ermisch R, Juhnke I (1973).
Automatischen Nachweis Vorrichtung fur akut toxischen Einwirkung auf Fische im Stromungstest.
Gewasser und Abwasser 52: 16-23.

Evans G.P Johnson D (1985).
Automatic detection of pollution at drinking water intakes using fish.
Water supply 3:179-186.

Evans G.P, Johnson D, Whithell C (1986).
Development of the WRc Mk 3 fish monitor: description of the system and its response to some commonly encountered pollutants.
Water Research Centre. Environment TR 233.

Fischer J.W, Putnam M.E, Dilego R.A, Livingstone J.M, Geiger D.L (1983).
Biological monitoring of Bluegill activity.
Water Resources Bulletin 19 (2):211-215.

Grabow W.O.K, Morgan W.S.G, Slabbert J.L (19).
Bioassys used for evaluating the quality of reclaimed water in Southern Africa.
National Institute for Water Research, Councel for Scientific and Industrial Research. PO Box 395. Pretoria.

Guchte van der C (1988).
Verslag vergadering Ad Hoc Gruppe Biotests, IKSR.
26/27 mei 1988 Koblenz.

Harith el Ab (1980).
The toxicity of some chemicals for the rainbow trout in two flow systems.
B-organic compounds.
Dienst Binnenwateren, intern verslag.

Hartwell S.I, Jin H.J, Cherry D.S, Cairns J.Jr (1986).
Evaluation of statistical methods for avoidance data of schooling fish.
Hydrobiologia 131:63-76.

Hall A.H (1986).
The developing biosensor arena.
Enzyme Microb. Technol. 8:651-658.

Hasselrot T.B (1975).
Bioassay methods of the national swedish environment protection board.
Journal of WPCF 47:851-857.

Heinis F, Swain W (1986).
Impedance conversion as a method of research for assessing behavioural responses of aquatic invertebrates.
Hydrobiological Bulletin 19 (2): 183-192.

Heinis F (1987).
Gedragsveranderingen bij chironomidenlarven als gevolg van zware metalen en lage zuurstofconcentraties.
Chironomiden-studiedag 1987 Lelystad.

Holland G.J, Green A (1975).
Development of a gross pollution detector: laboratory studies.
Water Treatment and Examination. 4:81-99.

Hoof van F (1980).
Evaluation of an automatic system for detection of toxis substances in surface water using Trout.
Bull. Environm. Contam. Toxicol. 25:221-225

IRC Untergruppe (1987)
Vergaderverslag extra permanente werkgroep d.d. 26 januari 1987.
Internationale Rijn Commissie.

Jenner H.A (1987).
Besprekingsverslag van de workshop over het gebruik van klepbewegingsregistratie (KBR) apparatuur. April 1987.
Divisie Onderzoek en Ontwikkeling. KEMA, Arnhem.
Rapport no. 00612-MOB-87-3138.

Juhnke I, Besch W K (1971).
Eine neue Testmethode zur Früherkennung akut toxischer Inhaltstoffen im Wasser.
Gewasser und Abwasser 50/51 S:107-114.

Juhnke I, Lüdemann D (1978).
Ergebnisse der Untersuchung von 200 chemische Verbindingen auf akute Fischtoxiciteit mit dem Goldorfentest.
Zeit f. Wasser und Abwasserforschung 11 (5) 78.

Knie J (1978).
Der dynamischen Daphnientest- ein automatischer Biomonitor zur Uberwachung van Gewassern und Abwassern.
Wasser und Boden 12:310-312.

Knie J (1982).
Der Daphnientest.
Decheniana - Beihefte (bomm) 26:82-86.

Knie J (1983).
Der Daphnientest im Gewasserschutz.
Gewasserschutz. Wasser - Abwasser 63:79-86.

Knie J, Halke A, Juhnke I, Schiller W (1983).
Ergebnisse der Untersuchungen von chemischen stoffen mit vier Biotests.
Deutsche Gewasserkundliche Mitteilungen. 27:77-79.

Knie J (1988).
Der dynamische Daphnientest praktische Erfahrungen bei der Gewasseruberwachung.
Gewasserschutz Wasser-Abwasser (in press).

Koeman J.H, Poels C.L.M, Slooff W (1978).
Continuous biomonitoring systems for detection of toxic levels of water pollutants.
In: Van Lelyveld I.M, Zoeteman B.C.J (eds.) Aquatic Pollutants, transformation and biological effects. Pergamon press pp.

Leeuwen van C.J., Luttmer W.J., Griffioen (1985).
The use of cohorts and populations in chronic toxicity studies with Daphnia magna: A Cadmium example.
Exotoxicol. Envir. Saf. 9:26-37

Leeuwen van C.J, Niebeek G, Luttmer W.J (1987).
Water quality criteria for heavy metals; a daphnid's view.
H_2O (20) 9:200-204,206.

Link M, Baltruschat D, Lange B (1987).
Der Leuchtbacteriëntest, Stand der instrumentellen Entwicklung und praktischen Erfahrung.
Landesambt fur Wasser und Abfall NRW, interne mededeling.

Lubinski K.S, Dickson K.L, Cairns J.Jr. (1977).
Microprocessor- based interface converts video signals for object tracking.
Computer Design, dec. pp:81-87.

LWA (1985, 1986, 1987).
Gewassergütebericht.
Landesambt fur Wasser und Abfall, Nordrhein-Westfalen.

Matthews R.A, Buikema A.L, Cairns J.Jr., Rogers J.H.Jr. (1982).
Biological Monitoring (Part 2a) Receiving System: functional methods, relationship and indices.
Wat. Res. 16:129-139.

Morgan E.L, Young R.C, Crane C.M (1984).
Automated multispecies biomonitoring employing fish and aquatic invertebrates of various trophic levels. In: Pascoe D, Edwards R W (eds.) Freshwater Biological Monitoring. Proceedings Conference Cardiff U K. Pergamon. Press pp:75-80.

Morgan W.S.G, Kuhn P.C, Van Niekerk P.P.
Continous, automatic detection of organophosphates and carbamates in water utilizing enzyme microcalorimetry.
Wat. Sci. Technol. (in press).

Noack U, Herden N, Löffler J, Warcup C, Gorsler M (1985)
Kontinuerliche erfassung der Algen-Biomasse mittels Chloro-phyll-Fluorenszenz in Gütemessstationen des Gewässerüberwachungssystems in Niedersachsen.
Z. Wasser-Abwasser Forschung 18:177-182

Noppert F (1987)
"Unio"- Een systeem voor het automatische registreren en verwerken van klepbewegingsgedrag van Bivalven.
Afdeling Milieuonderzoek. KEMA, Arnhem
Rapportnr. 00610-MOA-87-1637

Petry H (1982)
The "Motility-test": an early warning system for the biological control of waters.
Zentralb. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. (B) 176:391-412.

Poels C.L.M (1977).
An automatic system for rapid detection of acute high concentrations of toxis substances in surface water using Trout.
Cairns J Jr., Dickson K L, Westlake G F, (eds.) Biological monitoring of water and effluent quality. American Society for Testing and Materials. pp:85-95.

Putte van der I (1981).
An assessment of the environmental toxicity of hexavalent chromium in fish.
PhD Thesis. Agricultural UnIversity, Wgeningen.

Putte van der I, Laurier M.B.H.M, Van Eijk G.J.M (1982).
Respiration and osmoregulation in rainbow trout (Salmo gairdneri) exposed to hexavalent chromium at different pH values.
Aquatic Toxicology 2:99-112.

Rawson D.M, Willmer A.J, Cardosi M.F (1987).
The development of whole celle biosensors for on-line screening of herbicide pollution in surface waters.
Toxicity Assesment: An International Quarterly. 2:325-340.

Salanki J (1979).
Behavioural studies on mussels under changing environmental conditions.
Symp. Biol. Hung 19:169-176.

Schalie van der W.H (1986).
Can biological monitoring early warning systems be useful in detecting toxic materials in water ?
Aquatic Toxicology and Environmental Fate: Ninth Volume.
Poston T M, Purdy R (eds.) American Society for testing and materials pp:107-121.

Scharf B.W (1979).
A fish test alarm device for the continual recording of acute toxic substances in water.
Archieves of Hydrobiology 85 (2):250-256.

Schmidt Ch (1987).
Anwendungsbereiche und Ergebnisse des Algenfluoreszenztests.
Arch.Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol. 29:107-116.

Schnabl H, Youngman R.J. (1987).
A characterisation of the effects of ecotoxicological substances on plant cell metabolic reactions.
Angew. Botanik 61:493-504.

Shieh W.K, Yee C.J (1985).
Microbial toxicity monitor for in situ continuous applications.
Biotechnology and Bioengineering 27:1500-1506.

Slooff W, (1979).
Detection limits of a biological monitoring system based on fisch respiration.
Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23:517-523.

Slooff W (1983)
Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value.
PhD Thesis Utrecht.

Slooff W, De Zwart D, Marquenie J.M (1983)
Detection limits of a biological monitoring system for chemical water pollution based on mussel activity
Bull. Environm. Contam. Toxicol. 30:400-405

Slooff W, De Zwart D (1986)
Continuous effluent biomonotoring with an early warning system.
In: Bengtsson B E, Norbert-King T J, Mount D I (eds.) Effluent and ambient toxicity testing in the Gota Alv and Viskan Rivers, Sweden. A U.S.-Swedish OECD Cooperative Project. pp:

Slooff W, Van Kreyl C.F, De Zwart D (1984a)
Biologische parameters en oppervlaktewater (meetnetten) H_2O 17.2-5.

Slooff W, Van Leeuwen C.J, Van Donk E (1984b)
Use of biomonitoring in water quality regulatory descisions.
Proceedings OECD Symposium. Biological testing of effluents and receiving waters. Duluth. U.S.A.

Solyom P (1977)
Industrial experiences with Toxiguard, a toxicity monitoring system.
Progress in Water Technology 9 (5/6):193-198.

Sparks R.E, Cairns J.Jr., McNabb R.A, Suter G (1972)
Monitoring Zinc concentrations in water using the respiratory response of Blugills (Lepomis macrochirus Rafinesque).
Hydrobiologia 40:361-369.

Spoor W.A, Neiheisel T.W, Drummond R.A (1971)
An elektrode chamber for recording respiratory and other movements of free swimming animals
Trans. Amer. Fish. Soc. 1:22-28.

Stroud K.C.G, Jones D.B (1975)
Development of an gross pollution detector: field trials.
Water Treatment and Examination 24:100-119

Thompson K.W, Deaton M.L, Foutz R.V, Cairns J.JR., Hendricks A.C (1982)
Application of time-series intervention analysis to fish ventilatory response data.
Can. J. Fish Aquat. Sci. 39:518-521

Tran-Minh C (1985)
Immobilized enzyme probes for determining inhibitors.
Ion-Selective Electrode Rev. 7:41-75

Verschueren K (1983)
Handbook of environmental data on organic chemicals. Second edition.
Library of Congress Cataloging in Publication Data.
Van Nostrand Rheinhold Company Inc. New York.

Westlake G.F, Lubinski K.S (1976)
A chamber to monitor the locomotor behavior of free swimming aquatic organisms exposed to simulated spills.
In: Control of Hazardous Material Spills. Proc.Nat.Conf.
Information Transfer Inc., Rockville, Mtd:64-69

Zwart de D, Slooff W (1983)
The MICROTOX as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants.
Aquatic Toxicology 4:129-138.