



Messverfahren zur Erfassung der potenziellen Ökotoxizität in anaeroben und aeroben Abbauprozessen

Frindt, B.¹; Millenautzki, T. ¹; Rehorek, A.¹

¹ PRA & PAT Center, University of Applied Sciences Cologne, Kaiser Wilhelm-Allee, D-50368 Leverkusen

Abstract

In this article the established methods for determining the ecotoxicity are discussed, with the aim to integrate further parameters for bioactivity in the :metabolon research community which characterize the biological processes.

The detection of toxicity is based on the introduced methods regarding the measurement of luminescence, the oxygen consumption rate or the cell number.

Selection of the best method is dependent on the properties of the contaminants, as well as the biological operating conditions for the different steps of treatment.

Kurzdarstellung

In der vorliegenden Ausarbeitung werden die etablierten Verfahren zur Bestimmung der Ökotoxizität erläutert, mit dem Ziel weitere Bioaktivitätsparameter zur Charakterisierung der biologischen Prozesse bei der Forschungsgemeinschaft :metabolon zu integrieren.

Die Erfassung der Toxizität beruht bei den vorgestellten Methoden auf der Messung der Lumineszenz, der Sauerstoffverbrauchsrate oder der Zellzahl. In Abhängigkeit von den Eigenschaften der Schadstoffe sowie der biologischen Betriebsbedingungen der Behandlungsstufen ist die Auswahl der bestmöglichen Methode erforderlich.

1 Einführung

Neben den üblichen Summenparametern, die in biologischen Behandlungsverfahren bestimmt werden, stellt die Messung der Toxizität einen praxisrelevanten Parameter der Abwasseranalytik dar. Sie bestimmt die unerwünschten Wechselwirkungen und Einflüsse der zu behandelnden Stoffe und deren Metabolite mit der eingesetzten Biomasse (Bayrisches Landesamt für Umwelt 2013). Diese Schädigungen können z.B. die Hemmung des Wachstums, des Metabolismus oder eine Verhaltensänderung hervorrufen (Bayrisches Landesamt für Umwelt 2013).

Einsatzgebiete dieser standardisierten bzw. genormten Tests sind die Umweltbewertung im Bereich Wasser, Böden und Altlasten, die Überwachung von industriellen und kommunalen Abwässern sowie die Gefährdungsabschätzung von Chemikalien in der Umwelt (Bayrisches Landesamt für Umwelt 2013).

Zur Charakterisierung der Wirkungsstärke der Substanz wird diejenige Dosis (mg/kg Körpergewicht) angegeben, die eine halbmaximale Wirkung erzielt (ED_{50} = effektive Dosis für 50% Wirkung), bzw. diejenige Konzentration [%], die eine halbmaximale Wirkung erzielt (EC_{50} = effektive Konzentration für 50% Wirkung) (Gerhard Eisenbrand 2005).

2 Anwendung der Testverfahren

2.1 Leuchtbakterien-Test

Azofarbstoffe sind für aerobe Bakterien schwer abbaubare Verbindungen, die jedoch unter anaeroben Bedingungen reaktiv gespalten werden können. Dabei entstehen aromatische Amine, die einem oxidativen Abbau durch Mikroorganismen eher zugänglich sind. Zur Bestimmung der ökologischen Toxizität in den jeweiligen Behandlungsstufen des vorhandenen Biomembranreaktorsystems wurde daher, im Rahmen einer Masterthesis, die Kopplung des Reaktorsystems an ein Online-Monitoring-System TOXcontrol® (Fa. MicroLAN) getestet (Wittmann 2005). Mit dieser Ausarbeitung sollten

Korrelationen zwischen chemischen Summenparametern, Konzentrationen der Azofarbstoffabbauprodukte und der Toxizität bestimmt werden. Bei dem Testverfahren handelt es sich um einen Leuchtbakterientest, bei dem die Hemmwirkung der Leuchtintensität der lumineszierenden Bakterien *Vibrio fischeri* gemessen wird.

Die Ergebnisse dieser Ausarbeitung zeigen, dass der Online-Biomonitor für den Betrieb an der vorhandenen Anlage modifiziert werden musste (Verdünnungen), um die Messung von Abwasserkonzentrationen zu ermöglichen. Jedoch konnten durch spezifische Leistungsdaten wie Wiederfindungsrate, Linearität der Methode und Standardabweichung die Einsetzbarkeit des Gerätes belegt werden (Wittmann 2005).

Die Stoffproben des anaeroben Reaktors, in dem aromatische Amine entstehen, wiesen eine sehr viel höhere Toxizität auf, als die Proben des aeroben Reaktors. Mit der nachgeschalteten Ultrafiltrationsstufe konnte die Toxizität zusätzlich um ein Vielfaches gesenkt werden.

2.2 Hemmung des Sauerstoffverbrauchs von Belebtschlamm

Als „Vorscreening“ für die biologische Behandlung von Stoffen, werden Atmungshemmtests durchgeführt, bei denen die potenzielle Auswirkung der Prüfsubstanz oder Abwasserprobe auf die Bakterienpopulationen getestet wird.

Bevor die zu behandelnde Substanz in die Bioreaktorsysteme eingebracht wird, kann mit diesem Vortest der toxische Konzentrationsbereich ermittelt werden (Riwe 2005).

In einem einfachen Versuchsaufbau wird die Sauerstoffverbrauchsrate mit einer Sauerstoffsonde während einer Inkubationszeit von 30 Minuten ermittelt und ermöglicht, bei der Verwendung einer Verdünnungsreihe, die Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehung (Dt. Institut für Normung 2007). Ein entsprechender Online-Analysator (Dima-CenoTox®) kann über die Firma Dimatec GmbH bezogen werden.

2.3 „Lemna minor“- Test

Zur Bestimmung der toxischen Eigenschaften bei der biologischen Behandlung von Azofarbstoffen, wurde im PRA & PAT Center der Toxizitätstest mit Wasserlinsen eingeführt. Da die Farbigkeit von Abwasserproben bei optischen Messverfahren zu Verfälschungen der Ergebnisse führen kann oder Verdünnungen notwendig macht (Ismene et al. 2008), stellt der „Lemna minor“-Test eine mögliche Alternative dar.

Bei diesem preiswerten Testverfahren wurden unterschiedliche Konzentrationen von Azofarbstoffen und Abbauprodukten mit einer definierten Anzahl von Kulturen über einen Zeitraum von sieben Tagen inkubiert.

Als Beobachtungsparameter wurde vor und nach der Inkubation die Frondanzahl (Anzahl der Blätter)

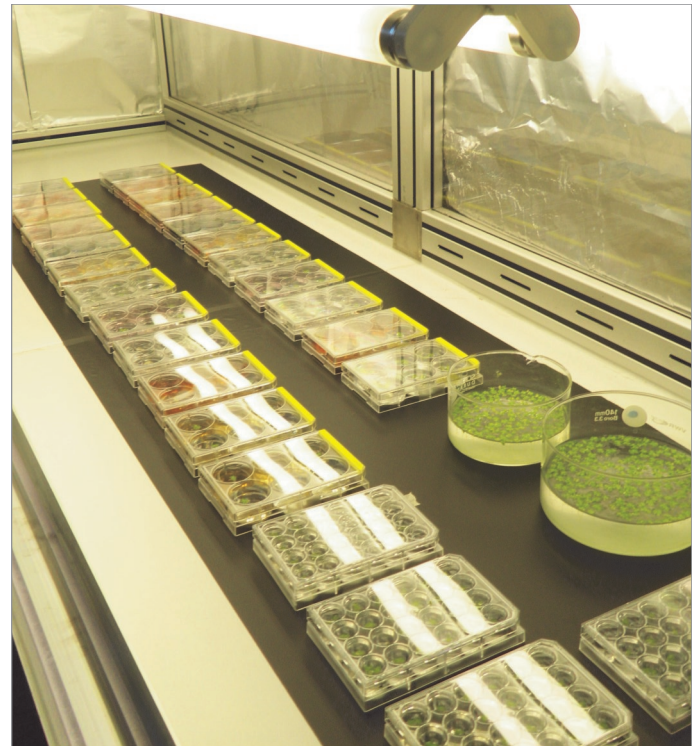


Abbildung 1: Versuchsaufbau für Toxizitätstests mittels *Lemna minor*.

Tabelle 1: Verfahren zur Bestimmung der Ökotoxizität.

| Methoden | Norm | Kurzbeschreibung |
|--|--|--|
| Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von <i>Vibrio fischeri</i> (Leuchtbakterientest) | DIN EN ISO 11348 (1-3) (Deutsches Institut für Normung 1999) | Während einer Kontaktzeit von 15-30 Minuten von der Bakterienkultur mit dem zu überprüfenden Medium, wird die Abnahme der Biolumineszenz mittels Luminometer als Hemmung des Stoffwechsels gemessen. |
| Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (<i>Scenedesmus</i> -Chlorophyll-Fluoreszenztest) | DIN 38412-33 (Deutsches Institut für Normung 1991) | Der Einfluss einer Hemmwirkung wird nach einer Kontaktzeit von 72 Stunden durch eine Chlorophyll-Fluoreszenzmessung ermittelt. |
| Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (<i>Lemna minor</i>) | DIN EN ISO 20079 (Deutsches Institut für Normung 2005) | Die Wachstumshemmung kann über die visuellen Beobachtungsparameter wie Frondanzahl (definierte Anzahl an Blättern) sowie der Frondfläche (Bedeckungsgrad einer definierten Fläche) nach einer Kontaktzeit von sieben Tagen bestimmt werden. |
| Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen | DIN 38412-30 (Deutsches Institut für Normung 1989) | Als Maß für die toxische Wirkung wird die Abnahme der Mobilität (Schwimmfähigkeit) der Organismen nach einer Expositionszeit von 24 bzw. 48 Stunden in der zu überprüfenden Substanz bestimmt. |
| Bestimmung der Hemmung des Sauerstoffverbrauchs von Belebtschlamm | DIN EN ISO 8192 (Deutsches Institut für Normung, 2007) | Die Messung der Respirationsrate (Sauerstoffverbrauch) einer vorgegebenen Menge des Belebtschlammes erfolgt vor und nach der Zugabe eines definierten Abwassers (Prüfstoff) für einen Zeitraum von 30 Minuten . |
| Zellvermehrungstest mit Hefekulturen (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) | nicht genormt (Koch 1992) | Nach jeweils 30, 90 und 210 Minuten kann die Toxizität über die Wachstumshemmung durch Zellzählung bestimmt werden. |

bestimmt, um mit der unterschiedlichen Konzentration die Dosis-Wirkungsbeziehung zu ermitteln. In Tabelle 1 sind die üblichen ökologischen Toxizitätstest mit den jeweils geltenden Normen dargestellt sowie der Zellvermehrungstest mit Hefekulturen, der von H.P. Koch als Alternativmethode zur Bestimmung der akuten Toxizität von Arzneistoffen und Umweltchemikalien genannt wird (Koch 1992).

3 Ergebnis und Diskussion

Bei der Auswahl des geeigneten Testverfahrens zur Bestimmung der ökologischen Toxizität sind mehrere Aspekte zu beachten.

Bei der Verwendung von Reinkulturen ist ein hoher Laboraufwand erforderlich, wie z.B. die Einhaltung steriler Arbeitsweise, Aufrechterhaltung von Stammkulturen und Probenvorbereitung.

Des Weiteren ist bei vielen Verfahren eine lange Inkubationszeit erforderlich (bis zu sieben Tage), wodurch eine schnelle Bestimmung der Toxizität nicht zeitnah möglich ist.

Negative Einflüsse auf einen laufenden Prozess (biologische Reinigungsstufen) können unter Umständen nicht rechtzeitig erfasst werden.

Die Verfahren eignen sich daher für die Bestimmung der chronischen Toxizität und lassen keine direkten Aussagen zu.

Zur Messung der akuten Toxizität bietet der Leuchtbakterientest schnelle Ergebnisse, jedoch muss bei diesem optischen Messprinzip die Farbigkeit von Stoffproben beachtet werden.

Für diese Proben stellt die Messung des Sauerstoffverbrauchs von Belebtschlamm oder der „*Lemna minor*“-Test eine Alternative dar. Allerdings beschränkt sich die Anwendbarkeit des Atmungstests auf aerobe Behandlungsstufen. Durch eine Modifizierung des Algentests konnte an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften in Hamburg ein statischer Algenschnelltest entwickelt werden, bei dem die Inkubationszeit auf wenige Minuten verringert wurde (Eis 2007).

Referenzen

- Bayrisches Landesamt für Umwelt, 2013. Bayrisches Landesamt für Umwelt, Toxizitätstests. http://www.lfu.bayern.de/analytik_stoffe/biol_analytik_toxizitaetstests/index.ht (22.11.13)
- Bayrisches Landesamt für Umwelt, 2013. Bayrisches Landesamt für Umwelt; Toxizitätstests – akute Schadwirkung. http://www.lfu.bayern.de/analytik_stoffe/biol_analytik_toxizitaetstests/ Zugriff am 22.11.2013
- Deutsches Institut für Normung, 1989. DIN 38412-L30, OECD 202. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung, 1991. DIN EN ISO 38412-33, OECD 201. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung, 1999. DIN EN ISO 11348 (1-3). Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung, 2005. DIN EN ISO 20079, OECD 221. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Deutsches Institut für Normung, 2007. DIN EN ISO 8192, OECD 209. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Eis, L. (2007): (Diplomarbeit) Entwicklung eines Schnelltestverfahrens zur Bestimmung toxischer Wirkungen von Wasserproben gegenüber Grünalgen. Hamburg: Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg.
- Eisenbrand, G.; Metzler, M.; Hennecke, F.J. (2005): Toxikologie für Naturwissenschaftler und Mediziner. 3. Auflage Hrsg. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Ismene, J. et al. (2008): Möglichkeiten und Grenzen der Untersuchung gefärbter Proben im Leuchtbakterientest, Bonn: Melliand Textilbericht, Deutscher Fachverlag GmbH.
- Koch, H. (1992): Der Hefe-Test: Eine Alternativmethode zur Bestimmung der akuten Toxizität von Arzneistoffen und Umweltchemikalien. In: Möglichkeiten und Grenzen der Reduktion von Tierversuchen. Wien: Springer Verlag, pp. 50-51.
- Riwe, E. (2005): (Studienarbeit) Biotestverfahren - Toxizitätstests. Köln: Fachhochschule Köln.
- Wittmann, J. (2005): (Masterthesis) Untersuchung der Toxizität von Azofarbstoffhydrolysaten in verschiedenen Behandlungsverfahren. Köln: FH Köln.