

## ÖKOTOXIKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Muna LATIF

### 1. EINLEITUNG

Die zunehmende Industrialisierung der Welt und der gleichzeitig gestiegene Bedarf an Chemikalien führten zu wachsenden ökologischen und toxikologischen Problemen durch die Abgabe von Schadstoffen in die Umwelt. Zur Zeit sind ca. zehn Millionen chemische Substanzen wissenschaftlich registriert, ein Prozent davon, d.h. 100.000 werden gehandelt, aber nur von einem sehr geringen Teil sind die ökotoxikologischen bzw. toxikologischen Risiken durch internationale und nationale Behörden geprüft. Die meisten der Substanzen sind xenobiotisch und umweltschädigend .

Ob nun die Abgabe der Schadstoffe direkt in das Wasser, die Luft oder auf das Land erfolgt , erreichen letztendlich viele Stoffe durch Niederschläge, Oberflächenabfluß und Versickerung die Gewässer. Viele werden in der Nahrungskette akkumuliert und sind außerdem potentielle Cancerogene.

Die Schadwirkung der Substanzen sollte kontrolliert werden, um die Gefährdung von Umwelt und Menschen zu minimieren. Dabei sind punktuelle Quellen der Wasserverunreinigung (industrielle Abwassereinleitungen und Abwasserreinigungsanlagen) im allgemeinen leichter zu kontrollieren als nicht punktuelle oder diffuse Verunreinigungsquellen(Ackerland, Wälder, Städte, Verkehrswege oder Auswaschungen aus der Luft).

Um die aquatischen Lebewesen zu schützen und eine gute Wasserqualität zu erhalten, wurde eine Reihe von Methoden entwickelt, die Bioindikatoren verwenden. Diese biologischen Testverfahren sind grundlegende Instrumente für den Nachweis und die Beurteilung von Wasserverunreinigungen geworden. Sie beschäftigen sich mit der Wechselwirkung zwischen Lebewesen und chemischen Stoffen(OECD,1986). Die Ökotoxikologie befaßt sich mit der Untersuchung der Auswirkungen von Schadstoffen auf die Umwelt und ihre Lebewesen. Sie ist eine neue Wissenschaft, die sich in einem dauernden Wandel befindet und immer auf der Suche nach der besten Abschätzung von potentiellen, sowie bestehenden Gefährdungen durch Schadstoffe ist. Die aquatische Toxikologie schließlich ist der Teil der Ökotoxikologie, der sich mit aquatischen Ökosystemen beschäftigt. Sie hat in den letzten Jahrzehnten weltweit eine zunehmende Beachtung gefunden( PETERS und DE BERNARDI,1987 ).

Die Notwendigkeit von Toxizitätstests ist dadurch gegeben, daß die potentielle Wirkung von Schadstoffen auf Lebewesen nicht hinreichend auf der Basis von chemischen und physikalischen Parametern allein bestimmt werden kann. Außerdem lassen chemische Untersuchungen keine Erfassung von synergistischen, additiven oder antagonistischen Effekten von Schadstoffen im Gewässer zu. Schließlich ist es möglich mittels Toxizitätstests sogar die Wirkung der Kombinationen von Verbindungen, die nicht mit chemischen Methoden identifiziert oder gemessen werden können, zu bestimmen.

Ökotoxikologische Verfahren werden sowohl im Labor als auch im Freiland durchgeführt. Die Laborexperimente erfolgen unter festgelegten Standardbedingungen und ihre Testergebnisse sind reproduzierbar. Sie stellen einen Hinweis auf das Gefährdungspotential eines Stoffes dar, lassen jedoch keinen direkten Rückschluß auf die tatsächliche Wirkung des Schadstoffe im aquatischen Ökosystem zu. Die Freilandtests werden unter natürlichen Umweltbedingungen durchgeführt. Die dabei erhaltenen Testergebnisse geben Auskunft über die tatsächliche Wirkung der geprüften Schadstoffe an einem bestimmten Ort, unter den während der Testzeit herrschenden variablen Umwelteinflüssen. Das Testergebnis gilt nur für diesen Standort und nur für den Untersuchungszeitpunkt. Es ist oft nicht reproduzierbar.

Verschiedene äußere und innere Faktoren haben Einfluß auf die Giftigkeit der Schadstoffe, sowie auf die Reaktion der Testorganismen. Bei den äußeren Faktoren unterscheidet man zwischen abiotischen (Temperatur, Licht, Medium, pH) und biotischen (Competition, Predation, Parasitismus). Als innere Faktoren werden Gesundheit, Alter, Geschlecht, Gewicht, Vorbelastung, Immunität und Resistenz bezeichnet (NUSCH, 1986).

In Labortests werden als Bioindikatoren zahlreiche unterschiedliche Organismen aus dem Tier- und Pflanzenreich verwendet, und zwar Bakterien, Algen, Wasserpflanzen, höhere Pflanzen, Proto- und Metazoa, Makroinvertebraten, Fische und Amphibien. Da die Empfindlichkeit der verschiedenen Testorganismen substanzspezifisch ist, werden die Toxizitätstests mit mehreren unterschiedlichen Indikatororganismen durchgeführt. Die Bestimmung der Reaktion der Testorganismen kann auf dem Niveau der Moleküle über Zellen, Gewebe, Organe und Individuen bis hin zu Populationen und Biozöosen erfolgen.

Am häufigsten werden Reaktionskriterien auf dem Niveau der Individuen (organismisches Niveau) verwendet, z.B. physiologische Störungen, Wachstumshemmung, Immobilisierung und Mortalität. Auf dem suborganismischen Niveau werden Untersuchungen von biochemischen, histologischen und histochemischen Reaktionen durchgeführt. Außerdem finden Reaktionen von Biozöosen Verwendung. Die Variabilität und

die Kosten auf dieser Stufe sind jedoch höher als jene auf dem suborganismischen und organismischen Niveau.

Die Wirkung eines Schadstoffes auf einen Testorganismus hängt gewöhnlich von seiner Konzentration und der Expositionszeit ab. Sie kann sich in einem Bereich von keinem toxischen Effekt bis hin zum Tod der Organismen bewegen (siehe Abb. 1). Zum Nachweis einer akuten Wirkung genügt oft ein statischer Kurzzeit-Test (Testdauer bis 96h), während zur quantitativen Abschätzung einer chronischen oder subletalen Schädigung meistens Langzeitversuche (mindestens 1/10 der Lebensdauer) notwendig sind. Beim statischen Testsystem verbleiben die Testorganismen über die gesamte Versuchszeit im vorgegebenen Medium, während beim dynamischen Test das Medium kontinuierlich oder diskontinuierlich erneuert wird.

Die Auswahl des Testverfahrens richtet sich schließlich sowohl nach dem Ziel der Untersuchung bzw. dem Anwendungsgebiet (Screening oder Monitoring, Feststellung akuter oder chronischer Toxizität, Nachweis oder Quantifizierung einer Wirkung), als auch nach dem Aufwand (zeitlich, apparativ, personell und finanziell). Um das toxische Gefährdungspotential einer Substanz oder eines Substanzgemisches auf das aquatische Ökosystem abzuschätzen wurde von der OECD (1986) u.a. vorgeschlagen, die toxische Wirkung auf aquatische Organismen aus allen trophischen Niveaus zu testen. Neben Toxizitätstests sollten jedoch Tests zur Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit und der Bioakkumulierbarkeit, sowie physikochemische Analysen durchgeführt werden.

## 2. STANDARDISIERTE TESTMETHODEN

Aus zahlreichen biologischen Testverfahren mit Testorganismen der aquatischen Nahrungskette- Destruenten, Produzenten und Konsumenten- wurden von nationalen (ÖNORM, DIN, USA EPA) und internationalen Organisationen (OECD, ISO, ASTM, EG) bestimmte Toxizitätstests ausgewählt und standardisiert, um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu erhalten.

### 2.1. Toxizitätstests mit Bakterien

Als wichtige Vertreter der Destruenten sind die Bakterien zu nennen. Sie spielen eine wesentliche Rolle im Stoffkreislauf, speziell für die Selbstreinigung der Gewässer und für die Abbauleistung biologischer Kläranlagen.

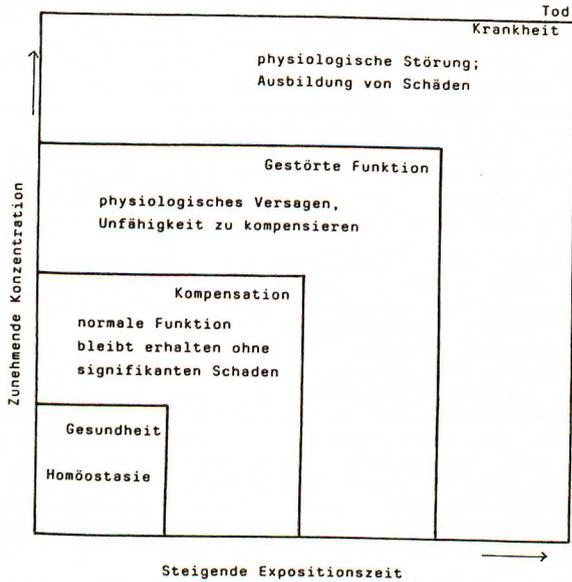


Abb. 1: Schematische Darstellung der Wirkung zunehmender Expositionszeit oder Konzentration einer toxischen Substanz auf einen Organismus (HELLAWELL, 1986)

### 2.1.1. Leuchtbakterienhemmtest mit Photobacterium phosphoreum

Die Durchführung des Tests erfolgt nach DIN 38412, Teil 34 (Entwurf, 1991). Der Leuchtbakterienhemmtest ist ein akuter statischer Kurzzeittest mit dem marinen Bakterium *Photobacterium phosphoreum* (Vibrionaceae, Eubacteria) als Testorganismus. Die Leuchtbakterien haben die Fähigkeit, einen Teil der durch Stoffwechselreaktionen freigesetzten Energie als Licht abzugeben. Stoffe und Milieubedingungen, die die Stoffwechselreaktionen der Leuchtbakterien hemmen, führen zu einer Reduzierung der Lichtemission. Der standardisierte Grundtest mittels "Microtox-System", der mit lyophilisierten Bakterien durchgeführt wird, besteht aus einem Kontrollansatz und einer Anzahl von Verdünnungsstufen in jeweils doppelter Ausführung. Dabei werden definierte Mengen Testgut und Bakteriensuspension bei einer Temperatur von 15 °C in einer Glasküvette vereinigt. Das Leuchten der Testkulturen wird direkt vor dem Zusammenfügen mit dem Testgut und nach Ablauf der frei wählbaren Kontaktzeit (5, 15, 30 min) gemessen. Meßkriterium ist die bakterielle Leuchtintensitätsabnahme, die mit Hilfe eines Luminometers erfaßt wird. Ziel des Tests ist die Erreichung der EC<sub>50</sub>, bzw. des G<sub>T</sub>-Wertes.

### 2.1.2. Zellvermehrungshemmtest mit Pseudomonas putida

Dieser Test wird nach DIN 38412 Teil 8 (Entwurf, 1989) durchgeführt. Der Zellvermehrungshemmtest mit dem Süßwasserbakterium *Pseudomonas putida* (Pseudomonadaceae, Eubacteria) ist ein chronischer, statischer Test, da die Testbakterien unter festgelegten Bedingungen mit einem definierten Nährmedium im Testgut über mehrere Generationen kultiviert werden. Dabei können bestimmte Stoffe, in Abhängigkeit von ihrer Konzentration und Toxizität, die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien hemmen. Testkriterium ist die Zellvermehrung während der Versuchszeit von 16 Stunden bei einer Temperatur von 21±1 °C. Die Konzentration der Bakteriensuspension wird nach Ablauf der Versuchszeit turbidimetrisch gemessen. Ziel des Tests ist die Erreichung von EC<sub>50</sub> und G<sub>B</sub>-Wert. Das Ergebnis ist gültig, wenn sich das Inokulum der Bakterien im Kontrollansatz nach der Testzeit um mindestens das 100-fach erhöht hat.

## 2.2. Toxizitätstests mit Algen

Als Vertreter der Produzenten sind die Algen zu nennen. Sie verwerten mineralische Substanzen, insbesondere Nitrat und Phosphat, und tragen durch ihre Sauerstoffproduktion zur biogenen Belüftung bei.

### 2.2.1. Wachstumshemmtest mit Grünalgen

Die Testdurchführung erfolgt nach OECD (1984) und ISO (1987) " Algal Growth Inhibition Test ". Der Algenwachstumshemmtest stellt einen statischen, chronischen, subletalen Toxizitätstest dar. Die Testalgen *Ankistrodesmus bibraianus* (früher *Selenastrum capricornutum* Printz, Chlorophyceae, Chlorophyta) werden mit einem Nährmedium im Testgut über mehrere Generationen unter standardisierten Bedingungen kultiviert. Bestimmte Stoffe im Testmedium können in Abhängigkeit von ihrer Konzentration und Toxizität das Wachstum der Algen hemmen. Prüfkriterium ist die Zellvermehrung während einer festgelegten Versuchszeit von 72 Stunden. Die Algenkonzentration während des Tests bzw. am Testende wird durch Zählung mittels einer Zählkammer oder Messung mit einem elektronischen Partikelzählgerät bestimmt. Bei Vorliegen einer Korrelation mit der Zellzahl können auch turbidimetrische Methoden verwendet werden. Ziel des Tests ist die Erreichung der  $EC_{50}$  und des  $G_A$ -Wertes. Der Test wird als gültig angesehen, wenn sich die Zellzahl der Algen in der Kontrolle innerhalb von drei Tagen um mindestens das 16-fache erhöht hat.

### 2.2.2. Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest

Der Test wird nach DIN 38412 Teil, 33 (1991) durchgeführt. Das Verfahren dient zur Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen über Verdünnungsstufen. Als Testalge dient *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae, Chlorophyta). Im Unterschied zum Wachstumshemmtest gilt als Maß für die Algenbiomasse die "In-vivo-Chlorophyll-Fluoreszenz", d.h. die Fluoreszenzstrahlung, die das Chlorophyll lebender Zellen nach Anregung durch Licht aussendet. Die Gültigkeit des Tests ist gegeben, wenn sich die Chlorophyllfluoreszenz im Kontrollansatz innerhalb von 72 Stunden um mindestens das 30-fache erhöht hat.

### 2.3. Toxizitätstests mit Kleinkrebsen

Kleinkrebse spielen eine wichtige Rolle in der Nahrungskette des Süßwassers und sind wichtige Vertreter der Primärkonsumenten. Schon seit langer Zeit wird *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) als Standardtestorganismus in der aquatischen Toxikologie verwendet (NAUMAN, 1934, 1944 zit. nach MURPHY 1979).

### 2.3.1. Akuter Daphnientest

Durchführung des Tests nach OECD Guidline 202 (1981); ÖNORM M 6264 (1984) und DIN 38412, Teil 30 (1989). Als Testorganismus dient *Daphnia magna* Strauß. Der Test ist ein statischer Kurzzeittest. Er besteht aus einer Kontrolle und Ansätzen des Testgutes in jeweils vierfacher Ausführung. Eine bestimmte Anzahl von 24 Stunden alten Daphnien, die mindestens der dritten parthenogenetisch erhaltenen Generation entstammen müssen, werden in einer definierten Menge Testgut bei  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  in einem zugedeckten Becherglas 24 Stunden ohne Licht und Futter belassen. Prüfkriterium ist die Bewegungshemmung von *D. magna*. Ziel des Tests ist die Erreichung der  $\text{EC}_{50}$  und des  $\text{GD}$ -Wertes. Die Testergebnisse sind gültig, wenn die Konzentration des gelösten Sauerstoffes in den Testlösungen am Testende mindestens 2 mg/l beträgt, der Prozentsatz der Immobilisierung der Daphnien in den Kontrollproben 10% nicht überschreitet und die 24 Stunden- $\text{EC}_{50}$  von Kaliumdichromat als Referenzsubstanz zwischen 0,9 und 2,0 mg/l liegt.

### 2.3.2. Chronischer Daphnientest

Verlängerter Toxizitätstest mit *Daphnia magna*, Reproduktionstest nach OECD, Guidline 202, Teil II(1992) "Prolonged toxicity study with *Daphnia magna*: Effect on Reproduction". Der chronische Daphnientest unterscheidet sich vom Akuttest durch eine Testdauer von 21 Tagen und die Reproduktion als Testkriterium. Während dieses Tests werden die Daphnien täglich gefüttert. Am Ende der Testperiode wird die durchschnittliche kumulative Anzahl des Wurfs junger Daphnien in den Testansätzen mit der in den Kontrollen erhaltenen verglichen um die LOEC (lowest observed effect concentration = niedrigste beobachtet Effektkonzentration), die NOEC (no observed effect concentration = keine beobachtet Effektkonzentration) und die  $\text{EC}_{50}$  (graphische oder rechnerische Effektkonzentration bei der 50% der Organismen im Sinne des Testkriteriums reagieren) abzuschätzen.

### 2.3.3. Chronischer Test mit *Ceriodaphnia*

Durchführung der Prüfung nach ASTM E 1295, (1989) und USA EPA, (1991) "Ceriodaphnia 7-Tage-Reproduktionstest". Dieser neue chronische Kurzzeit-Test, der sieben Tage dauert, verwendet die Kleinkrebse *Ceriodaphnia dubia* und *C. reticulata* (Crustacea, Cladocera) als Testorganismen. Der Test wird bei einer Temperatur von  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  durchgeführt. Testkriterium ist die Reproduktion, ermittelt durch die Anzahl der von 3 Würfen in sieben Tagen erhaltenen

Jungtiere. Wie der chronische Daphnientest zielt auch dieser Test auf die Erreichung von LOEC und NOEC, sowie EC<sub>50</sub> ab.

#### 2.4. Toxizitätstests mit Fischen

Fische sind einerseits Repräsentanten der Sekundärkonsumenten in der aquatischen Nahrungskette, andererseits stellen Fische auch einen ökonomischen Wert dar.

##### 2.4.1. Akuter Fischtest

Die Durchführung der Prüfung erfolgt nach ÖNORM M 6264 (1984) und OECD 203 (1981). Als Testfisch nach ÖNORM dient die Regenbogenforelle *Oncorhynchus mykiss* W. (früher *Salmo gairdneri* R., Salmonidae, Teleostei), während die OECD - Guidline die Verwendung von 7 verschiedenen Fischarten erlaubt. Der Test besteht aus einem Kontroll- und Testgutansätzen mit definierten Volumina, in die eine bestimmte Anzahl von Fischen richtiger Größe eingesetzt und für eine Testdauer von 48 h, bzw. 96 h bei 15 ± 1°C ohne Futter belassen wird. Prüfkriterium ist der Tod der Fische. Ziel des Tests ist die Erreichung von LC<sub>50</sub> und G<sub>F</sub>-Wert. Die Ergebnisse sind gültig, wenn in der Kontrollprobe keine Fische absterben und die Konzentration des gelösten Sauerstoffes am Ende der Untersuchungen in allen Aquarien mindestens 6 mg/l beträgt.

##### 2.4.2. Chronischer Fischtest

Der 28 Tage- Jungfischwachstumstest wird nach OECD, Entwurf (1992) "Fish, Juvenile Growth Test-28 days" durchgeführt. Beim chronischen Fischtest beträgt die Testdauer im Unterschied zum Akuttest 28 Tage und das Testkriterium ist das Wachstum, d.h. die Längen- und Gewichtszunahme der Versuchstiere. Während des Tests werden die Fische täglich gefüttert. Ziel des Tests ist wie beim verlängerten Toxizitätstest mit *D. magna* die Erreichung der LOEC, NOEC und EC<sub>50</sub>.

##### 2.4.3 Toxizitätstest mit Fischeiern und Dottersackstadien "Sac- Fry Stages"

Der Test erfolgt nach OECD, Entwurf (1992) "Fish Toxicity Test on Egg and Sac-fry Stages". Bei diesem Test mit Fischeiern und -larven werden Entwicklungsstadien vom frisch befruchteten Ei bis zum Ende des Dottersackstadiums

gegenüber einer Reihe von Verdünnungen des Testgutes exponiert. Dieser Test, bei dem kein Futter verabreicht wird, erlaubt letale und zu einem gewissen Grad subletale Effekte nachzuweisen. Durch Vergleich mit Kontrollproben ist es möglich die LOEC ,NOEC und EC<sub>50</sub> zu bestimmen.

### 3. PROBLEME DER AQUATISCHEN TOXIZITÄTSTESTS IN DER ROUTINE

Zwei Hauptfaktoren beschränken den Einsatz der Standardmethoden in der Routine.

1. Die Kosten für die dauernde Besorgung von Testorganismen, ihre Hälterung bzw. Züchtung und Massenproduktion. Speziell bei Daphnien und Fischen betragen sie 34% bis 81% der Gesamtkosten (PERSOONE and VAN DE VEL, 1987). Dieser Prozentsatz hängt von der Testhäufigkeit und davon ab, ob es sich bei der Testeinrichtung um ein auf Gewinn oder nicht auf Gewinn ausgerichtetes Institut handelt.

2. Die Züchtung der Testorganismen und die langfristige Aufrechterhaltung gesunder Kulturen unter standardisierten Bedingungen erfordert besondere Erfahrung, die jedoch nicht immer zur Verfügung steht.

### 4. TOXIZITÄTSTESTS MIT ZYSTEN (TOXKITS)

Um die technologischen, biologischen und besonders finanziellen Nachteile der Standardmethoden in der Routine zu umgehen, wurden in den letzten Jahren von PERSOONE, Universität Gent, Belgien und SNELL, Tampa Universität, Florida, USA neue Mikrobiotests entwickelt. Diese Tests beruhen auf der Verwendung von "Eiern in der Ruhephase", d.h. Zysten ausgewählter aquatischer Organismen als inertes biologisches Material. Die Testorganismen stehen nach Bedarf zur Verfügung, da aus den Zysten lebendige Organismen schlüpfen können, mit denen konventionelle Biotests durchführbar sind. Die Toxizitätstests mit Zysten genetisch genau definierter Kulturen von Rotatorien und Krustaceen wurden in den "Tox-Kits" miniaturisiert. Mit diesen schnellen, empfindlichen und sehr kostengünstigen Tests können sowohl Chemikalien, Abwässer, Sedimente und Sickerwässer, als auch Oberflächenwässer untersucht werden.

Bisher sind für Süßwasseruntersuchungen drei akute Screening-Toxizitätstests mit Zysten entwickelt worden und zwar:

- Rotoxkit F- verwendet die Rädertiere *Brachionus calyciflorus* (*Nemathelminthes, Rotatoria*). Diese Spezies, die eine weite Verbreitung aufweist, repräsentiert eine wichtige Gruppe des Süßwasserzoo planktons.
- Streptoxkit F- benützt den Kleinkrebs *Streptocephalus proboscideus* (*Euphyllopoda, Anostraca*) als Testorganismus.
- Thamnotoxkit F- verwendet den Kleinkrebs *Thamnocephalus platyurus* (*Euphyllopoda, Anostraca*) als Testorganismus.

#### 4.1. Rotoxkit-Test

Zysten von *Brachionus calyciflorus* werden 15 Minuten in einem Licht von 2000-4000 Lux exponiert und danach 16-22 Stunden bei einer Temperatur von 25°C in einem standardisierten Süßwassermedium abgedunkelt bebrütet. Die geschlüpften Rotatorien, die nicht älter als 0-2 h sein dürfen, werden auf einer "Multiwell plate" aus Polystyrol im Testgut bzw. Kontrollansatz unter Verwendung eines Stereomikroskops exponiert. Das Kit wird verschlossen bei 25°C im Dunkeln inkubiert. Nach 24 Stunden wird der kumulative Prozentsatz der toten Rotatorien bestimmt und die 24h-LC<sub>50</sub>, bzw. der G-Wert ermittelt. Die Testergebnisse sind gültig, wenn die Mortalität im Kontrollansatz 10% nicht übersteigt.

#### 4.2. Toxkits mit *Streptocephalus* und *Thamnocephalus*

Die Zysten der Kleinkrebse werden innerhalb 24 Stunden bei einer Temperatur von 25°C, einem Dauerlicht von 1000 bis 2000 Lux und einer sehr leichten Belüftung inkubiert, um die Larven zum Schlüpfen zu bringen. Das 1. Larvenstadium wird in ein frisches Medium übertragen, in dem die Larven 4-8 Stunden belassen werden, um das Erreichen des 2. und 3. Larvenstadiums zu ermöglichen. Dieses wird für den Test verwendet. Die Testorganismen werden mit Hilfe eines Stereomikroskops auf einer "Multiwell Plate" aus Polystyrol im Testgut bzw. Kontrollansatz exponiert. Nachdem das Kit verschlossen wurde, wird es 24 Stunden bei 25°C im Dunkeln inkubiert. Am Testende wird die Anzahl der toten Testorganismen in Prozenten bestimmt und wie üblich die 24h-LC<sub>50</sub>, bzw. der G-Wert ermittelt. Die Gültigkeit des Tests ist gegeben, wenn die Mortalität im Kontrollansatz nicht mehr als 10% beträgt.

## 5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### 5.1. Ergebnisse der Untersuchungen von Vorflutern

Als Beispiel von konventionellen ökotoxikologischen Untersuchungen an Oberflächengewässern wurde die Toxizität von insgesamt 90 Wasserproben aus 9 Vorflutern verschiedener Wasserqualität, deren Schadstoffe von kommunalen und industriellen Abwässern stammen, mit 6 verschiedenen Indikatororganismen aller trophischen Niveaus zwischen Mai 1985 und Mai 1986, sowie im Februar 1988 geprüft (LATIF, 1990).

Alle Versuchsdurchführungen erfolgten mit standardisierten Verfahren.

Beim Leuchtbakterienhemmtest (DIN 38412, Teil 34, 1991) wurde die Abnahme der Leuchtintensität von *Photobacterium phosphoreum* nach 5, 15, und 30 Minuten, beim Zellvermehrungshemmtest mit *Pseudomonas putida* (DIN 38412, Teil 8, 1991) die Wachstumshemmung nach 16 Stunden, beim Algentest mit *Ankistrodesmus bibraianus* (früher *Selenastrum capricornutum*) (OECD, 1984) die Hemmung des Biomassezuwachses nach 5 bzw. 3 Tagen, beim Kressetest (NEURURER, 1975) die Hemmung des Keimwurzellängenwachstums von *Lepidium sativum* nach 48 Stunden, beim Daphnientest (ÖNORM M 6264, 1984) die Bewegungshemmung von *Daphnia magna* nach 24 Stunden und schließlich beim Fischtest (ÖNORM M 6264, 1984) die Mortalität von *Oncorhynchus mykiss* W. (früher *Salmo gairdneri* R.) nach 48 Stunden geprüft.

Die Untersuchungsergebnisse wurden in prozentualen Hemmwerten ausgedrückt und die Bewertung der Toxizität der Vorfluter erfolgte aufgrund der durchschnittlichen prozentualen Hemmung der im Untersuchungszeitraum am stärksten reagierenden Testorganismen, unter Verwendung des modifizierten Bewertungssystems nach KOLLER-KREIMEL und RODINGER (1987), das im folgenden Schema dargestellt ist.

<u>% Hemmung</u>	<u>Klasse</u>	<u>Rang</u>
< 10 / 20%	nicht toxisch	-
10/20-40%	schwach toxisch	+
40 - 60%	mäßig toxisch	++
60 - 90%	stark toxisch	+++
> 90%	total toxisch	++++

Die Untersuchungen zeigten folgende Ergebnisse:

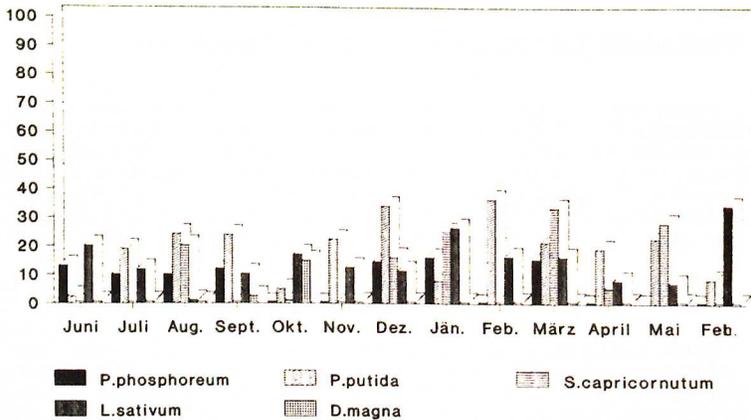
#### Donaukanal oberhalb HKA Wien-Simmering

Es zeigten nur *Pseudomonas putida* und *Lepidium sativum* eine schwache Reaktion, während bei den anderen Testorganismen

DONAUKANAL  
 oberhalb der HKA  
 Wien - Simmering

S - 12

% Hemmung



DONAUKANAL  
 unterhalb der HKA  
 Wien - Simmering

% Hemmung

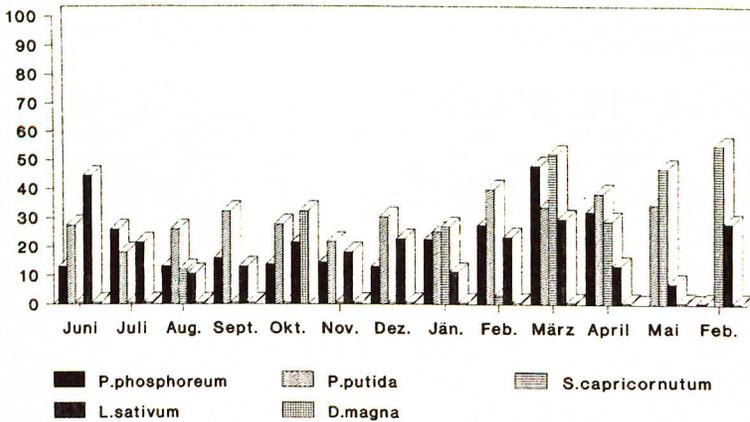


Abb. 2: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen bei den monatlichen Untersuchungen der Fließgewässer für den gesamten Untersuchungszeitraum (1985/1986/1988)

keine toxische Wirkung festgestellt werden konnte. Daher wurde das Wasser dieser Entnahmestelle als "schwach toxisch" gegenüber *P. putida* und *L. sativum* beurteilt. (siehe Abb.2).

#### Donaukanal unterhalb HKA Wien-Simmering

Das Wasser bewirkte bei vier der verwendeten Indikatororganismen einen schwachen toxischen Effekt, und zwar bei *P. putida*, *S. capricornutum* und *L. sativum*, sowie bei *P. phosphoreum*, wenn die toxische Grenze mit 10% festgesetzt wurde. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde der Donaukanal unterhalb der HKA Wien-Simmering als "schwach toxisch" eingestuft (siehe Abb.2).

#### Wienfluß im Stadtpark, unterhalb der Kleinen Ungarbrücke

Der Wienfluß wurde als "schwach toxisch" eingestuft, da hier bei *P. putida*, *S. capricornutum* und *L. sativum*, sowie bei *P. phosphoreum*, wenn die toxische Grenze bei 10% angenommen wurde, eine schwache toxische Wirkung festgestellt werden konnte (siehe Abb.3).

#### Schwechat bei Mündung in die Donau (Ziegelwasser)

Die Schwachat wurde ebenfalls als "schwach toxisch" eingestuft, da sie ähnliche Testergebnisse wie der Wienfluß zeigte (siehe Abb.3).

#### Fischa in Fischamend, bei Mündung in die Donau

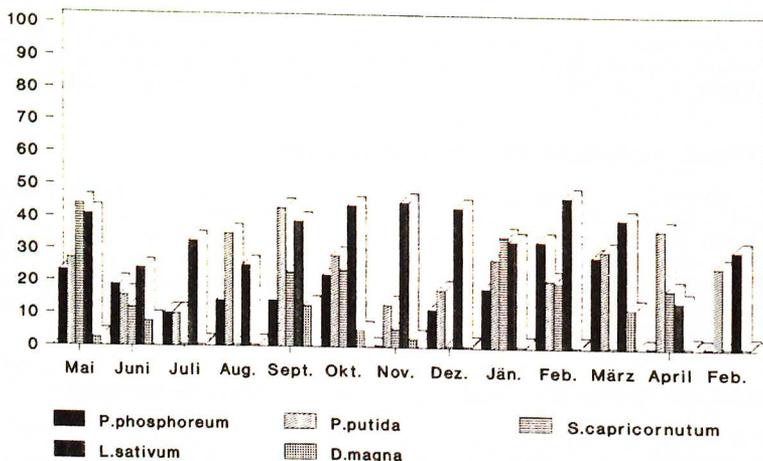
*P. putida*, *S. capricornutum* und *L. sativum*, sowie *P. phosphoreum* ließen mit den Proben der Fischa eine schwache toxische Wirkung erkennen, wenn die toxische Grenze von letzterem bei 10% Hemmung angenommen wurde. Aufgrund dieser Verhältnisse wurde die Fischa als "schwach toxisch" beurteilt (siehe Abb.4).

#### Traisen in Pottenbrunn

Alle Testorganismen außer *D. magna* zeigten eine schwache toxische Reaktion, sowohl wenn die toxische Grenze für *Photobacterium phosphoreum* bei 10%, als auch wenn sie bei 20% Hemmung angenommen wurde. *D. magna* ließ hier einen mäßigen toxischen Effekt erkennen. Aufgrund dieser Reaktionen der Indikatororganismen wurde die Traisen als "mäßig toxisch" eingestuft (siehe Abb.4).

# WIENFLUSS Stadtspark

% Hemmung



# SCHWECHAT bei Mündung in die Donau

% Hemmung

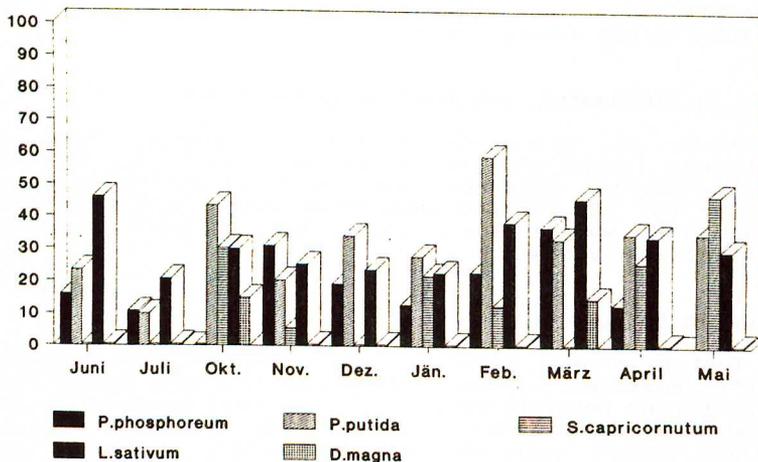


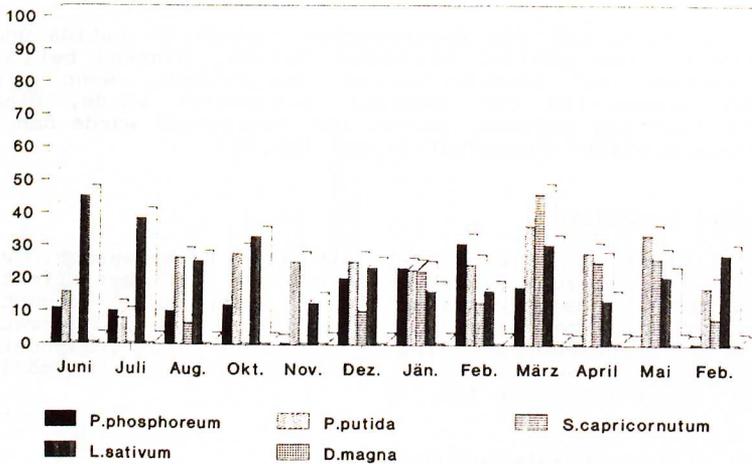
Abb. 3: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen bei den monatlichen Untersuchungen der Fließgewässer für den gesamten Untersuchungszeitraum(1985/1986/1988)

# FISCHA

% Hemmung

bei Mündung in die Donau

S - 15



# TRAISEN

Pottenbrunn

% Hemmung

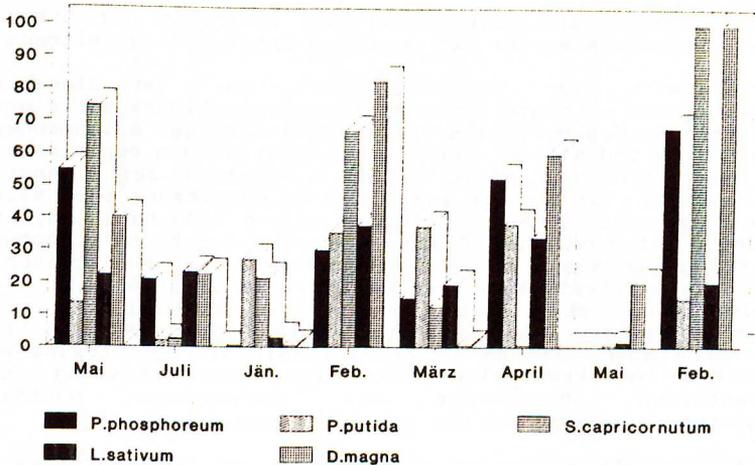


Abb. 4: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen bei den monatlichen Untersuchungen der Fließgewässer für den gesamten Untersuchungszeitraum(1985/1986/1988)

Petersbach in Wien, Brünnerstraße

Mit den Wasserproben des Petersbaches zeigten *P. putida* und *L. sativum* einen mäßigen toxischen Effekt, während bei *S. capricornutum* und *Photobacterium phosphoreum*, wenn die toxische Grenze bei 10% Hemmung festgesetzt wurde, eine schwache Reaktion gefunden wurde. Der Petersbach wurde daher als "mäßig toxisch" eingestuft(siehe Abb.5).

Pulkau bei Laa/Thaya

Alle Testorganismen reagierten mit dem Pulkauwasser. *P. putida* und *L. sativum* zeigten einen mäßigen toxischen Effekt, während bei *S. capricornutum* und *D. magna* eine schwache toxische Wirkung gefunden wurde. *Photobacterium phosphoreum* wurde bei der Untersuchung dieses Vorfluters nicht verwendet. Aufgrund der obigen Ergebnisse wurde die Pulkau als "mäßig toxisch" beurteilt(siehe Tab.1).

Liesing in Wien, Carlberggasse

Alle verwendeten Testorganismen wiesen mit dem Liesingwasser eine eindeutige toxische Beeinträchtigung auf. *Photobacterium phosphoreum*, *P. putida* und *S. capricornutum* zeigten einen starken toxischen Effekt, bei *D. magna* und *L. sativum* wurde ein mäßiger toxischer Effekt beobachtet. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Liesing als "stark toxisch" beurteilt(siehe Abb.5).  
Tabelle(1) zeigt die Beurteilung der Toxizität der untersuchten Fließgewässer für den gesamten Untersuchungszeitraum.

Der Vergleich der Empfindlichkeit der verschiedenen Toxizitätstests erfolgte mittels Rang-Korrelationskoeffizient nach SPEARMAN, dem multiplen Vergleich abhängiger Stichproben nach WILCOXON und WILCOX, sowie dem beschriebenen empirischen Bewertungssystem. Die relative Empfindlichkeit der Biotests hängt davon ab, ob man die einzelnen Fließgewässer oder alle zusammen betrachtet, wobei es wiederum von Bedeutung ist, ob die Häufigkeit toxischer Proben oder die durchschnittlichen Hemmwerte berücksichtigt werden. Außerdem ist die toxische Grenze des Toxizitätstests von Bedeutung(LATIF,1990).  
Es wurde eine hohe Übereinstimmung der Sensibilität von *Pseudomonas putida* und *Lepidium sativum* festgestellt. Es zeigte sich auch, daß es in Abhängigkeit von der toxischen Grenze des Leuchtbakterientests, eine Übereinstimmung von *Photobacterium phosphoreum* mit *Pseudomonas putida*, *Selenastrum capricornutum* und *Daphnia magna* gab.

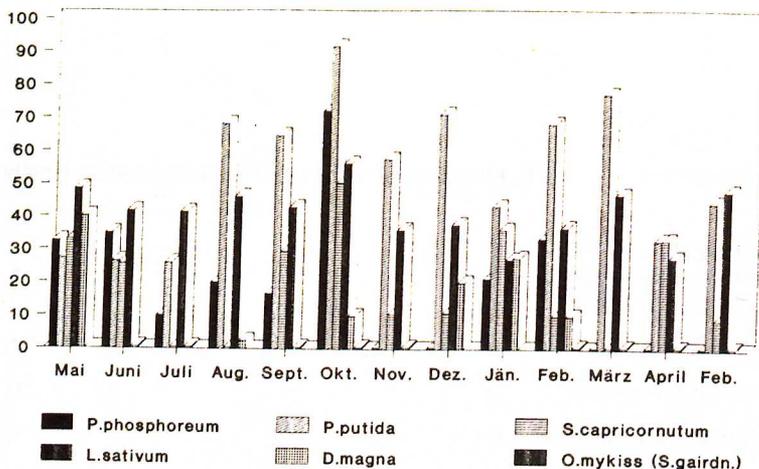
Der Fischttest wurde nur bei der Liesing und beim Petersbach durchgeführt. Es stellte sich heraus, daß obwohl nur wenige Proben von Vorflutern untersucht wurden, dieser Biotest in keinem Fall eine höhere Empfindlichkeit als der Daphnientest aufwies(siehe Abb.5).

# PETERSBACH

## Wien, Brünnerstraße

S - 17

% Hemmung



# LIESING

## Wien, Carlberggasse

% Hemmung

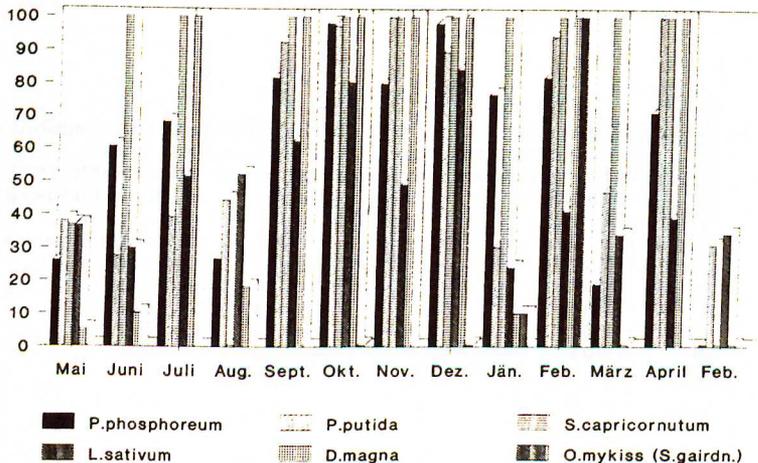


Abb. 5: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen bei den monatlichen Untersuchungen der Fließgewässer für den gesamten Untersuchungszeitraum(1985/1986/1988)

Probenahmestelle	P. phosphoreum		P. putida	S. capricornutum	L. sativum	D. magna
	A (30 min)	B	(16h)	(5d)	(48h)	(24h)
DONAUKANAL oberh. der HKA	-	-	+	-	+	-
DONAUKANAL unterh. der HKA	+	-	+	+	+	-
Wien - Simmering						
WIENFLUSS, Stadtpark	+	-	+	+	+	-
PETERSBACH, Brünnerstr.	+	-	++	+	++	-
LIESING, Wien, Carlbergergasse	+++	+++	+++	+++	++	++
SCHWECHAT, Ziegelwasser	+	-	+	+	+	-
FISCHA, Fischamend	+	-	+	+	+	-
TRAISEN, Pottenbrunn	+	+	+	+	+	++
PULKAU, Laa/Thaya	/	/	++	+	++	+

Tab. 1: Beurteilung der Toxizität der Fließgewässer gegenüber den Labortestorganismen unter Verwendung des modifizierten Bewertungssystems nach KOLLER-KREIMEL und RODINGER(1987) für den gesamten Untersuchungszeitraum (1985/86/88)

A: 10% toxische Grenze	B: 20% toxische Grenze
< 10/20%	- nicht toxisch
10 - 40%	+ schwach toxisch
40 - 60%	++ mäßig toxisch
60 - 90%	+++ stark toxisch
> 90%	++++ total toxisch

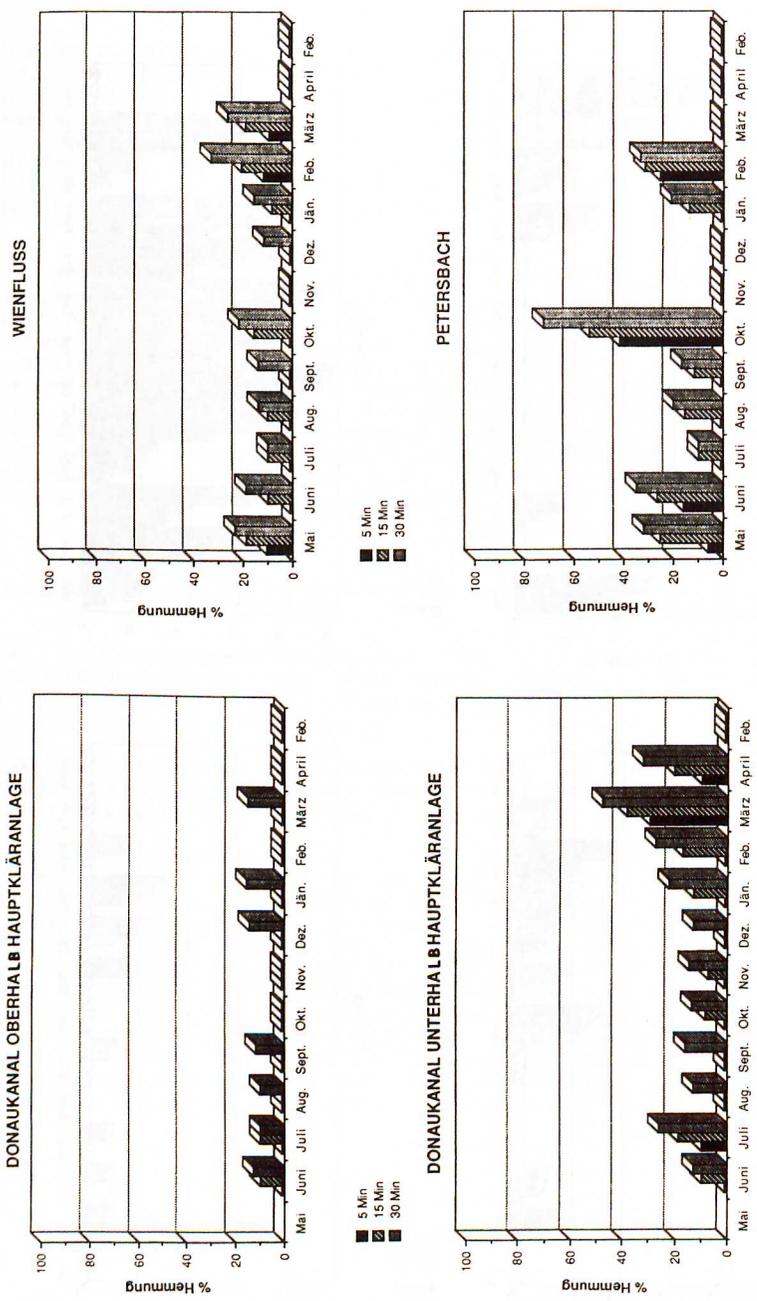


Abb. 6: Toxizitätstest mit Photobacterium phosphoreum  
 Ergebnisse monatlicher Untersuchungen der Fließgewässer  
 von 1985/86/88 als mittlere prozentuale Hemmung der  
 Leuchtintensität bei Kontaktzeit von 5, 15 und 30 Minuten



Die relative Empfindlichkeit von *Photobacterium phosphoreum* bei verschiedenen Inkubationszeiten zeigte, daß ein signifikanter Unterschied zwischen der Sensibilität der Bakterien bei 5 min und 30 min bestand, während es zwischen 5 min und 15 min, sowie 15 min und 30 min keine signifikanten Differenzen gab. Die Wasserproben ließen in den meisten Fällen bei 30 min den stärksten toxischen Effekt auf die Leuchtbakterien erkennen (siehe Abb.6 u.7).

Bei den untersuchten Fließgewässern zeigte sich, daß es nicht möglich ist einen Testorganismus als den absolut empfindlichsten zu bezeichnen, da in unterschiedlichen Fällen verschiedene Testorganismen die höchste Sensibilität aufwiesen. Es scheint hingegen eine größere Sicherheit in der Abschätzung der toxischen Belastung von Oberflächengewässern und damit ein besserer Ökosystemschutz erreichbar, wenn Toxizitätstests mit Bakterien, Algen und Kleinkrebsen durchgeführt werden, da damit sowohl wesentliche trophische Niveaus der aquatischen Nahrungskette, als auch mehr Schadstoffe abgedeckt werden können.

## 5.2. Ergebnisse der Untersuchungen von Abwasser

Im Institut für Wassergüte und Abfallwirtschaft der Technischen Universität Wien wurden Ökotoxizitätstests mit industriellen und kommunalen Abwässern, sowie mit Sickerwasser durchgeführt.

Die Erfassung der toxischen Wirkung von Schadstoffen in Abwässern erfolgte mittels Bakterien, Algen und Kleinkrebsen in standardisierten Labortests.

Als Untersuchungsergebnis werden die mittlere prozentuale Hemmung der Zellvermehrung der Bakterien, des Wachstums der Algen, bzw. der Schwimffähigkeit der Daphnien, sowie der G-Wert angegeben. Dieser wurde in Anlehnung an DIN 38412, Teil 30 (1989) als  $G_x$ -Wert ermittelt. Der Wert bezeichnet die niedrigste nicht giftige Verdünnungsstufe, bei der mindestens 90% der Daphnien ihre Schwimffähigkeit behalten, sowie bei der die mittlere prozentuale Hemmung der Zellvermehrung der Bakterien, bzw. des Wachstums der Algen <10% ist. Unter der Verdünnungsstufe G ist der Faktor zu verstehen, der angibt auf das wievielfache Volumen ein Raumteil Abwasser im Testansatz verdünnt worden ist.

### 5.2.1. Ergebnisse der Kläranlagenabläufe von chemischen Industriebetrieben

#### 5.2.1.1. Ergebnisse des Ablaufes der betrieblichen ARA des Betriebes A

Die chemische Analyse des Abwassers ergab einen hohen CSB von 550 mg/l, einen BSB<sub>5</sub> von 80 mg/l, sowie einen hohen NH<sub>4</sub>-N Gehalt von 250 mg/l (3,35 mg NH<sub>3</sub>/l).

Tabelle(2) zeigt die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests der Untersuchung des Ablaufes.

Im Daphnientest erwies sich die unverdünnte Probe als sehr toxisch, da alle Tiere nach einer Expositionszeit von einer halben Stunde tot waren, während die 4-fach verdünnte Probe keine akute toxische Wirkung mehr aufwies. Daher wurde ein G<sub>D</sub>-Wert von 4 ermittelt.

Auf die Bakterien zeigte die höchste geprüfte Konzentration des Abwassers (80%) eine deutliche toxische Wirkung, während die 4-fach verdünnte Probe keine Hemmung der Zellvermehrung von *P. putida* bewirkte. Somit ergab sich ein G<sub>B</sub>-Wert von 4.

Im Algentest wurde bei der höchsten geprüften Konzentration (90%) eine sehr starke Toxizität gegenüber den Algen beobachtet. Es gab kein Wachstum der Grünalgen. Beim 32-fach verdünnten Abwasser zeigte sich schließlich keine Wachstumshemmung von *Ankistrodesmus bibraianus*. Somit ergab sich ein G<sub>A</sub>-Wert von 32.

Abbildung (8) zeigt die Wachstumskurven der Algen bei verschiedenen Konzentrationen des Abwassers.

In Abbildung (9) ist die mittlere prozentuale Hemmung der Tests bei verschiedenen Konzentrationen des Abwassers dargestellt.

Das Abwasser wies sowohl eine akute, als auch eine chronische Wirkung auf die Testorganismen auf. Die Ursache der akuten Toxizität im Daphnientest ist offensichtlich in der hohen Ammoniak-Konzentration des Abwassers von 3,35 mg/l zu sehen, da die LC<sub>50</sub> von *D. magna* bei 1,92 mg NH<sub>3</sub>/l liegt (KÄROLY and JANOS, 1980). Aufgrund eines G<sub>A</sub>-Wertes von 32 erwies sich jedoch der Zellvermehrungshemmtest mit der Grünalge *Ankistrodesmus bibraianus* als empfindlichster Test.

#### 5.2.1.2 Ergebnisse des Pilotanlagenablaufes des Betriebes A

Die Untersuchung der Pilotanlage zur weitergehenden Reinigung der Abwässer des Betriebes A zeigte folgende Ergebnisse:

Die chemische Analyse des Ablaufes ergab einen CSB von 400 mg/l, einen BSB<sub>5</sub> von 20 mg/l, sowie einen verringerten

**Abwasser Chemieindustrie, Betrieb A (Ablauf)**

Testgutkonz. (%)	Verdün.Stufe (G)	Hemmung (%)		
		<u>Bakterien</u>	<u>Algen</u>	<u>Daphnien</u>
Kontrolle	-	0	0	0
Konz	1	49,01	100	100
50	2	15,37	99,32	100
33,3	3	11,02	97	60
25	4	8,5	95,31	0
12,5	8	5,78	56,85	0
6,3	16	0	18,27	0
3,2	32	0	3,41	0

Verdünnungsfaktor:  $G_B = 4$   
 $G_D = 4$   
 $G_A = 32$

**Abwasser Chemieindustrie, Betrieb A  
(Ablauf der Pilotanlage)**

Testgutkonz. (%)	Verdün.Stufe (G)	Hemmung (%)		
		<u>Bakterien</u>	<u>Algen</u>	<u>Daphnien</u>
Kontrolle	-	0	0	0
Konz	1	8,64	100	0
50	2	4,37	35,51	0
33,3	3	4,02	0,0	0

Verdünnungsfaktor:  $G_D = 1$   
 $G_B = 1$   
 $G_A = 3$

**Abwasser Chemieindustrie, Betrieb B (Ablauf)**

Testgutkonz. (%)	Verdün.Stufe (G)	Hemmung (%)		
		<u>Bakterien</u>	<u>Algen</u>	<u>Daphnien</u>
Kontrolle	-	0	0	0
Konz	1	40,84	81,16	0
50	2	25,76	54,90	0
25	4	7,10	28,25	0
12,5	8	1,48	2,10	0

Verdünnungsfaktor:  $G_D = 1$   
 $G_B = 4$   
 $G_A = 8$

Tab. 2: Ergebnisse der Ökotoxizitätstests mit *Pseudomonas putida*, *Ankistrodesmus bibrarianus* und *Daphnia magna*

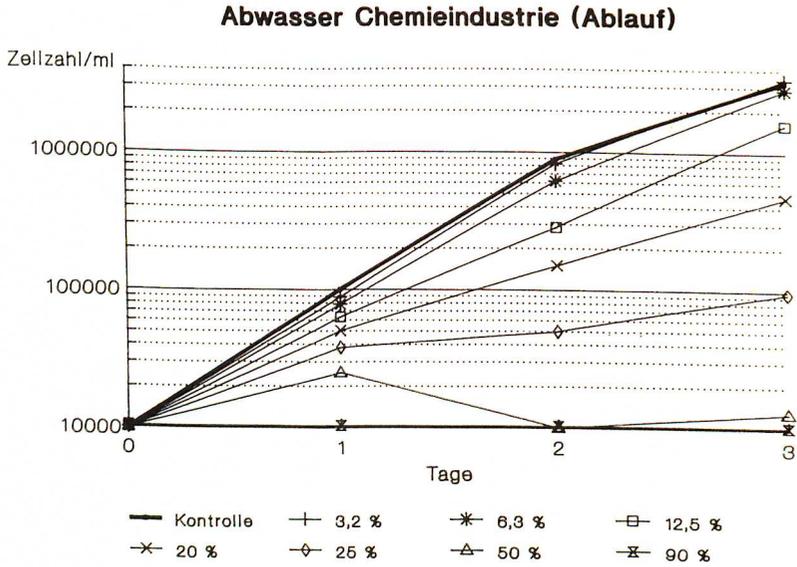


Abb. 8: Toxizitätstest mit Algen  
 Wachstumskurven von *Ankistrodesmus bibrarianus* bei  
 verschiedenen Konzentrationen des Abwassers der  
 betrieblichen ARA des Betriebes A

Ammoniumgehalt von 0,9 mg/l. Die Raumbelastung der Anlage war schwach, und zwar 0,5 kg BSB<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>.d.

Tabelle(2) gibt die Ergebnisse der Toxizitätstests des Ablaufes wieder.

Im Daphnientest erwies sich die unverdünnte Probe als nicht toxisch, daher wurde ein G<sub>D</sub>-Wert von 1 ermittelt.

Auch auf die Bakterien zeigte die höchste geprüfte Konzentration des Abwassers keine toxische Wirkung. Somit ergab sich ein G<sub>B</sub>-Wert von 1.

Im Algentest wurde jedoch bei der höchsten geprüften Konzentration kein Wachstum der Grünalgen beobachtet, d.h., daß es eine sehr starke Toxizität gegenüber den Testorganismen gab. Erst beim 3-fach verdünnten Abwasser zeigte sich schließlich keine Wachstumshemmung von Ankistrodesmus bibrarianus mehr, daher wurde ein G<sub>A</sub>-Wert von 3 ermittelt.

In Abbildung (9) sind die Ergebnisse der Tests dargestellt.

Die Ergebnisse zeigten, daß es nach der weitergehenden Reinigung der Abwässer keine akute toxische Wirkung auf die Daphnien und auch keinen chronischen toxischen Effekt auf die Bakterien mehr gab. Die Zellvermehrungshemmung der Algen blieb zwar bestehen, jedoch war der G<sub>A</sub>-Wert von 32 auf 3 gesunken. Das bedeutet, daß durch die Pilotanlage die Toxizität des Abwassers reduziert werden konnte. Es erwiesen sich auch hier die Grünalgen als die empfindlichsten Testorganismen mit Abwasser.

#### 5.2.1.2. Ergebnisse der Untersuchung des Kläranlagenablaufes des Betriebes B

Die chemische Analyse des Abwassers ergab einen hohen CSB von 404 mg/l, einen BSB<sub>5</sub> von 20 mg/l, sowie einen NH<sub>4</sub>-N Gehalt von 0,8 mg/l. Die Raumbelastung der Anlage war schwach und lag bei 0,6 kg BSB<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>.d.

Tabelle(2) zeigt die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests des Ablaufes des Betriebes B.

Im Daphnientest erwies sich die unverdünnte Probe als nicht toxisch, wodurch sich ein G<sub>D</sub>-Wert von 1 ergab.

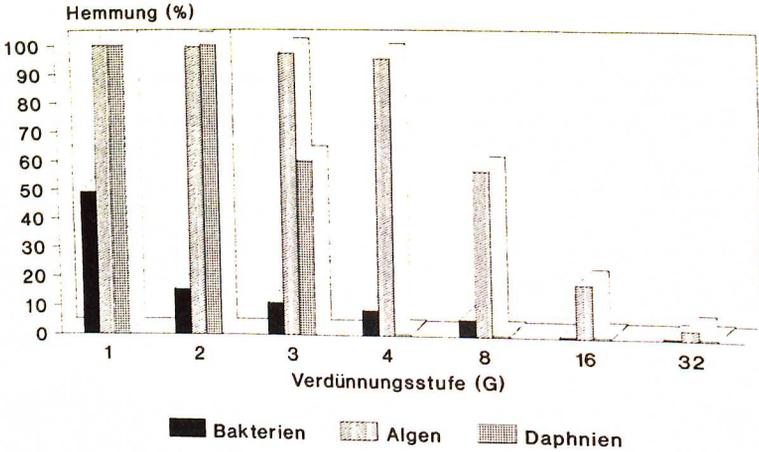
Während die höchste geprüfte Konzentration des Abwassers(80%) auf die Bakterien eine deutliche toxische Wirkung zeigte, bewirkte die 4-fach verdünnte Probe keine Hemmung der Zellvermehrung. Somit wurde ein G<sub>B</sub>-Wert von 4 ermittelt.

Im Algentest wurde bei der höchsten geprüften Konzentration(90%) ebenfalls eine hohe Toxizität gegenüber den Testorganismen beobachtet. Hier zeigte sich erst beim 8-fach verdünnten Abwasser keine Wachstumshemmung der Algen mehr, woraus sich ein G<sub>A</sub>-Wert von 8 ergab.

In Abbildung (10) sind die Ergebnisse dargestellt.

# Abwasser Chemieindustrie Betrieb A (Ablauf)

S - 26



# Abwasser Chemieindustrie Betrieb A (Ablauf der Pilotanlage)

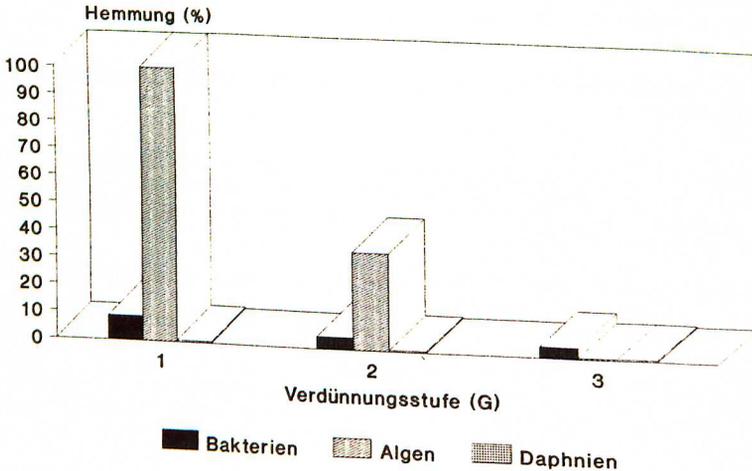


Abb. 9: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen *Pseudomonas putida*, *Ankistrodesmus bibrainus* und *Daphnia magna* bei verschiedenen Konzentrationen des Abwassers

## Abwasser Chemieindustrie Betrieb B (Ablauf)

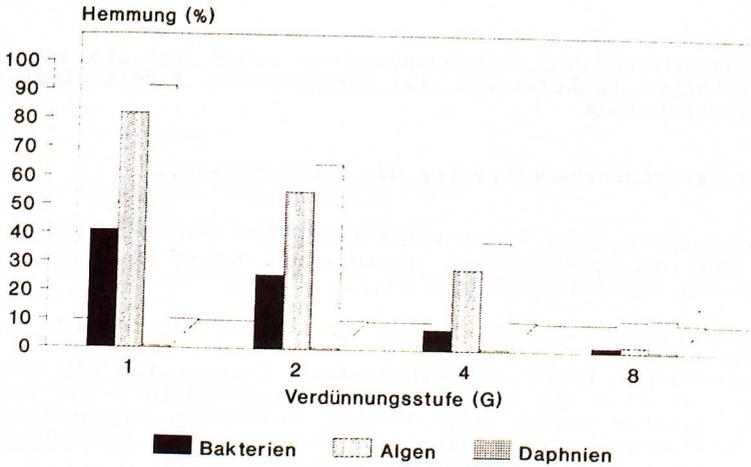


Abb. 10: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen *Pseudomonas putida*, *Ankistrodesmus bibrainianus* und *Daphnia magna* bei verschiedenen Konzentrationen des Abwassers

Das Abwasser zeigte keine akute toxische Wirkung gegenüber Daphnien, es gab jedoch eine deutliche chronische Wirkung auf die Zellvermehrung von Bakterien und Algen. Die starke Braunfärbung der Probe ließ auf einen hohen Gehalt an Huminstoffen schließen, der vermutlich die Ursache der Toxizität des Abwassers darstellte. Auch hier wurde beobachtet, daß die Algen die empfindlichsten Organismen waren.

## 5.2.2. Ergebnisse der Untersuchung von rohem und biologisch nitrifiziertem Sickerwasser aus abgelagerten Faserschlämmen von Papierfabriken

### 5.2.2.1. Versuchsergebnisse für das Rohsickerwasser

Die chemische Analyse ergab einen hohen CSB von 490-790 mg/l, einen BSB<sub>5</sub> von 30-158 mg/l, sowie einen hohen NH<sub>4</sub>-N Gehalt von 162-247 mg/l (11,6-17,7 mg NH<sub>3</sub>/l).

Tabelle(3) zeigt die Ergebnisse des Ökotoxizitätstests des Rohsickerwassers.

Die unverdünnte Probe im Daphnientest erwies sich als sehr toxisch, da alle Tiere nach einer Expositionszeit von fünf Minuten getötet waren. Beim 8-fach verdünnten Sickerwasser wurde schließlich keine akute toxische Wirkung beobachtet. Somit ergab sich ein G<sub>D</sub>-Wert von 8 (siehe Abb.11).

Die akute Toxizität des Rohsickerwassers im Daphnientest ist offensichtlich auf den hohen Ammoniakgehalt der Probe zurückzuführen.

### 5.2.2.2. Versuchsergebnisse für das biologisch nitrifizierte Sickerwasser

Die chemische Analyse ergab reduzierte Werte für CSB von 135-320 mg/l, BSB<sub>5</sub> von 1-18 mg/l, sowie NH<sub>4</sub>-N von 0,0-0,6 mg/l. Die Raumbelastung der Versuchsanlage (Laborkläranlage) war schwach und lag bei 0,1 kg BSB<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>.d. .

Tabelle(3) zeigt die Ergebnisse der Ökotoxizitätstests. Im Daphnientest erwies sich die unverdünnte Probe als nicht toxisch. Daher wurde ein G<sub>D</sub>-Wert von 1 ermittelt. Auf Bakterien und Algen zeigte die höchste geprüfte Konzentration des Testgutes (80%), bzw. (90%) eine deutliche toxische Wirkung, während die 2-fach verdünnte Probe keine Hemmung der Zellvermehrung von *P. putida*, bzw. *Ankistrodesmus hibraianus* bewirkte. Daher wurde ein G<sub>B</sub>- und G<sub>A</sub>-Wert von 2 ermittelt.

**Rohsickerwasser - Papierfabrikabfälle**

Testgutkonz. (%)	Verdün.Stufe (G)	<u>Daphnien</u> Hemmung (%)
Kontrolle	-	0
Konz.	1	100
50	2	100
25	4	100
20	5	100
16,7	6	80
12,5	8	0

Verdünnungsfaktor:  $G_D = 8$

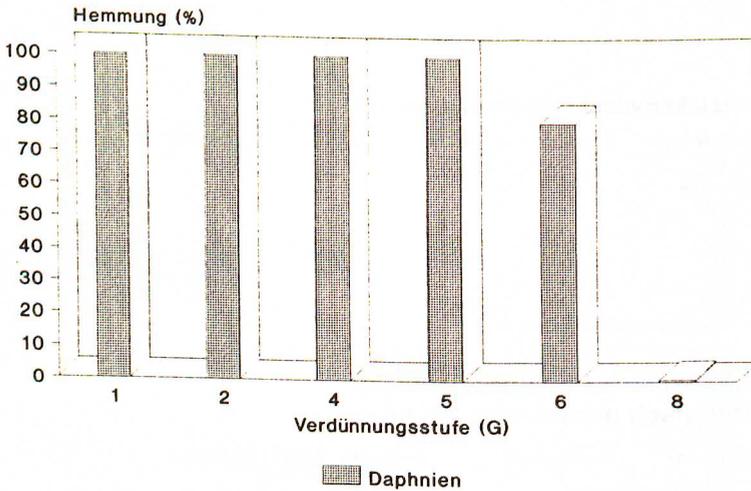
**Sickerwasser Papierfabrikabfälle  
(biologisch nitrifizierter Ablauf)**

Testgutkonz. (%)	Verdün.Stufe (G)	<u>Bakterien</u>	<u>Algen</u>	<u>Daphnien</u>
		Hemmung (%)		
Kontrolle	-	0	0	0
Konz.	1	24,45	40,74	0
50	2	8,91	2,19	0

Verdünnungsfaktor:  $G_D = 1$   
 $G_B = 2$   
 $G_A = 2$

Tab. 3: Ergebnisse der Toxizitätstests mit *Daphnia magna*, *Ankistrodesmus bibraianus* und *Pseudomonas putida*

## Rohsickerwasser Papierfabrikabfälle



## Sickerwasser Papierfabrikabfälle (biologisch nitrifizierter Ablauf)

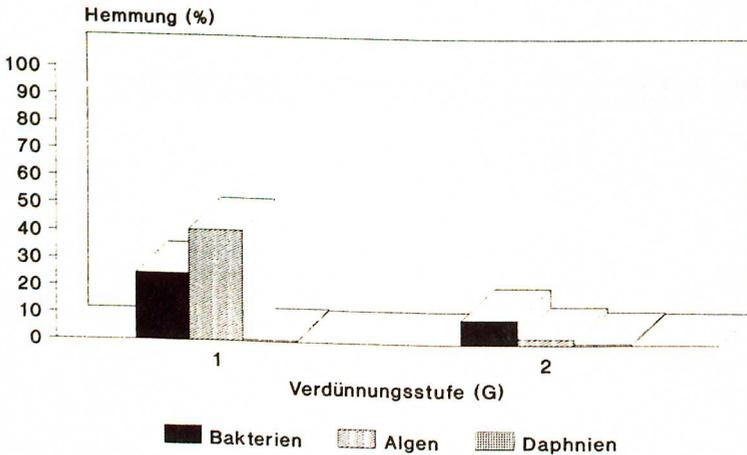


Abb. 11: Vergleich der mittleren prozentualen Hemmung der Testorganismen *Pseudomonas putida*, *Ankistrodesmus bibrainianus* und *Daphnia magna* bei verschiedenen Konzentrationen des Sickerwassers

In Abbildung (11) sind die Testergebnisse dargestellt.

Das nitrifizierte Sickerwasser zeigte keine akute toxische Wirkung auf die Daphnien mehr, da Ammonium fast zu 100% eliminiert wurde.

Die chronische Wirkung auf die Zellvermehrung von Bakterien und Algen könnte vermutlich durch den Gehalt der Probe an Huminstoffen verursacht sein.

### 5.3. Ergebnisse der Ökotoxizitätstests mit Zysten (Toxkits)

Im Rahmen der Forschungsarbeit am Institut für Wassergüte und Abfallwirtschaft der Technischen Universität Wien wurden Ökotoxizitätstests mit Zysten (Toxkits) durchgeführt.

Die Toxizität von insgesamt 60 Proben aus Vorflutern, industriellen und kommunalen Abwässern, sowie Sickerwasser wurde mittels drei verschiedener Toxkits geprüft, und zwar Rotoxkit F. (Rotatorien), Streptoxkit F. (Kleinkrebse) und Thamnotoxkit F. (Kleinkrebse). Diese neuen akuten Ökotoxizitätstests wurden mit dem standardisierten akuten Daphnientest verglichen.

Es stellte sich heraus, daß bei allen untersuchten Proben der Daphnientest in keinem Fall eine höhere Empfindlichkeit als der Streptox- und Thamnotoxtest aufwies.

Eine Auswahl der Ergebnisse wurde in Tabelle (4) und Tabelle (5) dargestellt.

### 6. ZUSAMMENFASSUNG

Ökotoxikologische Untersuchungen geben wertvolle Hinweise auf ein Gefährdungspotential für die Umwelt und den Menschen.

Die Bedeutung von Ökotoxizitätstests ist dadurch gegeben, daß die potentielle Wirkung von Schadstoffen auf Lebewesen nicht hinreichend auf der Basis von chemischen und physikalischen Parametern allein bestimmt werden kann. Außerdem lassen chemische Untersuchungen keine Erfassung von synergistischen, additiven oder antagonistischen Effekten von Schadstoffen im Gewässer zu. Schließlich ist es möglich mittels Toxizitätstests sogar die Wirkung der Kombinationen von Verbindungen, die nicht mit chemischen Methoden identifiziert oder gemessen werden können, zu bestimmen.

Aus zahlreichen biologischen Testverfahren mit Organismen der aquatischen Nahrungskette- Destruenten (Bakterien), Produzenten (Algen und aquatische Pflanzen) und Konsumenten

Abwasser	Verdün.S. Daphnien <i>Thamnocephalus Streptocephalus Brachionus</i>					Nitrifika- tion belastung (kgBSB <sub>5</sub> /m <sup>3</sup> .d)	
	(G)		Hemmung (%)				
<b>I. Kommunale Abwasser- reinigungsanlagen</b>							
- Zulauf Anlage A	1	0	80	73	0	-	0,2
	2	0	0	0	0		
- Ablauf Anlage A	1	0	0	0	0	Ja	
- Ablauf Anlage B	1	0	100	0	0	Nein	2,5
	2	0	50	0	0		
	4	0	0	0	0		
- Ablauf Anlage C	1	0	0	0	0	Ja	1,7
<b>II. Industrielle Kläranlagen</b>							
<b>- Chemische Industrie</b>							
- Ablauf Anlage D	1	0	100	0*	0	Ja	0,5
(Pilotanlage)	2	0	0	0	0		
- Ablauf Anlage E	1	0	46	0	0	Ja	0,6
	2	0	0	0	0		
<b>- Zellstoffindustrie</b>							
- Ablauf Anlage F	1	0*	0*	0*	0*	Nein	6
(1. Stufe)	2	0	0	0	0		
- Ablauf Anlage F	1	0	0	0	0	-	0,3
(2. Stufe)							
<b>III. Kommunale Kläranlagen mit hohem Industrieanteil</b>							
- Zulauf Anlage G							
Kommunal + Stahl							
+ Chemie	1	20*	100	100	20*	-	-
	2	0	0	0	0		
- Ablauf Anlage G							
Kommunal + Stahl							
+ Chemie	1	0	0	0	0	-	0,1
- Ablauf Anlage H							
Kommunal + Brauerei (20%)							
+ Raffinerie (40%);	1	0	0	0	0	Ja	0,3

Tab. 4: Ergebnisse der Toxizitätstests mit Toxkits  
(*Thamnocephalus platyurus*, *Streptocephalus proboscideus*,  
*Brachionus calyciflorus*) und Daphnientest mit *D. magna*  
Angabe der Raumbelastung und Nitrifikation.  
\* geschädigt

<b>Sickerwasser</b>		<b>Verdünn.S.</b>	<b>Daphnien</b>	<b>Thamnocephalus</b>	<b>Streptocephalus</b>	<b>Brachionus</b>	<b>Raum- belastung</b>
		<b>(G)</b>	<b>Hemmung (%)</b>				<b>(kgBSB<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>.d)</b>
- Ablauf Papier- faserschlamm (biolog. nitrifiziert)	1	0	0	0	0	0	0,1
- Mülldeponie A nach Durchtritt durch eine mineralische Basisdichtung	1	0	0	0	0	0	-
- Mülldeponie B nach Durchtritt durch eine mineralische Basisdichtung	1	0	0	0	0	0	-

<b>Vorfluter</b>		<b>Testgutkonz.</b>	<b>Daphnien</b>	<b>Thamnocephalus</b>	<b>Streptocephalus</b>	<b>Brachionus</b>
<b>Entnahmestelle</b>	<b>(%)</b>	<b>Hemmung (%)</b>				
- Vor Einmündung	100 %	0	0	0	0	0
- Nach Einmündung	100 %	0	16*	0	0	0
(Ablauf Klärwerk Chemieindustrie)	50 %	0	0	0	0	0
- Vor Einmündung	100 %	0	0	0	0	0
- Nach Einmündung	100 %	0	0	0	0	0
(Ablauf kommunale Kläranlage)						
- Vor Einmündung	100 %	0	0	0	0	0
- Nach Einmündung	100 %	0	0	0	0	0
(Ablauf Klärwerk Zellstoffindustrie )						

Tab. 5: Ergebnisse der Toxizitätstests mit Toxkits  
(Thamnocephalus platyurus, Streptocephalus proboscideus,  
Brachionus calyciflorus) und Daphnientest mit D. magna  
\* geschädigt

(Daphnien und Fische)- wurden von nationalen und internationalen Organisationen bestimmte Toxizitätstests ausgewählt und standardisiert, um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Die meisten standardisierten aquatischen Toxizitätstests werden behandelt. Zum Teil werden sie schon lange in der Routine verwendet, andererseits finden einige Verfahren bisher nur begrenzte Anwendung.

Zwei Hauptfaktoren beschränken den Einsatz der Standardmethoden in der Routine: Erstens die Kosten für die dauernde Besorgung von Testorganismen, ihre Haltung, bzw. Züchtung und Massenproduktion. Sie betragen speziell bei Daphnien und Fischen 34% bis 81% der Gesamtkosten. Zweitens die Züchtung der Testorganismen und die langfristige Aufrechterhaltung gesunder Kulturen unter Standardbedingungen. Diese erfordert besondere Erfahrung, die jedoch nicht immer zur Verfügung steht.

In den letzten Jahren wurden neue Mikrobiotests entwickelt. Diese Tests beruhen auf der Verwendung von "Eiern in der Ruhephase", sog. Zysten ausgewählter aquatischer Organismen als inertes biologisches Material. Lebendige Testorganismen aus den Zysten stehen bei Bedarf zur Verfügung um konventionelle Biotests durchführen zu können. Die Toxizitätstests mit Zysten wurden in den "Toxkits" miniaturisiert. Mit diesen schnellen, sehr kostengünstigen und empfindlichen Tests können sowohl Chemikalien, Abwässer, Sedimente und Sickerwässer, als auch Oberflächenwässer untersucht werden.

Die Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen an Vorflutern, Abwässern und Sickerwässern mit verschiedenen Indikatororganismen aller trophischen Niveaus werden dargestellt.

Im Rahmen der Forschungsarbeit am Institut für Wassergüte und Abfallwirtschaft der Technischen Universität Wien wurden neben den standardisierten Ökotoxizitätstests auch Mikrobiotests mit Zysten verschiedener aquatischer Organismen (Toxkits) durchgeführt. Eine Auswahl der Ergebnisse wird dargestellt.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- APHA/AWWA/WPCF(1989): Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 17th edit.-Americ. Publ. Health Ass.Washington
- ASTM E 1440(1991): Standard Guide for Acute Toxicity Test with the Rotifer Brachionus
- ASTM E 1295(1989): Standard Guide for Conducting Three-Brood, Renewal Toxicity Tests with Ceriodaphnia dubia
- BUTLER,G.C.(1978): Principles of Ecotoxicology-Scope 12, Verl. J.,. Wiley and Sons, Chichester
- CHIRAS,D.D.(1985): Environmental Science-The Benjamin/Cummings Publ. Comp.,Inc.
- DIN 38412,Teil 1 (1982): Allgemeine Hinweise zur Planung, Durchführung und Auswertung biologischer Testverfahren
- DIN 38412, Teil 30 (1989): Bestimmung der nicht akut giftigen Verdünnungsstufe von Abwasser gegenüber Daphnien
- DIN 38412 Teil 31(1989): Bestimmung der nicht akut giftigen Verdünnungsstufe von Abwasser gegenüber Fischen
- DIN 38412 Teil 33 (1991): Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen
- DIN 38412 Teil 34 (1991): Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von Photobacterium phosphoreum; Test mit gefriergetrockneten Bakterien
- DIN 38412 Teil 8 (1989): Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserinhaltsstoffen auf Bakterien (Pseudomonas-Zellvermehrungs-Hemmtest)

- EG (1984): Methoden zur Bestimmung der Ökotoxizität:  
Akute Toxizität für Daphnien-Nr. L 251/155
- EG (1984): Methoden zur Bestimmung der Ökotoxizität:  
Akute Toxizität für Fische-Nr. L 251/146
- EPA,USA (1984): Ceriodaphnia reticulata Seven-Day Survival  
and Reproduction Test
- HELLAWELL,J.M. (1986): Biological Indicators of Freshwater  
Pollution and Environmental Management. E.A.  
Science Publishers, London and New York
- ISO/ DIS 8692 (1987): Water quality- Algal Growth  
Inhibition Test
- JANSSEN,C.R. and G. PERSOONE(in Press): Routine Aquatic  
Toxicity Testing: some Problems and new  
approaches:Biological indicators for  
Environmental Monitoring,Editor: R.  
Revoltella
- KAROLY,G. and JANOS,O. (1980): Ammonia Tolerance of Moina  
rectirostris Leydig (Cladocera),Aquacultura  
Hungarica(Szarvas),11,50-54
- LATIF,M. (1990): Toxizitätstests mit Organismen aller  
trophischen Niveaus zur Erfassung von  
Schadstoffen in Fließgewässern und Vergleich  
der Empfindlichkeit der Testorganismen.  
Dissertation, Universität Wien
- LECHNER,P.;MOSTBAUER,P.;SCHACHERMAYER,E.(1992): Das  
Deponie- verhalten von Faserreststoffen der  
Steyrermühl Papierfabrik AG und Der  
Papierfabrik SCA Laakirchen(unveroeffentlich)
- MURPHY,P.M. (1979): Manual for toxicity tests with  
freshwater macroinvertebrates and a review of  
the effect of specific toxicants-Department  
of the Environment Contract No.  
DGR/480/486,University of Wales, Institut of  
Science and Technology, Cardiff,U.K.

- NEURURER,H. (1975): Biotests in der Herbologie-  
Z.Pfl.Krankh. 5/75, 316-328
- NUSCH,E. A. (1986): Möglichkeit und Grenzen der Aussagekraft  
Ökotoxikologischer Tests.Vom Wasser,67,213-220
- OECD (1984): Guidelines for Testing of chemicals; Alga  
Growth Inhibition Test Nr. 201
- OECD (1986): The use of Biological Tests for Water  
Pollution Assessment and Control-ENV/WAT  
86.1.
- OECD (1981):"Daphnia sp.,Acute Immobilisation Test and  
Reproduction Test"Adopted,202
- OECD (1991): Prolonged Toxicity Study With Daphnia magna:  
Effects on Reproduction,Proposal , Guideline  
202, Part II
- OECD (1981): Fisch, Acute Toxicity Test  
Adopted,203
- OECD (1992): Guideline for Testing of chemicals, proposal  
for: "Fish, Juvenile Growth Test-28  
day",Draft
- OECD (1992): Guideline for Testing of  
chemicals,"Fish,Toxicity Test on Egg and Sac-  
Fry Stages",Draft
- ÖNORM M 6263 (1984): Bestimmung der akuten Toxizität von  
Wasserinhaltsstoffen gegenüber Salmo  
gairdneri Richardson (Regenbogenforelle)
- ÖNORM M 6264 (1984): Bestimmung der akuten Toxizität von  
Wasserinhaltsstoffen gegenüber Daphnia magna  
Straus (Cladocera, Crustacea)
- PERSOONE,G. (1991): Cyst-based Toxicity Tests:1.-Apromising  
new Tool for rapid and cost effective  
toxicity screening of chemicals and  
effluents.Zeitschrift für Angewandte  
Zoologie,235-241

PERSOONE,G. and VAN DE VEL,G. (1987): Cost-analysis of 5 current Aquatic Ecotoxicological Tests,report EUR 1134EN. Commission of the European Communities,Brussels.

PETERS,R.H. and DE BERNARDI,R.C. (1987): "Daphnia" Mem. Inst. Ital.Idrobiol., Consiglio Nazionale Delle Ricerche. Istituto Stalione Di Idrobiologia-Verbania Pallanza

RODINGER,W.;KOLLER-KREIMEL,V. und LATIF,M. (1987): Biotests im Rahmen der Gewässergüteuntersuchungen der Donau und March in der Umgebung Wiens;-Wasser und Abwasser 31,345-353

SCHEUBEL,J. und SCHÖBERL,P.(1981): Biologische Testverfahren,geben Aufschluß über Wirkungen von Stoffen auf unsere Umwelt.In: der Lichtbogen,hüls,199,1/30,30-39

SCHEUBEL,J.B. (1982): Biologische Testverfahren zur Erkennung der Wirkung von Substanzen auf unsere Umwelt.23. Arbeitstagung der IAD,Wien,162-174

**Verfasserin:**

Mag. Dr. rer. nat. Muna LATIF  
Institut für Wassergüte und Abfallwirtschaft  
Technische Universität Wien  
Karlsplatz 13  
A-1040 Wien