

Martin NOHAVA

Reports

UBA-94-090

Der Leuchtbakterientest in der Umweltkontrolle

Wien, Februar 1994

Bundesministerium für Umwelt,
Jugend und Familie



Projektleitung: Helmut Gaugitsch

Autor, Laborarbeiten: Martin Nohava

Chemische Analysen: Rudolf Bürkl, Eduard Frank

Impressum:

**Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt, 1090 Wien, Spittelauer Lände 5
Druck: Riegeltechnik, 1080 Wien.**

© Umweltbundesamt, Wien, Februar 1994

**Alle Rechte vorbehalten
ISBN 3-85457-149-6**

VORWORT

In der Umweltkontrolle werden vermehrt Bioindikatoren, wie z.B. Tiere, Pflanzen, Mikroorganismen zur Erfassung von Umweltschadstoffen herangezogen. Diese Verfahren sind zwar oft nur semi-quantitativ, sie haben aber den Vorteil, daß sie die biologische Relevanz des Einflusses eines/mehrerer Schadstoff(e) direkt aufzeigen. Dies ist vor allem im Hinblick auf eine Vorselektion großer Probenmengen und zur Detektion synergistischer Schadstoffwirkungen von Interesse.

Unter den mikrobiologischen Bioindikationsverfahren hat sich vor allem der "Leuchtbakterientest" als gut handhabbar und reproduzierbar herausgestellt. Es werden dabei marine Bakterien (*Vibrio fischeri*) verwendet, die durch einen biochemischen Mechanismus in der Lage sind, Licht einer bestimmten Wellenlänge auszusenden. Die Reaktion ist energieabhängig und wird in ihrer Intensität durch Schadstoffe beeinflusst. Darauf beruht der Einsatz des Bakterientests in der Ökotoxikologie. Die Reduktion der Bakterienleuchtkapazität wird photometrisch gemessen.

Der vorliegende Bericht beschreibt die Möglichkeiten für einen routinemäßigen Einsatz des Leuchtbakterientests in der Umweltkontrolle. Die Daten wurden teilweise durch Literaturrecherchen, teilweise durch Laboranalysen gewonnen. Aus der wissenschaftlichen Literatur ist ersichtlich, daß der Leuchtbakterientest für eine Reihe von Schadstoffgruppen ausreichende Sensitivität aufweist. Die Ergebnisse sind in ihrer Reproduzierbarkeit der konventionellen Analytik vergleichbar und korrelieren gut mit den Ergebnissen anderer Biotests (z. B. Fischtests).

Im Rahmen dieses Projektes wurden zuerst Standardproben gemessen. Das Meßverfahren orientierte sich dabei weitgehend an einer kürzlich erstellten DIN-Norm. In der Folge wurde die Bakterientoxizität komplexer Gewässerproben bestimmt und mit Ergebnissen der chemischen Analytik verglichen. Der mögliche Einsatz des Bakterientestes für eine Vorselektion von Proben bei der systematischen Untersuchung von z. B. Industrieabwässern, Deponiesickerwässern und Gewässerimmissionsproben wurde dabei evaluiert.

Die zunehmende Notwendigkeit, Schadstoffe/Schadstoffgemische in Umweltproben rasch, zuverlässig und unter Berücksichtigung ihrer ökotoxikologischen Relevanz zu detektieren, erfordert ein hierfür geeignetes Instrumentarium. Die chemische Analytik ist oft mit großem Zeitaufwand verbunden und mitunter sehr teuer. Hier bietet nach den Ergebnissen der Studie der Leuchtbakterientest eine wertvolle Ergänzung für eine routinemäßige Umweltkontrolle, da er die Vorselektion von belasteten Proben aus einer großen Probenmenge ermöglicht. Aus der Literatur ist zudem ersichtlich, daß die nur punktuell auf bestimmte Schadstoffe ausgerichtete chemische Analyse oft eine ökotoxikologische Unbedenklichkeit signalisiert, obwohl in einem nachfolgenden Leuchtbakterientest, der die Schadstoffe integral erfaßt, signifikante Toxizitäten gemessen werden. Gegenüber anderen Biotests, wie z. B. den weit verbreiteten Fischtests, umgeht der Leuchtbakterientest jegliche Tierversuchsproblematik.

Die Bedeutung des Leuchtbakterientests in der Gewässeranalytik zeigt sich auch in einer Verankerung in der Rahmenabwasserverwaltungsvorschrift des deutschen Wasserhaushaltsgesetzes. Die genannten und im Bericht näher erläuterten Vorteile des Leuchtbakterientests lassen somit aus der Sicht des Umweltbundesamtes seine Anwendung bei Abwasseranalysen –je nach Problemstellung– als eine sinnvolle Ergänzung zur chemischen Analytik erscheinen. Darüber hinaus ist auch die Untersuchung der Wirksamkeit von Kläranlagen durch Vergleichsmessungen im Zu- und Ablauf denkbar. Da in der Literatur bereits die Entwicklung geeigneter, schonender Extraktionsverfahren beschrieben ist, sollte in weiterer Folge auch die Analyse von Bodenproben möglich sein. Dadurch wäre die Anwendung des Leuchtbakterientests in weiten Bereichen der Umweltkontrolle, wie z. B. der Toxizitätsabschätzung von Böden, Altlasten und Abfällen und der Dokumentation mikrobiologischer Bodenreinigung denkbar.

Dr. Helmut Gaugitsch
Umweltbundesamt Wien,
Abt. Allgemeine Ökologie

ZUSAMMENFASSUNG

Der Leuchtbakterienhemmtest ist ein Biotest, mit dem Schadstoffe in wässrigen Lösungen durch die Reduktion der Lichtemission von Leuchtbakterien nachgewiesen werden können. Seine Einsetzbarkeit in der Umweltkontrolle wurde in dieser Studie anhand zahlreicher Proben unterschiedlicher Herkunft gezeigt. Verschiedene Versuchsbedingungen und die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests wurden mit den Einzelsubstanzen Kupfersulfat, Kaliumdichromat, 2,3-Dichlorphenol und Pentachlorphenol ausgetestet. Darauf aufbauend wurden komplexe Immissions- und Emissionsproben auf ihre Toxizität hin untersucht.

Bei Abwässern aus Betrieben der Typen A und B wurden teilweise erhebliche Unterschiede der Toxizität für die eingesetzten Leuchtbakterien nachgewiesen. Die Ergebnisse, klassifiziert nach KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987), reichten von "unbedeutenden Hemmungen" bis zu "sehr starken Hemmungen" der bakteriellen Leuchtintensität. Die Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests wurden mit den vom Umweltbundesamt Wien (Dr. Bürkl, Dr. Frank) zur Verfügung gestellten chemischen Analysedaten der Abwasserproben verglichen. Es konnte eine Korrelation zwischen hohen Schadstoffkonzentrationen und starken Hemmungen festgestellt werden. Mehrmals im Jahr gezogene Abwasserproben eines Betriebs zeigten starke Schwankungen in der Toxizität.

Zu durchwegs sehr starken Hemmungen führten Sickerwasserproben aus den Hausmülldeponien in Tulln, Purgstall und Breitenau (Hausmüll Versuchsanlage der TU-Wien). Eine Probe (Breitenau, Feld III) mußte mit einer Hemmung von 91% nach der Klassifizierung von KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987) sogar als "totalschädigend" beurteilt werden.

Mit dem Leuchtbakterienhemmtest wurden auch Immissionsproben aus dem Göllersbach (Gewässergüteklasse III) und der Liesing (Gewässergüteklasse IV) auf ihre Toxizität hin untersucht. Mäßig starke Hemmungen konnten bei der Liesing, also im Bereich der Gewässergüteklasse IV, festgestellt werden. Für Messungen im Bereich der Gewässergüteklasse III (Göllersbach) und darunter ist die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests nach den Ergebnissen dieser Studie zu gering. In Österreich ist die Gewässergüteklasse IV nur mehr auf wenigen Abschnitten von Fließgewässern anzutreffen. Als Immissionsmeßsystem ist der Leuchtbakterienhemmtest daher nur beschränkt einsetzbar. Eine Kanaleinleitung in den Göllersbach erwies sich allerdings mit über 99% Hemmung für die Leuchtbakterien als extrem toxisch. Emissionen dieser Art können mit dem Leuchtbakterienhemmtest somit leicht erkannt werden.

In dieser Arbeit konnte die Anwendbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests als Emissionsmeßsystem für die Umweltkontrolle nachgewiesen werden. Seine Durchführung ist einfach, und er ermöglicht somit eine rasche Bestimmung der Toxizität einer großen Anzahl von Abwasserproben. Eine im Leuchtbakterienhemmtest festgestellte Toxizität ist als Hinweis auf das Vorhandensein von Schadstoffen anzusehen, deren Nachweis dann in weiteren chemischen Analysen erfolgen kann.

SUMMARY

The luminescent bacteria toxicity assay is a bioassay used to detect toxic compounds in aqueous solutions by the reduction of bacterial light emission. In this work its application in the fields of environmental pollution control was demonstrated by analysing numerous samples of different origins. The various experimental conditions and the sensitivity of the luminescent bacteria bioassay were tested with the following chemicals: copper sulfate, potassium dichromate, 2,3-dichlorophenole, pentachlorophenole.

Based on these results the toxicity of complex water samples was determined for luminescent bacteria. Bioassays with effluents from industrial plants of the types A and B showed considerably different toxic reactions. According to the classification of KOLLER-KREIMEL and RODINGER (1987) the results ranged from "insignificant inhibitions" up to "very strong inhibitions" of the bacterial luminescence. These bioassay results were compared to chemical analysis data of the same samples (provided by the Federal Environmental Agency of Vienna). A good correlation was found, as high concentrations of toxic agents resulted in strong inhibitions of the bacterial luminescence. Several samples collected from the same industrial plant during a year showed extremely varying inhibitions. These results underline the need for frequent effluent toxicity controls in order to assess possible environmental hazards. Most samples of landfill effluents showed very strong inhibitions. According to the classification of KOLLER-KREIMEL and RODINGER (1987) one sample even resulted in "total inhibition" of the bacterial luminescence. This result indicates that many landfill sites in Austria may have a negative impact on the ground water qualities.

Furthermore immission samples from the river Göllersbach (water quality class III, according to a classification system which contains four different levels of water quality) and the river Liesing (water quality class IV, the most polluted quality class) were subjected to the luminescent bacteria bioassay. Although the Liesing has water quality class IV only minor inhibitions were detected. As a conclusion it can be said that the sensitivity of the luminescent bacteria bioassay is too low to evaluate toxicities in the range of water quality class III (Göllersbach) and below. Therefore the application of this bioassay cannot be recommended for testing running water. On the other hand an effluent led into the Göllersbach reduced the bacterial luminescence by 99%. This signifies that it was extremely toxic for the bacteria. Therefore it can be said that toxic emissions are easily detected by the luminescent bacteria bioassay.

In this study the applicability of the luminescent bacteria bioassay to estimate the hazards of aqueous emissions for the environment has been demonstrated. Since the procedure is simple, it is possible to determine the toxicity of large numbers of effluent samples in a short time. A toxicity found points to the presence of toxic substances in the sample. The final proof can only be established by subsequent chemical analysis.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Biolumineszenz	2
1.2	Biolumineszenz bei Bakterien	3
1.2.1	Taxonomische Einteilung biolumineszenter Bakterien	3
1.2.2	Die Veränderung der bakteriellen Lichtemission als Antwort auf Umwelteinflüsse	3
2	Material und Geräte	5
2.1	Material	5
2.2	Geräte	5
3	Methoden	7
3.1	Probenvorbereitung	7
3.2	Testdurchführung	8
3.3	Auswertung	9
3.4	Angabe der Ergebnisse	10
4	Ergebnisse und Diskussion	11
4.1	Literaturrecherche: Vergleich des Leuchtbakterienhemmtests mit anderen biologischen Verfahren zur Toxizitätsbestimmung	11
4.2	Versuche mit Einzelsubstanzen	13
4.2.1	Kupfersulfat (Cu II)	13
4.2.2	Kaliumdichromat (Cr VI)	18
4.2.3	Pentachlorphenol	19
4.2.4	Dichlorphenol	20
4.2.5	Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit Einzelsubstanzen	22
4.3	Versuche mit Industrieabwässern	23
4.3.1	Abwässer aus Betrieben des Typs A	23
4.3.1.1	Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Abwässern aus Betrieben des Typs A	26

4.3.2	Abwässer aus Betrieben des Typs B	27
4.3.2.1	Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Abwässern aus Betrieben des Typs B	29
4.4	Immissionsproben aus Fließgewässern	30
4.4.1	Göllersbach	30
4.4.1.1	Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Immissions- proben vom Göllersbach	34
4.4.2	Dürre Liesing und Liesing	34
4.4.2.1	Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Immissions- proben von der Dürren Liesing und der Liesing	37
4.5	Deponiesickerwässer	38
4.5.1	Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Deponiesickerwässern	40
5	Einsatzmöglichkeiten des Leuchtbakterienhemmtests in der Umweltkontrolle	42
5.1	Beurteilung der Toxizität von Einzelsubstanzen	42
5.2	Erfassung synergistischer oder antagonistischer Effekte	42
5.3	Umfassende Umweltkontrolle	43
5.4	Grenzen des Leuchtbakterienhemmtests	44
5.5	Vorteile des Leuchtbakterienhemmtests gegenüber anderen Analyseverfahren	46
6	Literatur	47

1 Einleitung

A.A. BULICH (1979) beschrieb erstmals die Verwendung des Bakteriums *Photobacterium phosphoreum* als Versuchsorganismus zur Beurteilung der Toxizität eines Schadstoffes in Form eines kommerziellen Testverfahrens. Der immer häufigere Einsatz der Methode zur Beurteilung der akuten Toxizität von chemischen Substanzen in Gewässern führte schließlich in Deutschland 1991 zur Erstellung einer Norm für die Abwasserkontrolle mit Leuchtbakterien (DIN 38 412 Teil 34). Dieser Leuchtbakterienhemmtest ist ein Biotest, der auf der Fähigkeit des Bakteriums Licht mit einer Wellenlänge von 490 nm auszusenden basiert. Dieses Phänomen wird als Biolumineszenz bezeichnet. Die Wirkung toxischer Stoffe führt zu einer Reduktion der bakteriellen Lichtemission, die mit einem Lumineszenzmeßgerät bestimmt wird.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Einsetzbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests in der Umweltkontrolle zu untersuchen. Das Hauptinteresse dabei gilt der Abschätzung seiner Eignung für routinemäßige Analysen schadstoffbelasteter Gewässer- und Bodenproben, sowie der Frage ob ein hoher Probendurchsatz eine Vorselektion von Umweltproben ermöglichen und somit den tatsächlichen Aufwand für die chemischen Analysen reduzieren kann.

Dafür sollen vorerst folgende Fragen geklärt werden:

- Auf welches Chemikalienspektrum reagiert der Leuchtbakterienhemmtest?
- Wie sensitiv ist der Leuchtbakterienhemmtest?
- Sind die Ergebnisse reproduzierbar?
- Nach welcher Versuchsvorschrift erhält man eine möglichst rasche und zuverlässige Aussage?

In der Folge soll die Anwendbarkeit und die Aussagekraft des Leuchtbakterienhemmtests an Gewässerproben verschiedener Herkunft demonstriert und mit Ergebnissen der organischen und anorganischen Analytik verglichen werden.

1.1 Biolumineszenz

Lumineszenz bedeutet die Abgabe von Licht in kaltem Zustand (im Gegensatz zur Temperaturstrahlung).

Von **Biolumineszenz** spricht man, wenn Lebewesen einen Teil ihrer durch Stoffwechselaktivität gewonnenen Energie zur Lichtemission verwenden.

Physikochemisch gesehen läuft der Prozeß ähnlich wie die **Chemilumineszenz** ab: Organische Emittermoleküle werden angeregt, und beim Übergang der Elektronen vom höher- in den niederenergetischen Zustand wird die Energiedifferenz als Licht abgestrahlt.

Die Fähigkeit zur Biolumineszenz ist unter den Lebewesen weit verbreitet; am bekanntesten ist das "Glühwürmchen" (eigentlich ein Käfer). Die Biolumineszenz kann aber u.a. auch bei Würmern, Schnecken, Tintenfischen, Quallen, Dinoflagellaten (Meeresleuchten!), Pilzen und Bakterien beobachtet werden. Die weite Verbreitung und die Verschiedenartigkeit der zur Lichtemission führenden biochemischen Reaktionen machen es wahrscheinlich, daß die Fähigkeit zur Biolumineszenz im Laufe der Evolution mehrfach und unabhängig voneinander entstanden ist. Als biologische Funktion der Biolumineszenz werden folgende Gründe angeführt: Anlockung von Beute, Täuschung von Feinden und Kommunikation. Aber nicht bei allen Organismen kann derzeit die Bedeutung der Lichtemission erklärt werden. So ist z.B. der Sinn des Leuchtens von Bakterien nach wie vor ungeklärt.

1.2 Biolumineszenz bei Bakterien

1.2.1 Taxonomische Einteilung biolumineszenter Bakterien

Alle bisher bekannten Leuchtbakterien sind Gram-negativ und fakultativ anaerob. Die am besten untersuchten Arten leben im Meerwasser. Nach BAUMANN et al. (1983) werden die marinen Leuchtbakterien in folgende Arten unterteilt: *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium leiognathi*, *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio splendidus* und *Vibrio harveyi*. Sie kommen als freilebende, saprophytische, symbiontische oder parasitäre Lebensformen vor. 1976 wurde ein terrestrisches Bakterium entdeckt, das ebenfalls die Fähigkeit zur Lichtabgabe besitzt (*Xenorhabdus luminescens*). Es wird aber trotz der ähnlichen Leuchtreaktion aufgrund deutlicher genetischer Unterschiede in eine andere taxonomische Klasse eingeteilt.

1.2.2 Die Veränderung der bakteriellen Lichtemission als Antwort auf Umwelteinflüsse

Die Lichtemission ist eine energieverbrauchende Reaktion. Die Energie wird durch den Stoffwechsel der Zelle in Form von energiereichen Molekülen (NAD(P)H, Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat) bereitgestellt. Die Reaktion selbst wird von dem Enzym Luciferase katalysiert. Eine Verlangsamung der Stoffwechselreaktionen, zum Beispiel durch eine Verschlechterung der Lebensbedingungen, führt in der Zelle zu einer Absenkung des NAD(P)H-Spiegels und somit zu einer Verringerung der Lichtemission (KANNE, 1988, siehe Abb. 1).

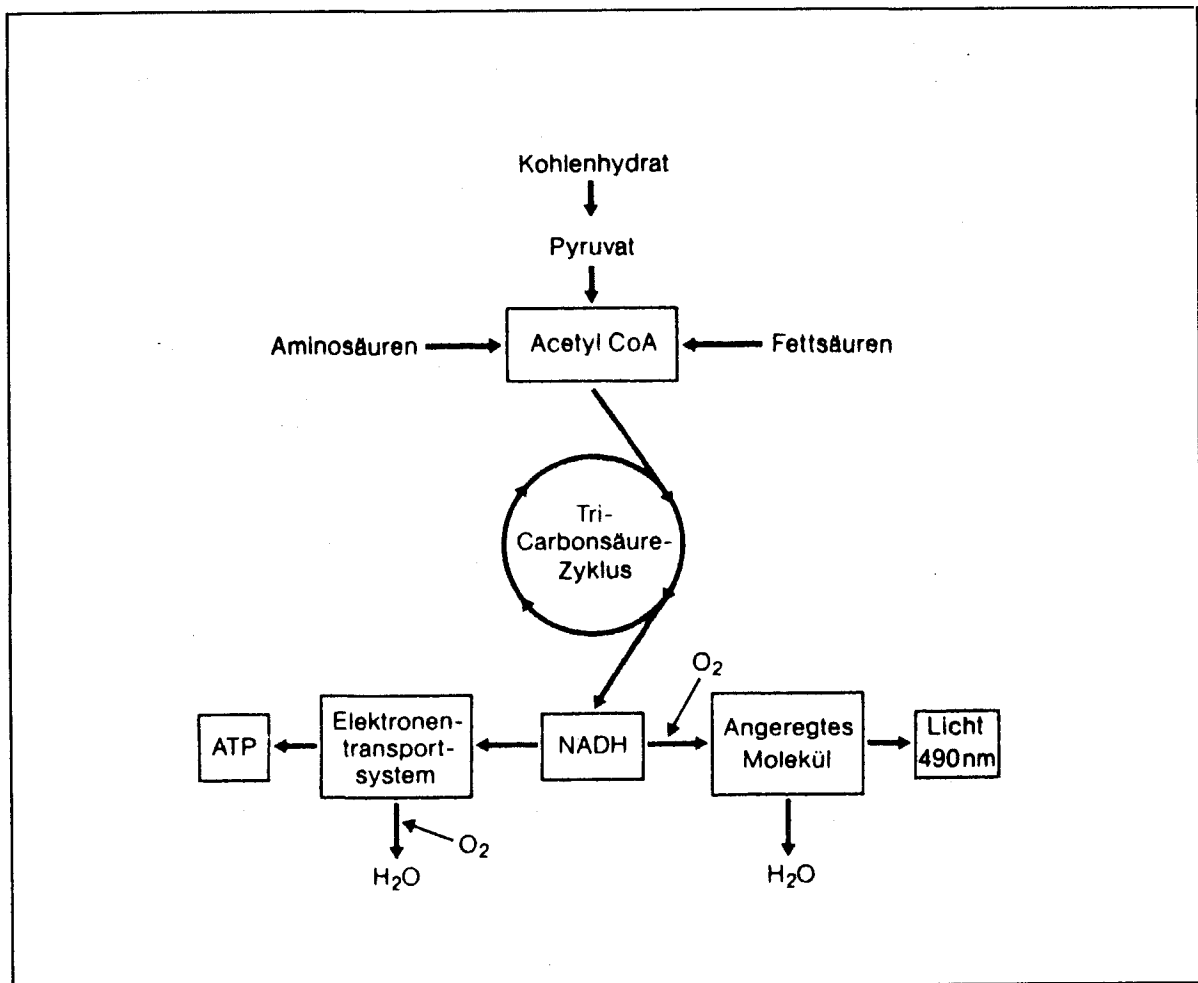


Abb. 1: Die Luciferase-Reaktion im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel, nach KANNE (1988)

2 Material und Geräte

2.1 Material

Bakterien

Für die Versuche wurde eine schonend getrocknete Bakterienkonserve (L-drying-Verfahren, haltbar bei -18°C) eingesetzt.

Vibrio fischeri Fa. Dr. Lange

Chemikalien

NaOH	Fa. Merck
HCl	Fa. Merck
NaCl	Fa. Merck
Kaliumdichromat	Fa. Merck
Kupfersulfat	Fa. Merck
Pentachlorphenol	Fa. Supelco
2,3-Dichlorphenol	Fa. Supelco

2.2 Geräte

LUMIStox-Lumineszenzmeßgerät

Das LUMIStox-Meßsystem von der Firma Dr. Lange besteht aus zwei Komponenten:

- LUMIStox-Meßgerät
- LUMIStherm-Inkubationsblock

LUMIStox-Meßgerät

(Bedienungsanleitung der Firma Dr. Lange, 1991)

Das Meßgerät LUMIStox ist die zentrale Funktionseinheit des Systems. Hier erfolgt die Messung der Lichtsignale der Leuchtbakterien.

Das eigentliche Meßelement stellt der Photomultiplier dar, der die relativ schwachen Primärsignale der Leuchtbakterien detektiert und elektronisch verstärkt. Die Messung selbst wird in einer Meßzelle durchgeführt, die auf 15°C temperiert ist.

LUMIStherm-Inkubationsblock

(Bedienungsanleitung der Firma Dr. Lange, 1991)

Der LUMIStherm-Inkubationsblock ist ein Thermoblock. Hier werden die Proben in den Meßküvetten vor der Messung sowie während der Inkubationszeiten auf exakt 15°C temperiert.

Sauerstoffelektrode

Für die Messung der Sauerstoffgehalte wurde ein tragbares Meßgerät der Firma WTW mit der Gerätebezeichnung OXI 96 verwendet.

Leitfähigkeitsmeßgerät

Die Leitfähigkeiten und die Wassertemperaturen wurden mit dem Leitfähigkeitsmeßgerät LF 91 von der Firma WTW gemessen.

3 Methoden

Aus Gründen der Standardisierung wurden die Versuche weitestgehend nach der DIN 38 412 Teil 34 durchgeführt. Falls nicht gesondert darauf hingewiesen, wurde nach folgender Vorschrift vorgegangen:

3.1 Probenvorbereitung

- Den pH-Wert der Probe durch Zugabe von HCl oder NaOH auf einen pH-Wert von 7+/-0,2 einstellen.
- Die neutralisierte Probe durch Zugabe von 20 g NaCl je Liter Probe aufsalzen.
- Falls erforderlich Verdünnungsreihe nach folgendem Schema ansetzen:

Tabelle 1: Verdünnung der Probe

Verdünnung	Verdünnungsstufe G	Anteile Probe %	Anteile Verdünnungswasser %	Anteile Bakterien-suspension %
1: 1,25	1	80	0	20
1: 2	2	50	0	50
1: 3	3	33,33	16,67	50
1: 4	4	25	25	50
1: 6	6	16,67	33,33	50
1: 8	8	12,50	37,50	50
1:12	12	8,33	41,67	50
1:16	16	6,25	43,75	50
1:24	24	4,17	45,83	50
1:32	32	3,13	46,87	50

Rehydratisierung der Bakterien:

- Die tiefgefrorene Verdünnungslösung (bezogen von der Firma Dr. Lange) auftauen und auf $3\pm 3^{\circ}\text{C}$ temperieren.
- 1 ml der auf $3\pm 3^{\circ}\text{C}$ temperierten Verdünnungslösung zu den konservierten Bakterien gießen und diese durch Schütteln vollständig resuspendieren.
- Nach einer Wartezeit von mindestens 5 Minuten ($3\pm 3^{\circ}\text{C}$) die restliche Verdünnungslösung zu den Bakterien gießen (ad 4,5 ml für Verdünnungsstufe G=1, ad 21 ml ab G=2).
- Wartezeit mindestens 15 Minuten, maximal 2 Stunden (bei $3\pm 3^{\circ}\text{C}$).

3.2 Testdurchführung

- Die NaCl-Lösung für die Kontrollansätze im Thermoblock des LUMISToxmeßgeräts auf $15\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ temperieren.
- Die Ansätze der Verdünnungsreihe (Proben) auf $15\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ temperieren (Thermoblock).
- Die hydratisierten Bakterien in Glasküvetten auf $15\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ temperieren (200 μl Bakteriensuspension für Verdünnungsstufe G=1, 500 μl Bakteriensuspension ab Verdünnungsstufe G=2).
- Wartezeit genau 30 Minuten.
- Unmittelbar nach dem Messen der Leuchtintensität einer Bakteriensuspension zum Zeitpunkt $t=0$ (I_0) das Volumen in der Küvette mit der Probe (Kontrollansatz: 2% NaCl-Lösung) auf 1 ml ergänzen und mischen.
- Die Leuchtintensitäten nach 30 Minuten (I_{30}) erneut bestimmen.

Anmerkung: Da die Kontaktzeit genau 30 Minuten betragen soll, muß während des Versuchs mit Hilfe einer Stoppuhr ein genauer Zeittakt eingehalten werden.

3.3 Auswertung

- In den Kontrollansätzen die zeitliche Änderung der bakteriellen Leuchtintensität ermitteln.
- Aus der gemessenen Leuchtintensitätsabnahme in den Kontrollansätzen den Korrekturfaktor KF errechnen, mit dem die Ausgangswerte I_0 aller Testansätze korrigiert werden müssen, ehe diese als Bezugswerte zur Ermittlung der probenbedingten Leuchtintensitätsabnahme verwendet werden können. Der Korrekturfaktor wird nach folgender Gleichung berechnet (I_0 - und I_{30} -Wert der Kontrolle):

$$KF = \frac{I_{30}}{I_0}$$

- Aus den I_0 Werten der Testansätze den Wert I_{kor30} nach folgender Gleichung berechnen:

$$I_{kor30} = I_0 \times KF$$

- Die Hemmwirkung auf die Lichtemission eines Testansatzes nach folgender Gleichung berechnen:

$$\% H_{30} = \frac{I_{kor30} - I_{30}}{I_{kor30}} \times 100$$

Der Wert $\% H_{30}$ gibt die Hemmung auf die Lichtemission eines Testansatzes nach der Kontaktzeit von 30 Minuten in % an.

3.4 Angabe der Ergebnisse

Als Maß für die Hemmwirkung von Abwasserproben kann der kleinste Verdünnungsfaktor G verwendet werden, dessen Hemmwert die Schwelle von 20% noch unterschreitet (DIN 38 412). Dieser Verdünnungsfaktor wird als G_L -Wert bezeichnet und stellt das Testergebnis nach DIN 38 412 dar. Nach KAVKA (1989) kann bei Abwasserproben ein G_L -Wert von <4 toleriert werden. Wenn der G_L -Wert größer oder gleich 4 beträgt, ist mit dem Vorhandensein von toxischen Stoffen zu rechnen. Als Kenngröße für die toxische Wirkung, insbesondere von Prüfsubstanzen, wird auch häufig der EC_{50} -Wert herangezogen. Unter dem EC_{50} -Wert ist die effektive Konzentration des Testguts, die eine 50 %ige Hemmung der Leuchtintensität verursacht, zu verstehen (RIBO u. KAISER, 1987). Die Hemmwirkung von schadstoffhaltigem Oberflächenwasser kann durch die Angabe des H_{30} -Wertes, der Hemmung der Leuchtintensität durch die konzentrierte Probe ($G=2$) in Prozent, charakterisiert werden. KOLLER-KREIMEL u. RODINGER (1987) beurteilen diese Hemmwerte folgendermaßen:

Tabelle 2: Bewertung der Hemmwerte der konzentrierten Probe ($G=2$), nach KOLLER-KREIMEL u. RODINGER (1987)

% H_{30} (max)	Bewertung
<10	unbedeutende Hemmung
10-40	mäßig starke Hemmung
40-60	starke Hemmung
60-90	sehr starke Hemmung
>90	Totalschädigung

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Literaturrecherche: Vergleich des Leuchtbakterienhemmtests mit anderen biologischen Verfahren zur Toxizitätsbestimmung

In zahlreichen Veröffentlichungen wurde die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests den Ergebnissen akuter Toxizitätstests mit anderen biologischen Systemen gegenübergestellt. Die folgende Tabelle ist eine Zusammenfassung der in der Literatur gefundenen Vergleiche.

Tabelle 3:

Organismus	systematische Gruppe	Autor
<i>Spirillum volutans</i>	Eubakterien	DUTKA et al. (1991) COLEMAN u. QURESHI (1985)
<i>Nitrobacter agilis</i>	Eubakterien	GUPTA u. KELLY (1992)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Eubakterien	GUPTA u. KELLY (1992)
<i>Pseudomonas putida</i>	Eubakterien	POPP (1988)
<i>Colpidium campylum</i>	Protozoa	ROBERTS et al. (1990)
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	Ciliata	KAISER u. PALABRICA (1991) CRONIN (1991)
<i>Selenastrum capricornutum</i>	Algen	ROBERTS et al. (1990)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Algen	KAISER u. PALABRICA (1991)
<i>Daphnia magna</i> (Wasserfloh)	Crustacea	DUTKA et al. (1991) GUPTA u. KELLY (1992) KAISER u. PALABRICA (1991) CRONIN (1991)
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	Crustacea	DUTKA et al. (1991)
<i>Pimephales promelas</i> (Elritze)	Fische	CHANG et al. (1981) KAISER u. PALABRICA (1991) CRONIN (1991)
<i>Leuciscus idus melanotus</i> (Goldorfe)	Fische	KAISER u. PALABRICA (1991)
Ratte	Säugetiere	CHANG et al. (1981) KAISER u. PALABRICA (1991)
Hase (Augen-Irritationstest)	Säugetiere	BULICH et al. (1990)
Maus (L-929 Fibroblasten-Zelllinie)	Säugetiere	BULICH et al. (1990)

Die Autoren kommen übereinstimmend zu dem Schluß, daß es sich bei dem Leuchtbakterienhemmtest um einen vergleichsweise sensitiven Ansatz handelt, dessen Ergebnisse eine gute Korrelation mit anderen Biotests aufweisen. Hervorzuheben ist der 96 Stunden-Letalitätstest mit der Elritze (*Pimephales promelas*). Er hat sich zu einem Standardtest für die toxikologische Beurteilung von Schadstoffen in Gewässern entwickelt. Nachfolgendes Diagramm zeigt die hoch signifikante Korrelation der Ergebnisse dieses Fischtests mit den Daten aus dem Leuchtbakterienhemmtest (Abb. 2, aus KAISER u. PALABRICA, 1991). Es wurden jeweils über 200 verschiedene chemische Substanzen, u.a. Alkohole, Phenole, aromatische und aliphatische Verbindungen, heterozyklische Verbindungen, Säuren, Ketone, Nitrile, Verbindungen mit Nitro-, Fluor-, Chlor- oder Bromsubstitutionen, verschiedene Pestizide wie Fungizide, Herbizide und Insektizide gemessen. Der LC_{50} -Wert des Fischtests (Konzentration einer Substanz, bei der 50% der Versuchstiere sterben) und der EC_{50} -Wert des Leuchtbakterienhemmtests (Konzentration einer Substanz, bei der die Leuchtintensität der Bakterien nach einer Versuchsdauer von 5-30 Minuten um 50% verringert wird) wurden einander gegenübergestellt.

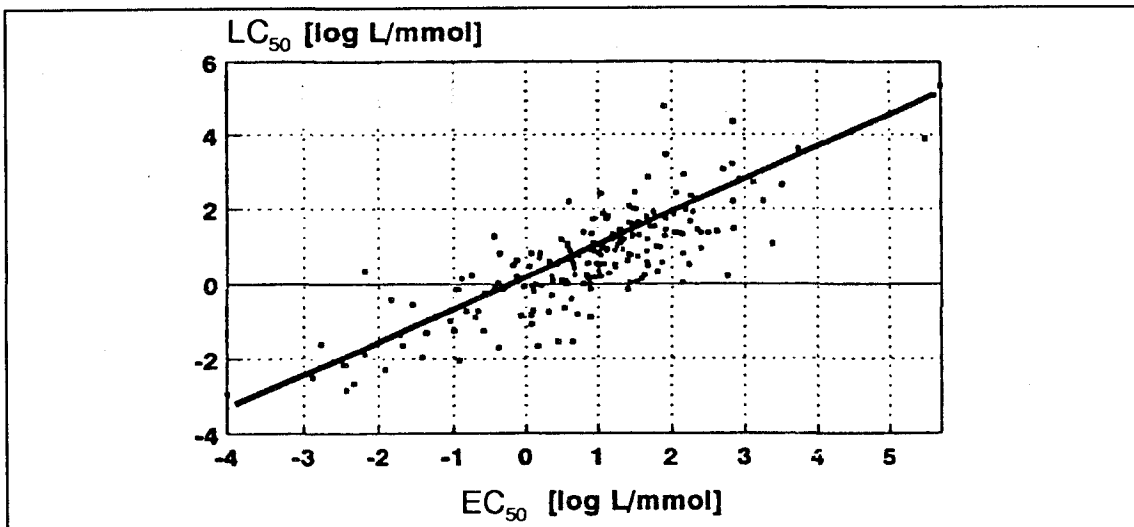


Abb. 2: Korrelation zwischen dem Fischtoxizitätstest (LC_{50} -Werte) und dem Leuchtbakterienhemmtest (EC_{50} -Werte), nach KAISER und PALABRICA (1991)

4.2 Versuche mit Einzelsubstanzen

Zur Ermittlung der geeignetsten Versuchsbedingungen wurden die Leucht bakterienhemmtests zuerst mit Einzelsubstanzen bekannter Konzentration durchgeführt. Es wurden je zwei repräsentative anorganische und organische Substanzen gewählt, die nachweislich eine ökotoxikologische Wirksamkeit besitzen:

- Kupfersulfat (Cu II)
- Kaliumdichromat (Cr VI)
- Pentachlorphenol
- 2,3-Dichlorphenol

4.2.1 Kupfersulfat (Cu II):

Schwermetalle bilden bei pH-Werten um den Neutralpunkt wasserunlösliche Hydroxide. Sie werden in dieser Form von den Bakterienzellen nicht aufgenommen und bewirken somit keine Bakterientoxizität mehr (COLEMAN u. QURESHI, 1985). Kupfer fällt bei einem pH von 7 bereits aus. Ein Versuch (Daten nicht gezeigt) mit dem Überstand der so behandelten Probe zeigte keine toxische Wirkung mehr.

Kupfersulfat, pH 5,5, Versuch 1

Um das Kupfer in Lösung zu halten wurde die Probe auf einen pH-Wert von 5,5 eingestellt. Nach DOBBS et al. (undatiert), COLEMAN u. QURESHI (1985) und GUPTA u. KRISHNAMURTHY (1991) kann der Leucht bakterientest grundsätzlich auch bei anderen pH-Werten als 7 durchgeführt werden. Die Autoren wiesen die problemlose Anwendbarkeit des Tests bis zu einem pH von 5 nach.

Die Verdünnungslösung der Firma Dr. Lange ist auf einen pH von 7 gepuffert. Um eine Verschiebung des pH-Werts in der Probe zu verhindern, wurden die Bakterien in einer 2% NaCl-Lösung mit einem pH von 5,5 rehydratisiert, wodurch sich das Ausgangsleuchten der Bakteriensuspension jedoch auf ca. 1/3 gegenüber der Standardversuchsvorschrift verringerte. Die Veränderung der Leuchtintensitäten wurde alle 10 Minuten bestimmt. Die errechneten Hemmwerte sind als Ergebnisse in den nachfolgenden Tabellen und Diagrammen dargestellt. Die primären Meßwerte werden nicht gezeigt.

Tabelle 4:

Probe: Kupfer Ausgangskonz.: 100 mg/l pH: 5,5

G-Wert	Kontr.	24	16	12	8	6	4	3
Konz. mg/l	0	4,17	6,25	8,33	12,5	16,67	25	33,33
% H ₁₀	0	-8,62	10,8	24,72	46,28	55,98	69,26	75,14
% H ₃₀	0	-23,96	-4,93	12,46	55,51	87,6	95,17	96,82

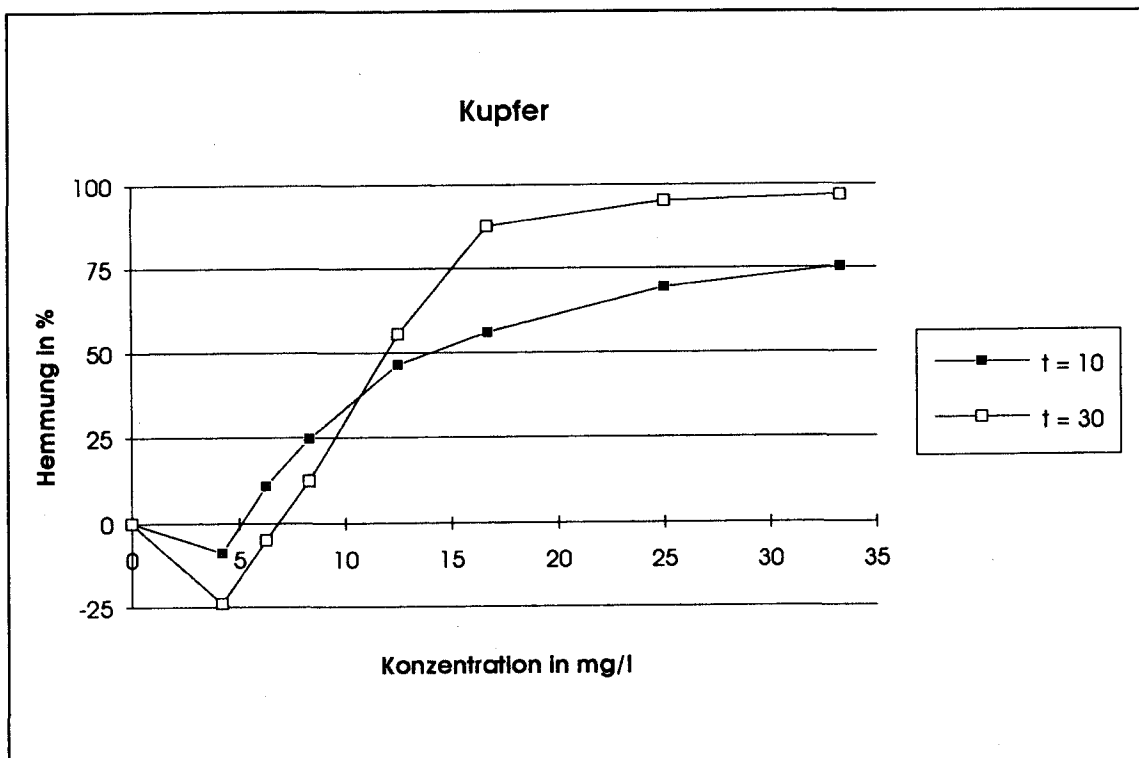


Abb. 3: Liniendiagramm Kupfer, pH 5,5, Versuch 1

Im Liniendiagramm (Abb. 3) wird die Hemmung der Lichtemission in Abhängigkeit von der Kupferkonzentration für die Zeiten $t=10$ und $t=30$ gezeigt. Beide Kurven haben einen ähnlichen Verlauf. Das bedeutet, daß sich zumindest im Fall von Kupfersulfat das Versuchsergebnis durch eine längere Versuchsdauer nicht wesentlich verändert. Es ist zu erkennen, daß Kupfer in geringen Konzentrationen sogar zu einer Verstärkung des Leuchtens führt (Hemmung mit negativem Vorzeichen). Das kann dadurch erklärt werden, daß Kupfer ein Spurenelement ist. In geringer Konzentration kann dieses Metall den Stoffwechsel durchaus steigern.

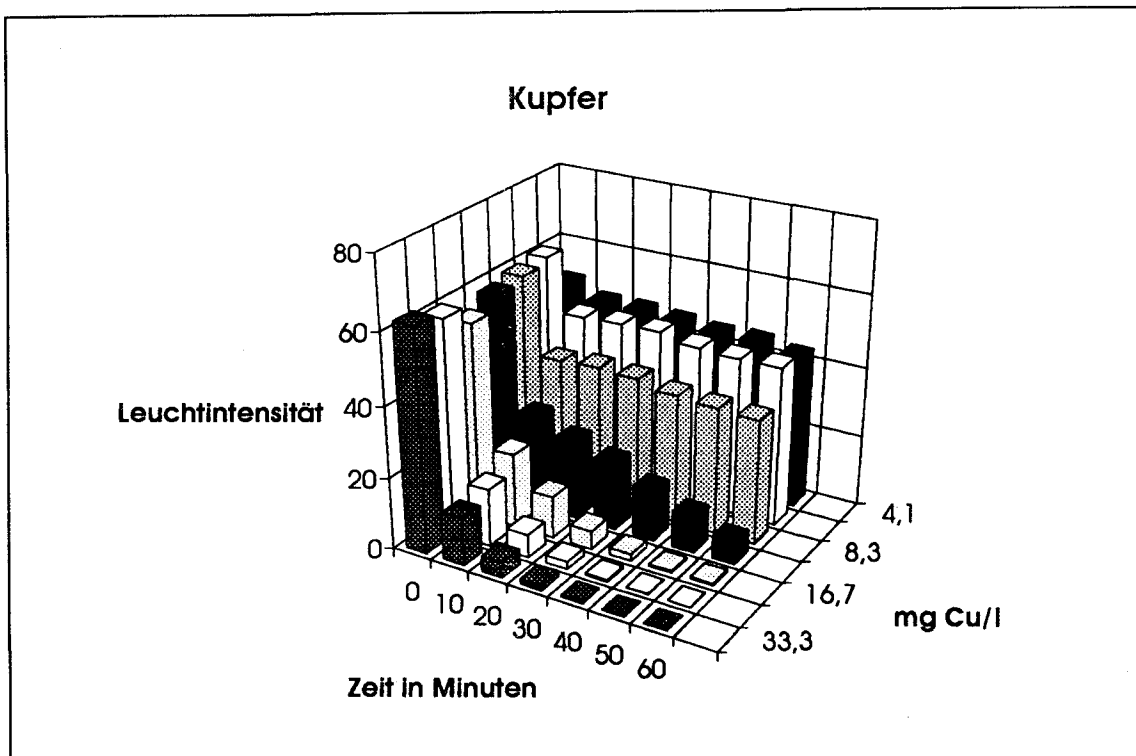


Abb. 4: Balkendiagramm Kupfer, pH 5,5, Versuch 1

Das Balkendiagramm zeigt, daß die Hemmung der Leuchtintensität sehr rasch vor sich geht. Der Stoffwechsel der Bakterien reagiert bereits innerhalb der ersten Minuten. Die Veränderung der Lichtemission während der nächsten Stunde ist nur mehr gering. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß für einfache Toxizitätskontrollen eine Messung nach wenigen Minuten ausreicht. In der Regel erscheint aber die von der DIN 38 412 geforderte Versuchsdauer von dreißig Minuten als praktikabel. Eine Steigerung der Sensitivität des Tests kann durch eine Verlängerung der Versuchsdauer über dreißig Minuten hinaus nicht erzielt werden.

In einem neuerlichen Versuch (Kupfersulfat, pH 5,5, Versuch 2, Daten nicht gezeigt) wurde die Reproduzierbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests überprüft und bestätigt.

Kupfersulfat, pH 5,5, Versuch 3

Die Anfangsleuchtintensität der Bakterien ist bei der Rehydratisierung in der Verdünnungslösung von der Firma Dr. Lange ca. dreimal so hoch als bei der Verwendung einer NaCl-Lösung. Aus diesem Grund wurden die Bakterien in einem dritten Versuch in der Verdünnungslösung von Dr. Lange rehydratisiert und mit der Kupfersulfatlösung pH 5,5

gemischt. Da die Verdünnungslösung gepuffert ist, stellt sich in der Küvette ein pH-Wert von 7 ein.

Tabelle 6:

Probe: Kupfer Ausgangskonz.: 100 mg/l pH: 5,5

G-Wert	K	24	16	12	8	6	4	3	2
mg/l	0	4,17	6,25	8,33	12,5	16,67	25	33,33	50
% H ₃₀	0	3,18	6,17	1,33	2,61	-5,04	54,24	99,45	100

Bei einem pH-Wert von 7 fällt Kupfer bereits aus und verliert dabei seine toxische Wirkung auf die Bakterien. Da es sich bei der Fällung um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, bei der das Erreichen eines stabilen Zustandes eine gewisse Zeit dauert, wird im Versuch noch eine Resttoxizität gemessen. Das Liniendiagramm (Abb. 5) stellt die Hemmungen der Versuche 1 (Rehydratisierung in NaCl-Lösung) und 3 (in Dr. Lange-Verdünnungslösung) bei einer Versuchsdauer von dreißig Minuten gegenüber.

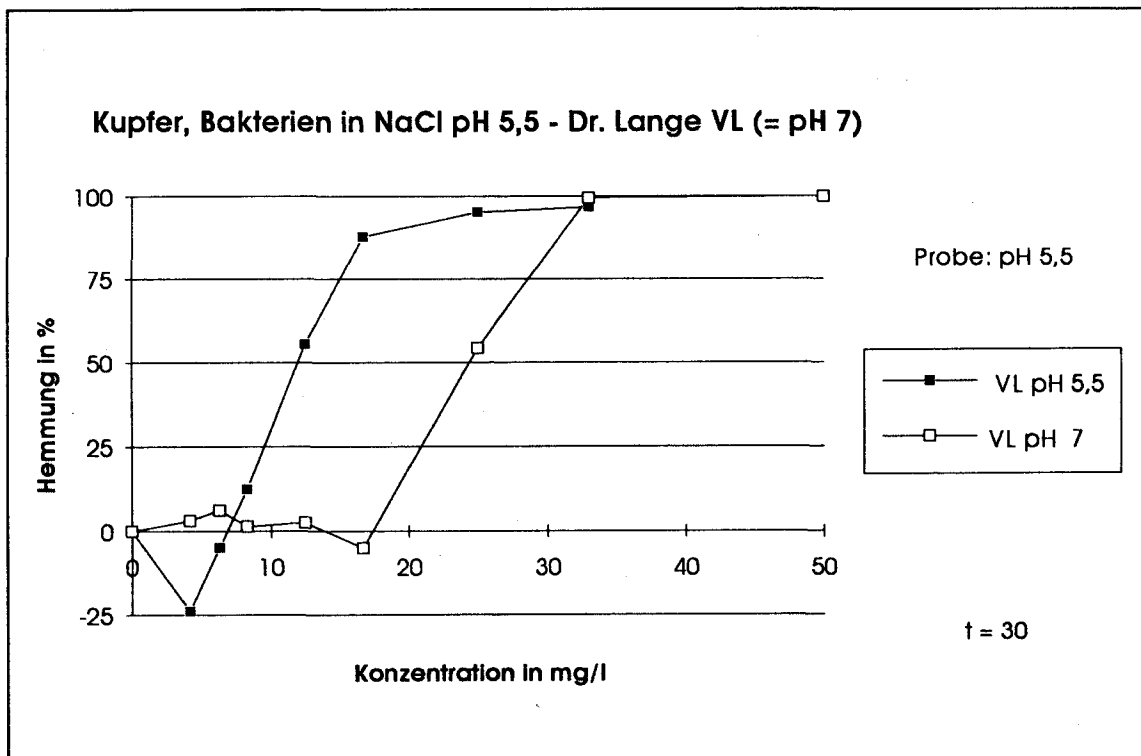


Abb. 5: Liniendiagramm Kupfer, Vergleich der Versuche 1 und 3

Das Liniendiagramm (Abb. 5) zeigt, daß bei einem pH-Wert von 7 Kupfer erst ab einer Konzentration von 20 mg/l toxisch auf die Bakterien wirkt. Das ist offensichtlich die Folge einer Fällungsreaktion bei der das Kupfer aus der Lösung entfernt wird. Bei einem pH-Wert von 5,5 wirken schon wesentlich geringere Konzentrationen toxisch. COLEMAN u. QURESHI (1985) weisen in einer Arbeit auf das Problem der Veränderung der toxischen Eigenschaften von Schadstoffen durch die pH-Werteinstellung hin. Sie empfehlen die Beibehaltung des ursprünglichen pH-Werts der Proben bei der Messung. Die Aussagekraft der Versuchsergebnisse in Hinsicht auf ihre ökologische Relevanz soll dadurch größer werden.

Im Kapitel 4.2.5 werden die Ergebnisse dieser Arbeit mit Werten aus der Literatur verglichen.

4.2.2 Kaliumdichromat (Cr VI):

Die Probe wurde auf einen pH-Wert von 5,5 eingestellt und die Bakterien in 2% NaCl rekonstituiert.

Kaliumdichromat, pH 5,5

Tabelle 7:

Probe: Chrom VI Ausgangskonz.: 1000 mg/l pH: 5,5

G-Wert	Kontr.	96	64	48	32	24	16	12
Konz. mg/l	0	10,42	15,63	20,83	31,25	41,67	62,50	83,33
% H ₁₀	0	9,43	15,26	27,91	37,84	42,41	48,59	69,18
% H ₃₀	0	37,11	46,99	61,65	73,71	81,90	89,49	69,67

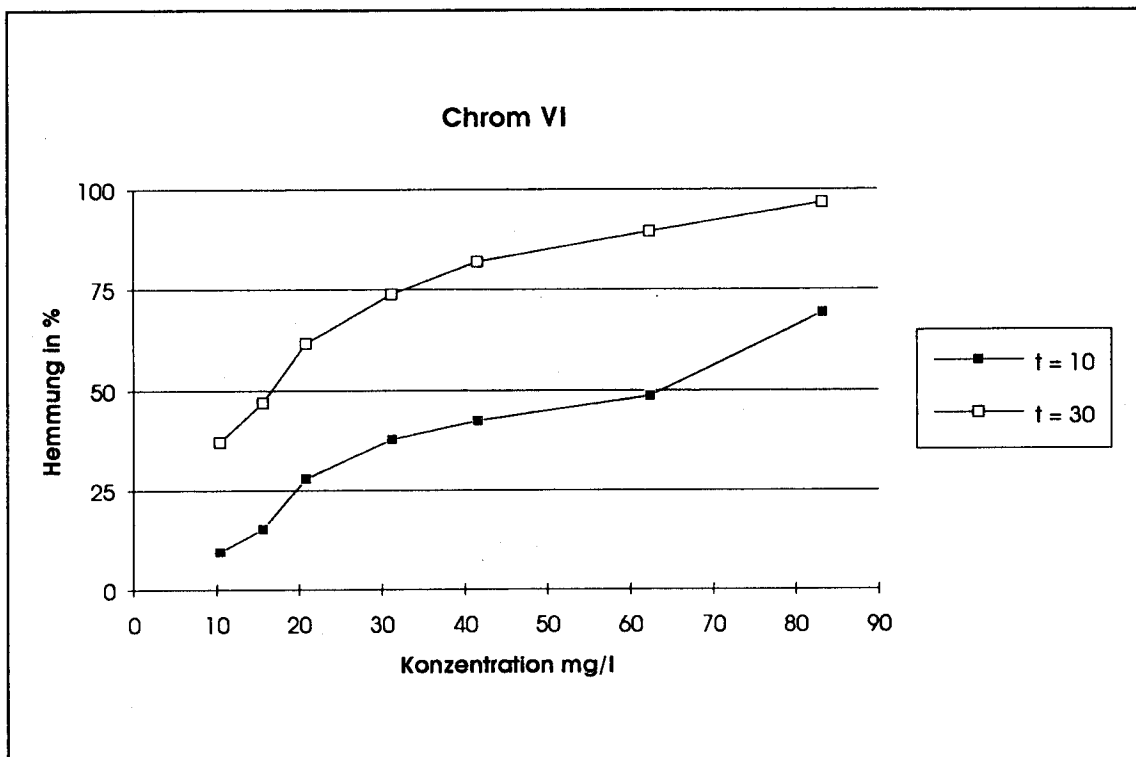


Abb. 6: Liniendiagramm Chrom VI, pH 5,5, Versuch 1

Im Liniendiagramm (Abb. 6) zeigt die Kurve für die Versuchsdauer t=10 bereits eine deutliche Hemmung der bakteriellen Leuchtintensität an, die sich nach 30 Minuten (t=30) noch verstärkt.

Für die Fragestellung ob eine Toxizität vorliegt oder nicht reicht nach diesem Ergebnis eine Versuchsdauer von 10 Minuten aus. Für den Vergleich der toxischen Wirkung verschiedener Substanzen ist jedoch die Einhaltung einer standardisierten Versuchsdauer notwendig.

4.2.3 Pentachlorphenol:

Pentachlorphenol ist schwer wasserlöslich. Es konnte erst durch Ultraschallung im Wasserbad und nach einer Wartezeit von 24 Stunden in Lösung gebracht werden. Die Probe wurde bei pH 7 gemessen. Auch hier zeigte sich, daß die Leuchtintensität bei geringen Schadstoffkonzentrationen leicht zunimmt. Steigt die Konzentration der Substanz, so kommt es zu einer deutlichen Inhibierung. Die Hemmung wurde sowohl für die Versuchsdauer von 30 als auch für 60 Minuten errechnet. Es zeigte sich, daß die Hemmung nach 30 Minuten nicht mehr zunimmt.

Tabelle 8:

Probe: Pentachlorphenol Ausgangskonz.: 5 mg/l pH: 7

G-Wert	K	32	24	16	12	8	6	4	3	2
mg/l	0	0,16	0,21	0,31	0,42	0,63	0,83	1,25	1,67	2,5
% H ₃₀	0	0,14	2,64	-9,91	-6,17	-16,4	-7,7	-6,35	11,2	47,4
% H ₆₀	0	1,8	3,56	-6,59	-4,75	-11,7	-6,29	-5,35	3,64	44,77

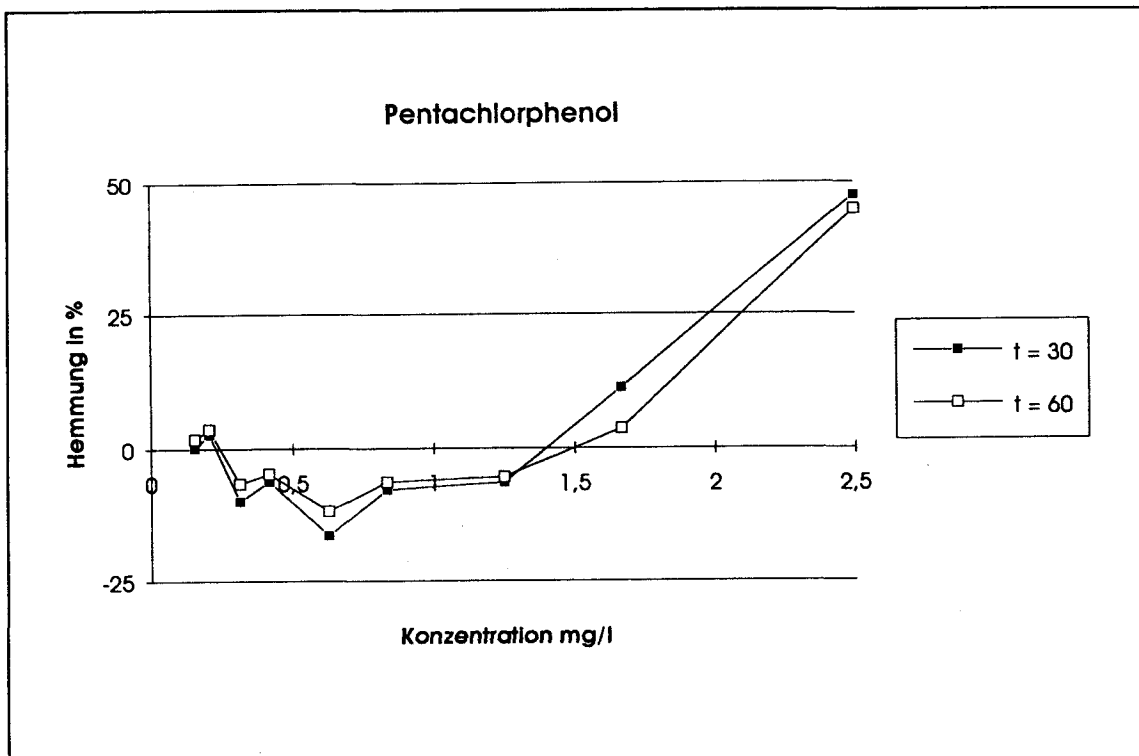


Abb. 7: Liniendiagramm Pentachlorphenol

4.2.4 2,3-Dichlorphenol:

Dichlorphenol wurde bei pH 7 (Rehydratisierung der Bakterien in der Verdünnungslösung von Dr. Lange) und bei pH 5,5 (Rehydratisierung der Bakterien in 2% NaCl pH 5,5) gemessen.

Dichlorphenol, pH 7, Versuch 1

Tabelle 9:

Probe: 2,3-Dichlorphenol Ausgangskonz.: 60 mg/l pH: 7

G-Wert	K	32	24	16	12	8	6	4	3	2
mg/l	0	1,88	2,5	3,75	5	7,5	10	15	20	30
% H ₃₀	0	22,32	25,38	36,98	45,66	51,81	62,79	57,99	85,51	89,92
% H ₆₀	0	17,3	20,95	33,01	41,29	49,37	61,02	55,91	84,68	90,1

Dichlorphenol, pH 5,5, Versuch 2

Tabelle 10:

Probe: 2,3-Dichlorphenol Ausgangskonz.: 60 mg/l pH: 5,5

G-Wert	K	32	24	16	12	8	6	4	3	2
mg/l	0	1,88	2,5	3,75	5	7,5	10	15	20	30
% H ₃₀	0	16,67	37,61	41,52	50,49	66,5	72,63	81,32	84,59	90,59

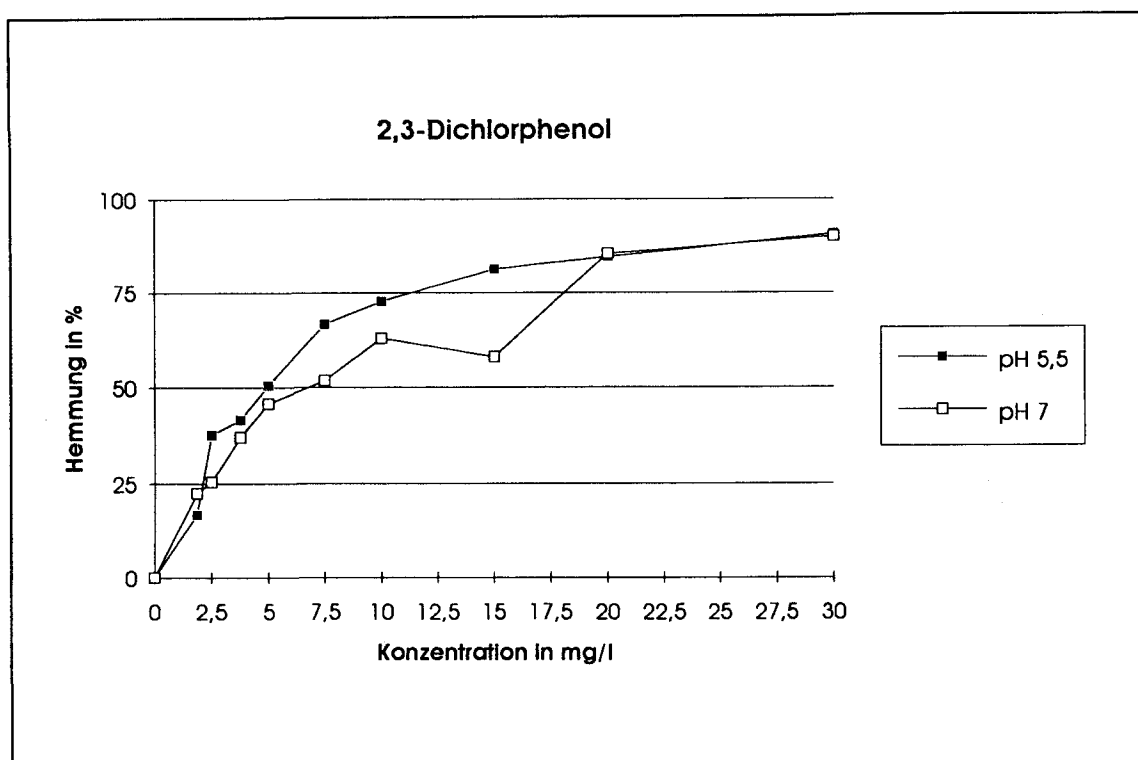


Abb. 8: Liniendiagramm 2,3-Dichlorphenol bei pH 5,5 und 7

Die Hemmung der Leuchtintensität nimmt durch die Verlängerung der Versuchsdauer von 30 auf 60 Minuten nicht zu. Es besteht kein Unterschied in der Hemmung der Leuchtintensität zwischen den Messungen bei pH 5,5 und 7 (Abb. 8). Offensichtlich kommt es im Fall von Dichlorphenol bei diesen beiden pH-Werten zu keinen Fällungs- oder Komplexierungsreaktionen, die die Toxizität beeinflussen.

Die Sensitivität des Leucht bakterienhemmtests bei den pH-Werten 5,5 und 7 ist gleich.

4.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit Einzelsubstanzen

Aus den Liniendiagrammen (Abbildungen 3, 6, 7 und 8) wurden die EC₅₀-Werte graphisch ermittelt. In Tabelle 11 werden diese mit Werten aus der Literatur verglichen.

Tabelle 11: Gegenüberstellung der in dieser Arbeit ermittelten EC₅₀-Werte mit Daten aus der Literatur. Der EC₅₀-Wert gibt die Konzentration eines Schadstoffs an, bei der es zu einer Hemmung der Leuchtintensität der Bakterien um 50 % kommt.

†: Hemmung nach 5 Minuten, *: Hemmung nach 10 Minuten, **: Hemmung nach 30 Minuten

Substanz	EC ₅₀ (mg/l) diese Arbeit	EC ₅₀ (mg/l) Literatur	Autoren
Cu II	14 [†]	8 [†]	BULICH (1980)
Cr VI	63 [†]	70 [†]	BULICH (1980)
2,3-Dichlorphenol	5 ^{**}	4,92 ^{**}	RIBO u. KAISER (1983)
Pentachlorphenol	2,5 ^{**}	0,99 ^{**}	ELNABARAWY et al. (1988)

Die Ergebnisse der Versuche mit Einzelsubstanzen zeigen eine gute Reproduzierbarkeit. Sie stimmen mit Daten aus der Literatur gut überein.

4.3 Versuche mit Industrieabwässern

Die Anwendbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests in der Umweltkontrolle soll am Beispiel von Abwässern aus der Industrie gezeigt werden. Dazu wurden Betriebe aus unterschiedlichen Industriezweigen (Typ A und Typ B) ausgewählt, in denen erhebliche Abwassermengen als Emissionen anfallen. Das Umweltbundesamt Wien führte mit den Proben chemische Analysen durch. Das ökotoxikologische Potential dieser Abwässer soll mit dem Leuchtbakterienhemmtest abgeschätzt und mit den Ergebnissen der Analytik verglichen werden.

4.3.1 Abwässer aus Betrieben des Typs A

Vom Umweltbundesamt Wien wurden zu verschiedenen Zeiten Abwässer aus Betrieben des Typs A gezogen. Die Proben werden im Folgenden mit den Abkürzungen A 1 bis A 6 bezeichnet. Die Daten der chemischen Analysen wurden vom Umweltbundesamt zur Verfügung gestellt. Um eine Veränderung der Proben bis zur Analyse zu verhindern, wurden sie gemäß ÖNORM M 6259 in Glasflaschen mit HNO_3 stabilisiert ($\text{pH} < 2$). Für die Durchführung des Leuchtbakterienhemmtests wurden die stabilisierten Proben mit NaOH wieder auf einen pH-Wert von 7 eingestellt.

In einem Vorversuch wurde kontrolliert, ob die Stabilisierung der Probe mittels HNO_3 auf einen $\text{pH} < 2$ und die nachfolgende Neutralisierung zu einer Veränderung der Toxizität führt. Dazu wurde exemplarisch die so behandelte Abwasserprobe A 5 mit der gleichen Probe im unstabilierten Zustand verglichen. Für den Versuch wurden statt 500 μl Bakteriensuspension (bzw. Probe) jeweils nur 250 μl eingesetzt. Der ursprüngliche pH des unstabilierten Abwassers von 5,4 wurde auf 7 eingestellt. Der Test wurde innerhalb von 24 Stunden nach der Probenahme durchgeführt.

Vorversuch Probe A 5, pH 7

Tabelle 12:

		unstabilisiert		stabilisiert	
G-Wert	Kontr.	10	2	10	2
% H ₅	0	4,08	29,02	4,93	28,55
% H ₃₀	0	8,41	28,55	7,55	33,8

Die Toxizitäten der stabilisierten und der unstabilisierten Probe weichen nur geringfügig voneinander ab. Der Vorversuch zeigt, daß das Abwasser zur Stabilisierung mit HNO₃ auf einen pH-Wert < 2 angesäuert werden kann. Die Toxizität ändert sich dadurch nicht. Der Leuchtbakterienhemmtest muß zumindest in diesem Fall nicht sofort nach der Probennahme durchgeführt werden.

In der Tabelle 13 sind die errechneten Hemmwerte der Proben A 1 bis A 6 dargestellt. Die primären Meßwerte werden nicht gezeigt. Die Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests sind in der Tabelle 14 den Werten der chemischen Analysen gegenübergestellt.

Tabelle 13: Proben A 1 bis A 6, pH 7

Probe	G Wert					
	Kontr.	8	6	4	3	2
A 1 (% H ₃₀)	0	32,21	6,88	18,88	0,7	8,24
A 2 (% H ₃₀)	0	19,68	28,08	40,34	48,36	59,53
A 3 (% H ₃₀)	0	24,07	26,1	31,19	36,57	46,37
A 4 (% H ₃₀)	0	54,05	20,88	52,2	37,62	52,52
A 5 (% H ₃₀)	0	-7,44	16,64	21,56	29,2	37,16
A 6 (% H ₃₀)	0	28,25	24,87	0,35	-3,84	4,07

Tabelle 14: Vergleich der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit der organischen und anorganischen Analytik (Quelle: Dr. Bürkl, Dr. Frank, Umweltbundesamt Wien)

Parameter	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6
Fe (mg/l)	0,8	3,6	0,7	0,9	1,4	0,3
Cr (mg/l)	0,4	4,8	0,8	1,3	0,5	0,08
Al (mg/l)	1	0,5	0,1	0,1	0,2	0,06
Na (mg/l)	1650	3250	2420	3170	3770	2270
K (mg/l)	54	90	130	115	100	57
As (mg/l)	0,0022	0,0025	0,013	<0,001	-	<0,002
CSB (mg/l)	250	820	407	465	521	72
BSB ₅ (mg/l)	73	15	27	11	11	<10
TOC (mg/l)	159	323	142	160	181	51
DOC (mg/l)	65	86	117	133	156	41
% H ₅ (G=2)	11	42	34	31	34	-2
% H ₃₀ (G=2)	8	60	46	53	37	4

4.3.1.1 Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Abwässern aus Betrieben des Typs A

Die Emissionsprobe A 6 führt im Leuchtbakterienhemmtest zu einer geringfügigen Verringerung der Leuchtintensität. (4% Hemmung nach 30 Minuten bei der Verdünnungsstufe G=2, nach KOLLER-KREIMEL u. RODINGER, 1987, eine "unbedeutende Hemmung".) Eine Einleitung dieses Abwassers in einen Vorfluter scheint somit zumindest bezüglich der Bakterientoxizität unbedenklich zu sein. Die durchwegs höher belasteten Proben A 2 bis A 5 zeigen eine deutliche Toxizität. Die stärkste Hemmwirkung zeigt die Probe A 2 (60%), was sich auch in den Ergebnissen der organischen und anorganischen Analyse widerspiegelt (Fe 3,6 mg/l; Cr 4,8 mg/l; CSB 820 mg/l; TOC 323 mg/l). Nach der Klassifizierung der Hemmwerte von KOLLER-KREIMEL u. RODINGER (1987, siehe Tab. 2) ist 60% Hemmung die untere Grenze der "sehr starken Hemmung". Die Proben A 3 und A 4 fallen mit 46% bzw. 53%

Hemmung in die Klasse "starke Hemmung". Die Probe A 5 liegt mit 37% Hemmung im oberen Bereich der Klasse "mäßig starke Hemmung". Bei den Abwässern A 2, A 3, A 4 und A 5 muß jedenfalls mit dem Vorhandensein von Schadstoffen gerechnet werden. Eine direkte Einleitung in einen Vorfluter kann zu ökologischen Beeinträchtigungen führen.

Die Probe A 1 liegt mit 8% Hemmung in der Klasse "unbedeutende Hemmung". Diese Beurteilung deckt sich auch weitgehend mit den Werten der organischen und anorganischen Analyse (Fe 0,8 mg/l, Cr 0,4 mg/l, CSB 250 mg/l, TOC 159 mg/l). Lediglich der Wert für Aluminium (1 mg/l) fällt bei der Probe A 1 höher als bei den anderen Abwässern aus. Offensichtlich wirkt Aluminium unter den gegebenen Versuchsbedingungen auf die Leuchtbakterien weniger toxisch.

4.3.2 Abwässer aus Betrieben des Typs B

Vom Umweltbundesamt Wien wurden Emissionsproben (kodiert mit B 1 u. 2) aus Betrieben des Typs B gezogen. Die Proben wurden vor Ort gemäß der ÖNORM M 6259 in Glasflaschen mit HNO₃ stabilisiert, d.h. auf einen pH-Wert < 2 eingestellt. Die Daten der chemischen Analysen wurden vom Umweltbundesamt (Labor Dr. Bürkl) zur Verfügung gestellt. Für die Durchführung des Leuchtbakterienhemmtests wurden die stabilisierten Proben mit NaOH wieder auf einen pH von 7 eingestellt.

Tabelle 15: Proben B 1 und B 2, pH 7

Probe	G Wert							
	Kontr.	16	12	8	6	4	3	2
B 1 (%H ₃₀)	0	18,83	26,13	33,94	36,8	44,2	50,75	56,11
B 2 (%H ₃₀)	0	20,57	30,78	33,37	40,7	53,26	65,95	72,51

Die Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests werden in der Tabelle 16 den Werten der chemischen Analytik (Quelle: Dr. Bürkl, Umweltbundesamt Wien) gegenübergestellt.

Tabelle 16:

Parameter	B 1	B 2
Ca (µg/l)	21700	41600
Mg (µg/l)	7400	5200
K (µg/l)	44800	22700
Na (µg/l)	469000	347000
B (µg/l)	80	34500
Al (µg/l)	125	12000
Cr (µg/l)	6	< 5
Fe (µg/l)	760	680
Co (µg/l)	< 20	< 20
Cu (µg/l)	41	120
Zn (µg/l)	95	130
Ni (µg/l)	16	11
Hg (µg/l)	<0,5	< 0,5
Cd (µg/l)	0,6	< 0,5
Pb (µg/l)	3,2	5,1
% H ₅ (G=2)	60%	66%
% H ₃₀ (G=2)	56%	73%

4.3.2.1 Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Abwässern aus Betrieben des Typs B

Nach der Einteilung von KOLLER-KREIMEL u. RODINGER (1987, siehe Tabelle 2) liegt die Probe B 1 (56% Hemmung) im oberen Bereich der Klasse "starke Hemmung", die Probe B 2 (73% Hemmung) in der Klasse "sehr starke Hemmung". Die Emissionsprobe B 2 wirkt auf die Leuchtbakterien stärker toxisch als die Probe B 1. Beim Vergleich dieses Ergebnisses mit der Einzelsubstanzanalyse fällt auf, daß die Probe B 2 vor allem mit Aluminium, Kupfer und Blei höher belastet ist als die Probe B 1. Es sind dies Elemente, die ein besonders toxisches Potential besitzen. Das Ergebnis des Leuchtbakterienhemmtests legt nahe, daß bei beiden Abwässern mit dem Vorhandensein von Schadstoffen gerechnet werden muß. Eine direkte Einleitung in einen Vorfluter kann zu ökologischen Beeinträchtigungen führen.

Die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests reicht offensichtlich aus, um die Toxizität der Abwässer, die in den Betrieben der Typen A und B anfallen, nachweisen zu können. Die Hemmwerte korrelieren zudem gut mit Daten aus der chemischen Analytik. Damit scheint der Test geeignet zu sein, das Gefährdungspotential von diesen Industrieabwässern zu beurteilen.

4.4 Immissionsproben aus Fließgewässern

4.4.1 Göllersbach

Der Göllersbach entspringt im nordwestlichen Einzugsgebiet der Leiserberge und fließt durch das Weinviertel, dem nordöstlichen Niederösterreich. Bei Aspersdorf mündet der Gmoosbach ein. Ungefähr 6 km weiter flußabwärts leitet Hollabrunn seine kommunalen Abwässer ein, die zuvor in einer biologischen Kläranlage gereinigt werden. Bei Stockerau mündet der Göllersbach in die Donau. Aus geologischer Sicht gehört das gesamte Gebiet zur Molassezone. Den Untergrund bilden tertiäre Meeresablagerungen. Das Einzugsgebiet des Göllersbachs wird vorwiegend landwirtschaftlich genutzt. Die einzige Ortschaft mit mehr als 2000 Einwohnern ist, abgesehen von Stockerau an der Einmündungsstelle in die Donau, Hollabrunn. Laut Gewässergütekarte, herausgegeben vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Ausgabe 1988/89, hat der Göllersbach die Gewässergüteklasse III. Das ist offensichtlich eine Folge der Landwirtschaft. Andere Fließgewässer in diesem Gebiet (z.B. der Rußbach) besitzen die Gewässergüteklasse II-III.

Am 24. Mai 1993, während einer Niedrigwasserperiode, wurden 26 Proben aus dem Göllersbach und seinen Zuläufen gezogen. Die Wassertemperatur und die Leitfähigkeit wurden vor Ort bestimmt. Der Leuchtbakterienhemmtests und die pH-Wertmessungen wurden bei allen Proben (Zwischenlagerung bei 4°C) innerhalb der folgenden 2 Tage durchgeführt.

Die Proben wurden in konzentrierter Form (Verdünnungsstufe G=1, siehe Tabelle 1) eingesetzt, der Test in Doppelbestimmung (Versuche A und B) durchgeführt. Die einzelnen Hemmwerte einer Doppelbestimmung wurden gemittelt und ihre Abweichung vom gemeinsamen Mittelwert bestimmt. Die Abweichung vom Mittelwert ist ein Maß für die Genauigkeit der Bestimmung der Hemmwerte und besitzt somit eine Kontrollfunktion. Die Berechnung des mittleren Hemmwerts einer Probe wird anhand eines Beispiels demonstriert. Die genauen Meßwerte der anderen Proben werden nicht gezeigt. Die mittleren Hemmwerte aller Proben, pH-Werte, Leitfähigkeiten und Wassertemperaturen vor Ort sind in Tabelle 18 dargestellt.

Beispiel zur Berechnung des mittleren Hemmwerts einer Doppelbestimmung:

Probe 10, Breitenwaida, Puchbach

Tabelle 17:

KF_A : 1,15333 KF_B : 1,13693 $KF_{\text{Mittelwert}}$: 1,14513 Abweichung (+/--%): 0,72

Probe	Kontr. A	10/A	Kontr. B	10/B
I_0	178,7	173,9	168,7	173,1
I_{30}	206,1	180,1	191,8	186,6
$I_{\text{korr}30}$	204,6	199,1	193,2	198,2
% H_{30}	-0,73	9,54	0,72	5,85

% H_{30} Mittelwert : 7,7

Abweichung in %-Punkten : 1,84

KF_A und KF_B werden aus den einzelnen Messungen (Kontr. A und B) errechnet (siehe Kapitel 3.3 Auswertung). Der Mittelwert der Korrekturfaktoren KF_A und KF_B ist der Korrekturfaktor $KF_{\text{Mittelwert}}$. Die einzelnen Korrekturfaktoren weichen um +/-0,72% vom mittleren Korrekturfaktor ab. (Nach DIN 38 412 Teil 34 wird hier eine Abweichung von bis zu 3% toleriert.) Mit dem Korrekturfaktor $KF_{\text{Mittelwert}}$ werden die I_0 -Werte der Testansätze A und B korrigiert, es ergeben sich die $I_{\text{korr}30}$ -Werte. Aus dem $I_{\text{korr}30}$ -Wert und dem I_{30} -Wert ergibt sich (siehe Kapitel 3.3 Auswertung) die Hemmung der Leuchtintensität nach einer Kontaktzeit von 30 Minuten (% H_{30} = 9,54% bzw. 5,85%). Die Hemmwerte der Einzelmessungen (A und B) werden gemittelt (% H_{30} Mittelwert = 7,7%) und davon die Abweichungen der Einzelhemmungen bestimmt (+/-1,84 %-Punkte). Mit den Proben 1-26 wurde analog vorgegangen.

Tabelle 18a: Immissionsproben Göllersbach, 24. Mai 1993

Nr.	Ort	Temp. Celsius	Leitfähigkeit µS/cm	pH	% H-30 Mittelwert	Abweichung vom Mittelw.	Bemerkungen
1	Stockerau Eisenbahnbrücke	14,2	1030	8,25	1,74%	2,28 %-P.	Zeitpunkt der ersten Probennahme: 10:30 h
2	Oberlberndorf Straßenbrücke	13,7	1066	8	-8%	1,49 %-P.	10 m flußab einer kanalartigen Einleitung eines kleinen Baches
3	Sierndorf, Parschenbrunnerbach	15,6	970	8,05	-12,78%	1,17 %-P.	Untergrund stark schlammig
4	Sierndorf, Schloß	13,3	1074	8,01	-7,81%	5,37 %-P.	
5	Obermallebarn, nach Ortschaft	14,3	1056	8,07	-7,34%	3,38 %-P.	Untergrund blockig-sandig, kein Schlamm
6	Göllersdorf, nach Ort- schaft	14,5	1022	8,24	-7,58%	5,02 %-P.	
7	Göllersdorf, nach Ort- schaft	12,4	1163	7,85	-11,23%	2,56 %-P.	verrohrte Einleitung eines kleinen Baches, bei Probenstelle Nr. 6
8	Göllersdorf, Brücke vor Ortschaft	14,9	1006	8,17	-11,27%	0,67 %-P.	
9	Breitenwaida, Brücke in Ortschaft	15,8	1000	8,1	-9,04	0,8 %-P.	
10	Breitenwaida, Puchbach	16,9	1362	7,96	7,70%	1,84 %-P.	
11	Dietersdorf, Straßenbrücke	16,5	1057	7,9	-5,33%	1,13 %-P.	Zeitpunkt der Probennahme: 13:00 h
12	Hollabrunn, vor der Kläranlage	18,1	1033	8,11	-0,91%	2,29 %-P.	Probennahme 2 Meter vor der Einleitung des Kläranlagenablaufs
13	Hollabrunn, Kläranlagenablauf	16,7	1319	7,62	4,62%	2,4 %-P.	

Tabelle 18b: Immissionsproben Göllersbach, 24. Mai 1993

Nr.	Ort	Temp. Celsius	Leitfähigkeit µS/cm	pH	% H-30 Mittelwert	Abweichung vom Mittelw.	Bemerkungen
14	Hollabrunn, 10 m unterh. d. Kläranlage	17,6	1200	7,83	-8,49%	1,16 %-P.	
15	Hollabrunn, Runzenbach	18,8	822	8,84	-12,98%	2,45 %-P.	
16	Hollabrunn, vor Ort- schaft	17,9	1066	8,34	-4,98%	0,15 %-P.	Bach etwas breiter, langsame Fließ- geschwindigkeit
17	Aspersdorf, nach Ort- schaft, Br. bei Feldweg	22,3	907	8,27	-3,19%	0,47 %-P.	
18	Gmoosbach, Brücke bei Feldweg	19	1224	8,1	0,16%	0,35 %-P.	sehr langsame Fließgeschwindigkeit, stark trüb
19	Aspersdorf, vor Ort- schaft	19,6	910	8,27	-26,96%	2,6 %-P.	trüb
20	Kleinstettdorf Straßenbrücke	17,8	849	8,17	-10,68%	3,7 %-P.	
21	Eggendorf, nach Ort- schaft, Straßenbrücke	20,7	798	8,48	-38%	7,2 %-P.	
22	Altenmarkt, nach Ort- schaft	20,2	803	8,14	-28,68%	6,7 %-P.	
23	Altenmarkt, vor Ort- schaft	17,3	822	8,05	-25,55%	7,9 %-P.	
24	Enzersdorf, nach Ort- schaft, Straßenbrücke	19,3	765	7,82	-23,29%	4 %-P.	10 m flußab der Kanaleinleitung (der Probenstelle Nr. 25)
25	Enzersdorf, Kanalein- leitung, Ortsch.-ende	14	1765	7,57	99,59%	0 %-P.	Kanaleinleitung, unangenehmer Geruch, milchig, Zeitpunkt der Probenahme: 15:30 h
26	Enzersdorf, vor Ort- schaft	16,9	749	8,07	-6,89%	2,7 %-P.	Augebiet, viele Kleinlebewesen (Krebse, Larven,...)

4.4.1.1 Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Immissionsproben vom Göllersbach

Bis auf eine Probe (Probe Nr. 25) sind alle Immissionsproben des Göllersbachs im Leuchtbakterienhemmtest nicht toxisch. Zumeist kommt es sogar zu einer Verstärkung der Leuchtreaktion (Hemmung mit negativem Vorzeichen). Dieser Effekt der Steigerung des Stoffwechsels der Leuchtbakterien durch Schadstoffe in niedrigen Konzentrationen konnte schon bei den Versuchen mit Einzelsubstanzen beobachtet werden (z.B. Abb. 3 und Abb. 7). Er kann dadurch erklärt werden, daß viele Schadstoffe auch Spurenelemente (z.B. Kupfer) sind. In geringen Konzentrationen können sie den Stoffwechsel einer Zelle durchaus steigern, in höheren Konzentrationen wirken sie toxisch.

Die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests ist für eine differenzierende Messung im Bereich der Gewässergüteklasse III offensichtlich zu gering. Die Probe Nr. 25, eine Kanaleinleitung im Bereich des Ortschaftsendes von Enzersdorf, führt im Leuchtbakterienhemmtest zu einer fast 100 %igen Reduktion der Lichtemission. Zum Zeitpunkt der Probenahme wurden aus diesem Kanal nur wenige ml Abwasser pro Minute in den Göllersbach eingeleitet. Aufgrund der starken Verdünnung sind zumindest für diesen Zeitpunkt keine gravierenden Auswirkungen auf die Ökologie des Gewässers zu erwarten. Das wird auch durch die Messung der Probe Nr. 24 bestätigt, die 10 Meter unterhalb der Kanaleinleitung gezogen wurde. Bei ihr kommt es sogar zu einer Verstärkung der Leuchtaktivität. Da die Menge dieses Abwassers aber durchaus variabel sein kann, wäre eine Feststellung der Herkunft und gegebenenfalls eine Verhinderung der Einleitung ratsam.

4.4.2 Dürre Liesing und Liesing

Die Dürre Liesing entspringt im östlichsten Ausläufer der nördlichen Kalkalpen, an der Grenze zur Flyschzone. Sie überquert die Wiener Stadtgrenze am südwestlichen Ende des 23. Bezirks und vereinigt sich kurz danach mit der Reichen Liesing zur Liesing. Diese durchquert den 10. Bezirk und mündet schließlich, nachdem sie das Wiener Stadtgebiet wieder verlassen hat, in die Schwechat. Unmittelbar vor der Wiener Stadtgrenze, in Niederösterreich, befindet sich am Lauf der Dürren Liesing ein Kieswerk. Der südliche 10. Bezirk Wiens ist ein

Industriegebiet. An der Stadtgrenze besitzt die Dürre Liesing Gewässergüteklasse IV (Wasserwirtschaftskataster, Detaildarstellung der Gewässergüte für die Fließgewässer Wiens, Erhebungszeitraum 1987-89, herausgegeben 1991), die dann in die Güteklasse III-IV übergeht. Ab Atzgersdorf verschlechtert sich die Gewässergüteklasse wieder auf IV. Ungefähr 1 km nach Inzersdorf, bei Blumental, wird der Ablauf einer Industriekläranlage in die Liesing eingeleitet.

Die Wasserqualität der Liesing wurde im Zeitraum Mai 1985 bis Mai 1986 von LATIF (1990) mit dem Leuchtbakterienhemmtest kontrolliert. Die Proben wurden monatlich gezogen. Probenentnahmestelle war die Liesing bei der Carlberggasse im 23. Bezirk. Diese Proben führten im Leuchtbakterienhemmtest zu einer durchschnittlichen Hemmung von 60,4%. Auffallend dabei war eine große jahreszeitliche Schwankungsbreite der Hemmwerte. Sie reichte von 0,0% bis 98,0%.

In dieser Arbeit wurden mehrere Proben von verschiedenen Stellen der Liesing gezogen. Mit den Ergebnissen des Leuchtbakterienhemmtests soll die Veränderung der Toxizität des Wassers mit dem Lauf der Liesing auf dem Wiener Stadtgebiet dargestellt werden. Am 27. Juni 1993, während einer Niedrigwasserperiode, wurden 9 Proben aus der Dürren Liesing, der Liesing und ihrer Zuläufe gezogen. Die Wassertemperatur, die Leitfähigkeit und der Sauerstoffgehalt wurden vor Ort bestimmt. Die Leuchtbakterienhemmtests und die pH-Wertmessung erfolgten am nächsten Tag (Zwischenlagerung der Proben bei 4°C).

Die Proben wurden in konzentrierter Form eingesetzt (Verdünnungsstufe G=1, siehe Tabelle 1), der Test in Doppelbestimmung durchgeführt. Die Berechnung der Endergebnisse erfolgte wie in Kapitel 4.4.1 Die primären Meßwerte des Leuchtbakterienhemmtests werden nicht gezeigt. Die errechneten mittleren Hemmwerte aller Proben, pH-Werte, Sauerstoffgehalte, Leitfähigkeiten und Wassertemperaturen vor Ort sind in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Immissionsproben Dürre Liesing (Proben 1-3) und Liesing (Proben 4-9), 27. Juni 1993

Nr.	Ort	Temp. Celsius	Sauerstoff mg/l	Sättigung %	Leitfähigkeit µS/cm	pH	% H-30 Mittelwert	Abweichung vom Mittelw.	Bemerkungen
1	Stadtgrenze Wien	14,7	7,5	76%	754	8	10,73%	1,6 %-P.	Zeitpunkt der Probenahme: 12:15 h nach Kieswerk, kiesiger Grund
2	Sonnbergstraße	14,5	6,5	68%	737	8,4	10,09%	2,7 %-P.	
3	Elisenstraße	15,2	6,8	70%	700	8,4	10,72%	3,1 %-P.	
4	Kirchenplatz, unter Autobahnbrücke	17,3	9,6	103%	766	8,7	16,25%	3,2 %-P.	Bachgrund stark veralg hart reguliert
5	Lipingerstraße	16,1	6,4	66%	884	8,3	5,12%	4,1 %-P.	verrohrte Einleitung eines Baches aus dem Süden
6	Blumental	18,1	10,1	114%	785	8,9	8,08%	0,4 %-P.	2 Meter vor der Einleitung des Ablaufs der Industriekläranlage Blumental
7	Kläranlage Blumental, Ablauf	20,2	2,5	27%	1288	7,6	14,61%	0,7 %-P.	
8	Mühlstraße	20	4,8	56%	1182	7,9	11,87%	1,9 %-P.	Wasser dunkelbraun
9	Bahnbrücke, Potten- dorfer Linie	12,7	3,3	32%	2200	8,1	6,61%	2 %-P.	kanalariger Zulauf, aufgestaut, faulig

4.4.2.1 Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Immissionsproben von der Dürren Liesing und der Liesing

Die mittleren Hemmwerte der direkt aus den Fließgewässern entnommenen Proben liegen mit Ausnahme der Probe Nr. 6 im Bereich zwischen 10% und 16%. Dieses Ergebnis stellt nur eine schwache Hemmung dar, obwohl die Liesing im Bereich der Probenahme die Gewässergüteklasse IV besitzt. Nach DIN 38 412 wird als Ergebnis des Leuchtbakterienhemmtests die Verdünnungsstufe der Probe angegeben, bei der eine Hemmung der Leuchtintensität von 20% gerade unterschritten wird. Die gemessenen 10-16% Hemmung bei der Verdünnungsstufe G=1 bedeuten, daß kein Ergebnis nach DIN 38 412 angegeben werden kann. Die Gewässergüteklasse IV kommt in den Fließgewässern Österreichs nur mehr in Ausnahmefällen vor. Somit ist die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests für die Beurteilung von Immissionsproben aus Fließgewässern im allgemeinen zu gering.

Erkennbar ist die Auswirkung der Einleitung des Ablaufs der Kläranlage Blumental, die die Liesing an Durchflußvolumen übertrifft (Probe Nr. 7, 14,61% mittlere Hemmung). Unmittelbar davor führt das Wasser der Liesing zu einer Hemmwirkung der Leuchtintensität von 8,08% (Probe Nr. 6). Einige hundert Meter flußabwärts steigt diese Hemmung auf durchschnittlich 11,87% an (Probe Nr. 8).

Ein Schluß auf die Veränderung der Wasserqualität im Zeitraum von 1985/86 (Messungen von LATIF, 1990) bis 1993 (Messungen im Zuge dieser Arbeit) ist nicht zulässig. Die Messungen von LATIF erstreckten sich über 12 Monate, die Ergebnisse wiesen eine große Streuung, von 0% bis 98% Hemmung, auf. Der Versuch in dieser Arbeit stellt lediglich eine Momentaufnahme zu einem bestimmten Zeitpunkt (27. Juni 1993) dar.

Im Bereich der Fließgewässer eignet sich der Leuchtbakterienhemmtest zur Detektion toxischer Einleitungen. Für die Beurteilung der allgemeinen Gewässergüte ist die Sensitivität dieser Methode jedoch zu gering.

4.5 Deponiesickerwässer

Die Sickerwässer folgender Hausmülldeponien wurden mit dem Leuchtbakterienhemmtest auf ihre Toxizität hin untersucht:

- Tulln, Frühjahr 1993 (Proben Tulln 1 u. Tulln 2)
- Purgstall, Frühjahr 1993
- Breitenau (Hausmüll Versuchsanlage der TU-Wien), 18. August 1993

Die Proben aus Tulln und Purgstall, einschließlich der chemischen Analysedaten, wurden von Dipl. Ing. H. Wenger, Universität für Bodenkultur, zur Verfügung gestellt. Die Sickerwässer aus der Versuchsanlage Breitenau stammen vom Projektleiter des Instituts für Geologie, TU-Wien, Dr. G. Riehl-Herwisch.

Für den Leuchtbakterienhemmtest wurden 500 µl unverdünnte Probe mit 500 µl Bakteriensuspension vermischt. Das entspricht nach DIN 38 412 Teil 34 der Verdünnungsstufe G=2 (siehe Tabelle 1). Der Test wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Die Berechnung der Ergebnisse erfolgte wie im Kapitel 4.4.1.

Tulln, Purgstall

Tabelle 20: Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Sickerwässern von den Deponien Tulln und Purgstall

Probe	Tulln 1	Tulln 2	Purgstall
% H ₃₀ Mittelwert	75,24	74,99	76,93
Abweichung in %-Punkten	0,1	0,5	0,2

Die Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests werden in Tabelle 21 den Werten der chemischen Analytik (WENGER, in Arbeit) gegenübergestellt. Die Schwermetallanalysen wurden mittels AAS (Atomabsorptionsspektrometrie) durchgeführt.

Tabelle 21:

Parameter	Tulln 1	Tulln 2	Purgstall
CSB (mg/l)	3300	3220	3300
BSB-5 (mg/l)	400	-	-
NO ₃ -N (mg/l)	0	0	0
NO ₂ -N (mg/l)	0	0	0
NH ₄ -N (mg/l)	690	550	440
TKN (mg/l)	769	698	500
Chlorid (mg/l)	1898	2220	1731
Leitfähigkeit mS/cm	12,82	13,64	12,83
Pb (µg/l)	20	-	-
Cd (µg/l)	4	-	-
Cr (µg/l)	370	-	-
Cu (µg/l)	30	-	-
Ni (µg/l)	90	-	-
Zn (µg/l)	1500	-	-
As (µg/l)	110	-	-
pH-Wert	7,9	8,4	8,6
% H ₃₀ Mittelwert	75	75	77

Hausmüll Versuchsanlage Breitenau

Die TU-Wien errichtete 1986 in Breitenau eine Versuchsdeponie für Hausmüll. Ziel dieses Großversuchs ist es, das Sickerwasseraufkommen bezüglich verschiedener Deponieabdeckungen und verschiedener Basisdichtungen zu untersuchen. Die Anlage besteht aus drei getrennten Feldern: Feld I besitzt als Oberflächenabdeckung ein Schluff/Ton/Kies-Gemisch mit einer Erdauflage. An der Oberfläche des Feldes II befindet sich über einer Kiesabdeckung eine Auflage aus Rohkompost und eine Erdschichte. Die Basis sowohl von

Feld I als auch von Feld II besteht aus einer Schluff/Ton/Kies-Dichtung. Sickerwasser wird oberhalb (Überlauf) und unterhalb dieser Dichtung (Durchlauf) gesammelt. Mit dem Feld III wird die Situation einer ungeordneten Deponie ohne besondere Oberflächengestaltung simuliert. An der Oberfläche befindet sich eine 70 cm starke Schicht aus Rohkompost. Die Basisdichtung aus Schluff/Ton/Kies fehlt. Das Sickerwasser, das bei einer ungeordneten Deponie ins Grundwasser gelangen würde, wird als Überlauf III gesammelt. Für den Versuch wurden die pH-Werte der Proben Überlauf I (7,4), Überlauf II (7,5), Überlauf III (7,6), Durchlauf I (6,8) und Durchlauf II (6,5) auf 7 eingestellt.

Tabelle 22: Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Sickerwässern von der Deponie Breitenau

Probe	Überlauf Feld I	Überlauf Feld II	Überlauf Feld III	Durchlauf Feld I	Durchlauf Feld II
% H ₃₀ Mittelwert	56,68	79,19	90,75	3,18	50,44
Abweichung in %-Punkten	0,2	0	0,2	1	0,9

4.5.1 Bewertung der Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit Deponiesickerwässern

Die Hemmwerte der Sickerwasserproben aus den Hausmüldeponien in Tulln und Purgstall liegen im Bereich zwischen 75% und 77% (Verdünnungsstufe G=2). Nach der Klassifizierung von KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987, siehe Tabelle 2) stellen diese Werte eine "sehr starke Hemmung" dar. Ein Eindringen dieser Sickerwässer in das Grundwasser ist aus ökotoxikologischer Sicht jedenfalls zu vermeiden, da nach Aussage des Leuchtbakterienhemmtests mit hoher Wahrscheinlichkeit toxische Stoffe vorliegen. Die CSB-Belastungen der Deponiesickerwässer aus Tulln und Purgstall (3220 und 3300 mg/l) betragen ein Mehrfaches des am stärksten belasteten Abwassers der Betriebe vom Typ A (A 2, CSB = 820 mg/l, siehe Kapitel 4.3.1). Dieser Unterschied zeigt sich auch in einer höheren Toxizität der Deponiesickerwässer im Leuchtbakterienhemmtest. Vergleicht man die Schwermetallanalysen des Deponiesickerwassers Tulln 1 mit denen der Abwässer B 1 und B 2 aus den Betrieben des Typs B (siehe Kapitel 4.3.2), so sind erstere deutlich höher. Der

Bleigehalt des Deponiesickerwassers ist gegenüber dem Abwasser B 2 4 mal, der Cadmiumgehalt mindestens 8 mal, der Chromgehalt mindestens 75 mal, der Nickelgehalt 8 mal und der Zinkgehalt 11 mal so hoch. Lediglich der Kupfergehalt des Deponiesickerwassers ist geringer als der des Abwassers B 2. Er beträgt ein Viertel. Bemerkenswert ist, daß im Leuchtbakterienhemmtest beide Proben, Tulln 1 und Abwasser B 2, fast die gleichen Toxizitäten aufweisen (75% bzw. 73% Hemmung). Die nach den Werten der Schwermetallanalyse unerwartet hohe Toxizität des Abwassers B 2 ist möglicherweise auf andere nicht untersuchte Parameter zurückzuführen. Eine weitere chemische Analyse der Probe B 2 könnte hier Klarheit verschaffen.

Die Sickerwässer der Hausmüll Versuchsanlage Breitenau (Überläufe I, II und III) fallen nach KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987) in drei unterschiedliche Toxizitätsklassen: Der Überlauf des Feldes I weist mit 57% eine "starke Hemmung", der des Feldes II mit 79% eine "sehr starke Hemmung" auf. Der Überlauf des Feldes III führt im Leuchtbakterienhemmtest mit 91% Hemmung zu einer "Totalschädigung". Insbesondere das Ergebnis des Feldes III, das eine Simulation einer ungeordneten Deponie ohne besondere Oberflächengestaltung darstellt, weist auf die Gefahr der Verseuchung des Grundwassers durch Sickerwässer dieser Art hin. Die Ergebnisse des Leuchtbakterienhemmtests mit den Durchläufen der Felder I und II, der Sickerwässer, die durch die Basisdichtung (Schluff/Ton/Kies) durchtreten, weichen deutlich voneinander ab. Während der Durchlauf des Feldes I mit 3% nur zu einer "unbedeutenden Hemmung" führt, liegt der Durchlauf des Feldes II mit 50% in der Klasse "starke Hemmung". Die Gefährdung des Grundwassers aufgrund des Durchlaufs wird dadurch relativiert, daß er mengenmäßig deutlich unter dem Überlauf liegt, d.h. in geringeren absoluten Mengen anfällt. (Im Jahr 1991 betrug der Überlauf des Feldes II 721 m³ während als Durchlauf in der selben Zeitspanne 25,8 m³ durch die Basisdichtung durchtraten (RIEHL-HERWISCH et al., 1992)). Ob die unterschiedliche Toxizität der Durchläufe der Felder I und II tatsächlich auf die unterschiedliche Deponieabdeckung und somit auf den Wassereintritt in den Deponiekörper von der Oberfläche her zurückzuführen ist, wäre in weiteren Untersuchungen zu klären.

Die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests reicht für die Erfassung von toxischen Deponiesickerwässern aus. Er eignet sich somit für die Beurteilung des ökotoxikologischen Gefährdungspotentials derartiger Abwässer für das Grundwasser.

5 Schlußfolgerungen: Einsatzmöglichkeiten des Leuchtbakterienhemmtests in der Umweltkontrolle

In dieser Arbeit wurden Abwässer unterschiedlicher Herkunft mit dem Leuchtbakterienhemmtest untersucht. Die Hemmwirkung der Schadstoffe auf die bakterielle Lichtemission soll Rückschlüsse auf die zu erwartende Gefährdung der Umwelt durch toxische Effekte ermöglichen.

5.1 Beurteilung der Toxizität von Einzelsubstanzen

Das mit Leuchtbakterien erfaßbare Chemikalienspektrum ist sehr umfangreich. Entsprechende Datenindices, die die toxischen Konzentrationen von über 1300 verschiedenen Substanzen enthalten, sind bereits veröffentlicht (KAISER u. PALABRICA, 1991). In dieser Arbeit wurde die Einsetzbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests für die Beurteilung der Toxizität von Einzelsubstanzen exemplarisch mit folgenden Chemikalien überprüft: Kaliumdichromat, Kupfersulfat, 2,3-Dichlorphenol und Pentachlorphenol. Es konnten eindeutig Toxizitäten für die Leuchtbakterien festgestellt werden. Die Ergebnisse waren reproduzierbar und zeigten eine gute Übereinstimmung mit den Daten aus der Literatur (siehe Tabelle 11).

5.2 Erfassung synergistischer oder antagonistischer Effekte

Nach BOIS et al. (1986) kommt es zwischen zwei oder mehreren toxischen Substanzen zu Interaktionen synergistischer oder antagonistischer Natur, wenn der Effekt der einen Substanz von der Anwesenheit einer anderen Substanz beeinflusst wird. Ein synergistischer Effekt liegt vor, wenn die gemeinsame Wirkung zweier oder mehrerer Substanzen größer ist als die Summe ihrer Einzelwirkungen. Heben sich die Effekte bei der gemeinsamen Einwirkung jedoch zumindest zum Teil auf, so spricht man von einem Antagonismus.

Gerade in der Umwelttoxikologie ist die Erforschung der Interaktionen zwischen verschiedenen Einzelsubstanzen besonders wichtig. In vielen Fällen kommen Schadstoffe als

komplexe Gemische verschiedenster Komponenten vor. Aber auch die Interaktionen zwischen Schadstoffen und den an einem Standort natürlich vorkommenden Substanzen müssen beachtet werden. BENSON u. LONG (1991) weisen in diesem Zusammenhang auf das Vorkommen von Huminsäuren in allen Oberflächengewässern hin. Der Literatur wurde entnommen, daß bezüglich der Lichtemission von Leuchtbakterien synergistische bzw. antagonistische Effekte durch die kombinierte Einwirkung von Huminsäuren und verschiedenen Insektiziden nachgewiesen worden sind. Folgende Autoren haben Untersuchungen zu den Effekten zweier oder mehrerer toxischer Substanzen auf Leuchtbakterien durchgeführt:

Tabelle 23:

Substanzen	Autoren
Chrom, Selen, Aluminium, Blei	QURESHI et al. (1984)
Nickel, Kobalt, Cadmium, Blei, Zink	SELLERS u. RAM (1984)
Zink, Pentachlorphenol	BOIS et al. (1986)
Selen, Zigarettenrauch	YATES et al. (1986)
Kupfer, Pestizide (Dithiocarbamat)	VASSEUR et al. (1988)
Kupfer, Atrazin	ROBERTS et al. (1990)
Huminsäuren, Insektizide (Organophosphate, Carbamate)	BENSON u. LONG (1991)

Mit der chemische Analytik ermittelt man lediglich einzelne Parameter. Interaktionen synergistischer oder antagonistischer Natur werden dabei nicht berücksichtigt. Diese für eine ökotoxikologische Beurteilung einer komplexen Schadstoffprobe wesentlichen Effekte können nur durch Biotests erfaßt werden.

5.3 Umfassende Umweltkontrolle

Gesetzliche Bestimmungen zum Schutz von Mensch und Umwelt sind nur dann wirksam, wenn sie auch kontrolliert werden. Aus der steigenden Anzahl entsprechender Gesetze und Verordnungen ergibt sich ein Bedarf an einfachen und rasch durchführbaren Überwachungsmethoden. Die Einsetzbarkeit des Leuchtbakterienhemmtests für diesen Zweck wurde an Hand komplexer Emissions- und Immissionsproben getestet.

Die Abwässer aus Betrieben der Typen A und B führten nach der Klassifizierung von KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987, siehe Tabelle 1) zum Teil zu "sehr starken Hemmungen". Proben aus einem Betrieb, die in unterschiedlichen Intervallen im Laufe eines Jahres entnommen wurden, zeigten starke Schwankungen in ihrer Toxizität für die Leuchtbakterien. Die Abwasserreinigungsmaßnahmen solcher Betriebe könnten mit Hilfe des Leuchtbakterienhemmtests als Kontrollinstrument schrittweise verbessert werden, ohne daß laufend aufwendige chemische Analysen notwendig sind.

Sickerwasserproben aus den untersuchten Hausmülldeponien führten durchwegs zu "sehr starken Hemmungen". Eine Probe war nach KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987) sogar "totalschädigend". Auch bei diesen Abwasserproben kann der Leuchtbakterienhemmtest als Kontrollmaßnahme, z.B. als Warnsystem vor fehlerhaften Deponiedichtungen, in zuverlässiger Weise eingesetzt werden.

Weiters wurde versucht, den Grad der Belastung von Fließgewässern mit dem Leuchtbakterienhemmtest zu bestimmen. Dabei konnten nur im Bereich der am stärksten belasteten Gewässergüteklasse IV geringe Hemmungen festgestellt werden. Für Messungen in weniger stark verschmutzten Gewässern ist die Sensitivität des Leuchtbakterienhemmtests zu gering. Eine Kanaleinleitung in einen Bach war für die Leuchtbakterien extrem toxisch. Derartige Emissionen können mit dem Leuchtbakterienhemmtest auch aus einer großen Anzahl von Proben rasch und zuverlässig herausgefunden werden.

Nach entsprechender Extraktion können auch toxische Komponenten in Böden oder Sedimenten festgestellt werden (KWAN u. DUTKA, 1984; DUTKA u. GORRIE, 1989; DUTKA et al., 1991). Weiters wird der Leuchtbakterienhemmtest in der Literatur als Testmethode für die Detektion gasförmiger Schadstoffe vorgeschlagen (SERAT et al., 1965; SIE et al., 1966).

5.4 Grenzen des Leuchtbakterienhemmtests

Biotests wie der Leuchtbakterienhemmtest ermöglichen eine integrale Erfassung der Schadwirkung von in Gewässern gelösten Stoffen einschließlich ihrer synergistischen und antagonistischen Wirkungen. Die Einzelbestimmung der vorhandenen Schadstoffe bleibt der chemischen Analytik vorbehalten. Die Konzentration einer Chemikalie, bei der gerade noch eine Hemmung der Leuchtreaktion eindeutig festgestellt werden kann, ist ein limitierender Faktor für den Einsatz des Leuchtbakterienhemmtests. Die Sensitivität liegt bei vielen

Substanzen im ppm-Bereich (mg/l). In der Tabelle 24 sind als Beispiele einige EC₅₀-Werte aus der Literatur zusammengefaßt. Der EC₅₀-Wert gibt die Konzentration eines Schadstoffs an, bei der es zu einer Hemmung der Leuchtintensität der Bakterien um 50 % kommt.

Tabelle 24: Einige Beispiele aus der Literatur für EC₅₀-Werte.
 †: Hemmung nach 5 Minuten, ††: Hemmung nach 30 Minuten

Substanz	EC ₅₀ (mg/l) Literatur	Autor
Formaldehyd	8,46 [†]	ELNABARAWY et al. (1988)
2,3-Dichlorphenol	4,92 [†]	RIBO u. KAISER (1983)
Pentachlorphenol	0,99 [†]	ELNABARAWY et al. (1988)
Cu II	8 [†]	BULICH (1980)
Cr VI	70 [†]	BULICH (1980)
Ammoniak	2 [†]	BULICH et al. (1981)

Viele analytische Fragestellungen, z.B. die Messung von Herbiziden im Grundwasser, bewegen sich im ppb-Bereich (µg/l). Hier kann der Leuchtbakterienhemmtest keine Ergänzung zum bestehenden Inventarium der chemischen Analytik sein. Der Einsatzbereich beschränkt sich vielmehr auf den Bereich belasteter Abwässer. Diese sind jedoch i.d.R. ein komplexes Gemisch vieler Schadstoffe. Die Konzentrationen der Einzelsubstanzen können zwar unter der Nachweisgrenze liegen, die Summe ihrer schädigenden Wirkungen kann aber möglicherweise im Leuchtbakterienhemmtest noch immer erfaßt werden.

Der Einsatz eines einzigen Biotests alleine bringt die Gefahr mit sich, daß bestimmte sehr spezifisch wirkende Substanzen nicht erfaßt werden. Ein Beispiel dafür ist Atrazin: Dieses Herbizid hemmt den photosynthetischen Elektronentransfer (JURSINIC u. STEMLER, 1983). Auf Leuchtbakterien (*P. phosphoreum*) oder Protozoen (*Colpidium campylum*), die ja den Stoffwechselweg der Photosynthese nicht kennen, wirkt Atrazin bis zu einer Konzentration von 10 mg/l nicht toxisch. Allerdings reicht eine Konzentration von 0,095 mg/l Atrazin aus, um das Wachstum der Alge *Selenastrum capricornutum* um 50% zu hemmen (ROBERTS et al., 1990). Für eine umfassende umwelttoxikologische Kontrolle ist somit die Anwendung mehrerer Biotests, bei denen Organismen aus verschiedenen systematischen Gruppen zum Einsatz kommen, notwendig.

5.5 Vorteile des Leuchtbakterienhemmtests gegenüber anderen Analyseverfahren

- Die Verwendung von Bakterien im Testverfahren ermöglicht den Einsatz einer sehr großen Anzahl von Organismen (ca. 10^6 Zellen pro ml, DIN 38 412), deren physiologischer Zustand leicht synchronisierbar ist. Bei der Verwendung einer größeren Anzahl von höheren Organismen ist es schwierig, für alle exakt gleiche Versuchsbedingungen herbeizuführen, was die Interpretation der Versuchsergebnisse erschwert.
- Im Vergleich zu verschiedenen Tierversuchen erweist sich der Leuchtbakterienhemmtest als eine überdurchschnittlich sensitive Methode, dessen Ergebnisse eine gute Korrelation mit den anderen Biotests aufweist.
- Beim Leuchtbakterienhemmtest handelt es sich um ein integrales Meßverfahren. D.h. es wird nicht nach einem bestimmten Schadstoff gesucht, sondern die Summe aller in einer Probe vorhandenen toxisch wirkenden Substanzen wird erfaßt.
- Die Leuchtbakterien reagieren auf eine große Zahl von unterschiedlichen organischen und anorganischen Schadstoffen mit einer Reduktion der bakteriellen Lichtemission. Das für die ökotoxikologische Beurteilung wichtige erfaßbare Chemikalienspektrum ist somit sehr breit.
- Die Toxizitätsbestimmung mit Leuchtbakterien ist rasch durchführbar, einfach und billig. Der Handel bietet Leuchtbakterien in gefriergetrockneter Form an. Damit können routinemäßige Toxizitätsbestimmungen in größerer Zahl auch von Labors durchgeführt werden, die für mikrobiologische Arbeiten nicht ausgerüstet sind.
- Der Leuchtbakterienhemmtest ermöglicht die Vorselektion einer großen Zahl von Proben. Der zeitlich aufwendigen chemischen Analytik müssen dann nur mehr jene Proben unterzogen werden, die sich in der Vorselektion als toxisch erwiesen haben.

6 Literatur

- Baumann, P., Baumann, L., Woolkalins, M. J., and Bank, S. S. (1983). Evolutionary relationships in *Vibrio* and *Photobacterium*: a basis for a natural classification. *Annual Review of Microbiology* 37, 369.
- Bedienungsanleitung der Firma "Dr. Lange" für das LUMISTox - Lumineszenzmeßgerät (1991).
- Benson, W. H., and Long, S. F. (1991). Evaluation of humic-pesticide interactions on the acute toxicity of selected Organophosphate and Carbamate insecticides. *Ecotoxicology and Env. Safety* 21, 301-307.
- Bois, F., Vaillant, M., and Vasseur, P. (1986). Multiple regression analysis of toxic interactions: Application to the Microtox test and general comments. *B. Env. Contam. and Tox.* 36, 707-714.
- Bulich, A. A. (1979). Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. in: L.L. MARKING, R.A. KIMERLE: *Aquatic toxicology*, ASTM STP, American Society for Testing and Materials 667, 98-106.
- Bulich, A. A. (1980). Utility of the Microtox luminescent bacterial assay for the rapid assessment of aquatic pollution, *Proceedings of 2nd interagency workshop on in-situ water-quality sensing: Biological sensors*, workshop paper
- Bulich, A. A., Green, M. W., and Isenberg, D. L. (1981). Reliability of the bacterial luminescence assay for determination of the toxicity of pure compounds and complex effluents. *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fourth Conference* - D.R. Branson and K.L. Dickson (eds.) ASTM STP 737, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 338-347.
- Bulich, A. A., Tung, K., and Scheibner, G. (1990). The luminescent bacteria toxicity test: Its potential as an in Vitro alternative. *J. of Bioluminescence and Chemiluminescence* 5, 71-77.
- Chang, J. C., Taylor, P. B., and Leach, F. R. (1981). Use of the Microtox assay system for environmental samples. *B. Env. Contam. and Tox.* 26, 150-156.

- Coleman, R. N., and Qureshi, A. A. (1985). Microtox: Reserved and Spirillum volutans tests for assessing toxicity of environmental samples. *B. Env. Contam. and Tox.* 35, 443-451.
- Cronin, M. T. D. (1991). QSAR studies of comparative toxicity in aquatic organisms. *Science of the total Env.* 109-110, 431-439.
- DIN 38 412 Teil 34,
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von *Photobacterium phosphoreum* - Leuchtbakterien-Abwassertest mit Leuchtbakterien (L 34).
- Dobbs, A. J., French, P., Gunn, A. M., Hunt, D. T. E., and Winnard, D. A. (undated). Aluminium Speciation and Toxicity in Upland Waters. *Environmental chemistry and toxicology of Aluminium* Ed. Timothy E. Lewis, 209-228.
- Dutka, B. J., and Gorrie, J. F. (1989). Assessment of toxicant activity in sediments by the ECHA biocide monitor. *Environ. Pollut.* 57, 1-7.
- Dutka, B. J., Kwan, K. K., Rao, S. S., Jurkovic, A., and Liu, D. (1991). River evaluation using ecotoxicological and microbiological procedures. *Env. Monitoring Assessment* 16, 287-313.
- Elnabarawy, M. T., Robideau, R. R., and Beach, S. A. (1988). Comparison of the rapid toxicity test procedures: Microtox, Polytox and activated sludge respiration inhibition. *Tox. Assess.* 3, 361-370.
- Gewässergütekarte (1988/89). Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft.
- Gupta, G., and Kelly, P. (1992). Poultry litter toxicity comparison from various bioassays. *J. Env. Science and Health-Env. Science and Engineering* 27, 1083-1093.
- Gupta, G., and Krishnamurthy, S. (1991). Changes in poultry litter toxicity with simulated acid rain. *B. Env. Contam. and Tox.* 46, 167-172.
- Jursinic, P., and Stemler, A. (1983). Changes in C-14-Atrazine binding associated with the oxidation-reduction state of the secondary quinone acceptor of photosystem II. *Pl. Physiol.* 73, 703-708.
- Kaiser, K. L., and Palabrica, V. S. (1991). *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. *Water Pollution Research Journal of Canada* 26, 361-431.

Kanne, R. (1988). Praktische Erfahrungen mit dem Leuchtbakterientest. Gewässer Wasser Abwasser 109, 491-504.

Kavka, G. (1989). Bakteriologische Tests zur Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen, komplexen Abwässern und schadstoffhaltigem Oberflächenwasser. Wasser und Abwasser 33, 179-214.

Kennedy, E. D. (1980). Second interagency workshop on In-Situ water-quality sensing: Biological sensors.

Koller-Kreimel, V., und Rodinger, W. (1987). Aquatische Toxizität - ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung von Substanzen und Abwässern (Emissionen) sowie zur Feststellung der toxischen Beeinträchtigung von Oberflächengewässern (Immissionen). Wasser und Abwasser 31, 413-432.

Kwan, K. K., and Dutka, B. J. (1984). Microbiological studies of lake St. Louis sediments. Research Report, National Water Research Institute, Burlington, Ontario, Canada.

Latif, M. (1990). Toxizitätstests mit Organismen aller trophischen Niveaus zur Erfassung von Schadstoffen in Fließgewässern und Vergleich der Empfindlichkeit der Testorganismen. Dissertation, Wien.

ÖNORM M 6259

Popp, W. (1988). Testverfahren mit Bakterien zur Bestimmung der Toxizität von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser. Münchner Beiträge 42, 95-111.

Qureshi, A. A., Coleman, R. N., and Paran, J. H. (1984). Evaluation and refinement of the Microtox test for use in toxicity screening. In: Toxicity screening procedures using bacterial system, Toxicity series, Dutka B.J., Liu D., Marcel Dekker-New York 1.

Ribo, J. M., and Kaiser, K. L. E. (1983). Effects of selected chemicals to photoluminescent bacteria and their correlations with acute and sublethal effects on other organisms. Chemosphere 12, 1421-1442.

Ribo, J. M., and Kaiser, K. L. E. (1987). Photobacterium phosphoreum - toxicity bioassay - I. Test procedures and applications. Tox. Assess. 2, 305-323.

- Riehl-Herwisch, G., Lechner, P., Binner, E., Carniel, P., Hackenberg, M., Lahner, Th., Vitek, E., Walter, J. (1992). Hausmüll Versuchsanlage Breitenau, Abschlußbericht (Rohfassung) zum Beobachtungszeitraum 1986-1991.
- Roberts, S., Vasseur, P., and Dive, D. (1990). Combined effects between Atrazine, Copper and pH, on target and non target species. *Water research* 24, 485-491.
- Sellers, K. E., and Ram, N. M. (1984). Toxicity assessment of binary metal mixtures using bioluminous bacteria. Research Report, Department of Civil Engineering, University of Massachusetts, Amherst Mass.
- Serat, W. F., Budinger, F. E., and Mueller, P. K. (1965). Evaluation of biological effects of air pollutants by use of luminescent bacteria. *J. Bacteriol.* 90, 832.
- Sie, E. H. C., Thanos, A., and Jordon, A. (1966). Application of luminescence in aerospace industry. In: *Bioluminescence in progress*-Johnson F.H.-Haneda Y.-Princeton University Press-N.J. 195.
- Somasundram, L., Coats, J. R., Racke, K. D., and Stahr, H. M. (1990). Application of Microtox system to assess the toxicity of pesticides and their hydrolysis metabolites. *B. Env. Contam. and Tox.* 44, 254-259.
- Vasseur, P., Dive, D., Sokar, Z., and Bonnemain, H. (1988). Interactions between copper and some carbamates used in phytosanitary treatments. *Chemosphere* 17, 767-782.
- Wasserwirtschaftskataster, Detaildarstellung der Gewässergüte für die Fließgewässer Wiens, (1991). Herausgegeben vom Bundesministerium für Land- und Fortswirtschaft.
- Wenger, H. (in Arbeit). Dissertation an der Universität für Bodenkultur, Institut für angewandte Mikrobiologie.
- Yates, I. E., Chortyk, D. T., and Lanier, J. L. (1986). Selenium mediated reduction of the toxicity expression of cigarette smoke condensate in *Photobacterium phosphoreum*. *B. Env. Contam. and Tox.* 36, 278-285.