

Neue Erkenntnisse zur mikrobiologischen Qualitätsdynamik an ausgewählten Karstquellen der Nördlichen Kalkalpen mittels automatisierter und feldtauglicher Untersuchungsmethoden

*New Insights to Microbial Dynamics at Selected Karst Springs in the Northern
Calcareous Alps by Means of Automated and Site Capable Investigation Methods*

H. STADLER¹⁾, R. SOMMER^{2*)}, A. K. T. KIRSCHNER^{3*)}, G. H. REISCHER^{4*)},
R. L. MACH⁵⁾ & A. H. FARNLEITNER^{6*)}

Inhalt

	Seite
1. Einleitung	96
2. Anwendung automatisierter sowie feldtauglicher mikrobiologischer Unter- suchungsmethoden	96
2.1. Mikrobiologische Qualitätsdynamik während sommerlicher Hochwasser- ereignisse.....	97
2.1.1. Automatisierte Ereignisuntersuchung und Probennahme	97
2.1.2. Mikrobiologische Zeitserienuntersuchungen unter definierten hydrologischen Bedingungen.....	97
2.1.3. Evaluierung der Detektion von <i>E. coli</i> und Enterokokken mittels Feldmethoden.....	101
2.1.4. Der spektrale Absorptionskoeffizient bei 254 nm als Frühwarn- Proxi-Parameter für fäkale Einträge	103

¹⁾ Mag. Dr. Hermann STADLER, RESOURCES – Institut für Wasser, Energie und Nachhaltigkeit, Forschungsgruppe Wasser Ressourcen Management, JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH, Elisabethstraße 18/II, A-8010 Graz, Österreich. E-Mail: hermann.stadler@joanneum.at

²⁾ Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. Regina SOMMER, Medizinische Universität Wien, Institut für Hygiene und Angewandte Immunologie, Kinderspitalgasse 15, A-1090 Wien, Österreich.
E-Mail: regina.sommer@meduniwien.ac.at

³⁾ Ass.-Prof. Mag. Dr. Alexander K. T. KIRSCHNER, Medizinische Universität Wien, Institut für Hygiene und Angewandte Immunologie, Kinderspitalgasse 15, A-1090 Wien, Austria.
E-Mail: alexander.kirschner@meduniv.wien.ac.at

⁴⁾ Dipl.-Ing. Dr. Georg H. REISCHER, Technische Universität Wien, Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und Technische Biowissenschaften, Arbeitsgruppe Gentechnik, Gumpendorferstraße 1A, A-1060 Wien, Österreich. E-Mail: georg.reischer@tuwien.ac.at

⁵⁾ Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Robert L. MACH, Technische Universität Wien, Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und Technische Biowissenschaften, Arbeitsgruppe Gentechnik, Gumpendorferstraße 1A, A-1060 Wien, Österreich. E-Mail: robert.mach@tuwien.ac.at

⁶⁾ Privatdoz. Mag. Dr. Andreas H. FARNLEITNER, MSc, MSc Tox., Technische Universität Wien, Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und Technische Biowissenschaften, Arbeitsgruppe Gentechnik, Gumpendorferstraße 1A, A-1060 Wien, Österreich. E-Mail: andreas.farnleitner@wavenet.at

* Interuniversitäres Kooperationszentrum Wasser und Gesundheit, www.waterandhealth.at

3. Fazit.....	105
Zusammenfassung.....	106
Literatur.....	106
Summary.....	107
Dank.....	108

1. Einleitung

Alpine Karstgrundwässer stellen für viele Länder des Alpenraumes wertvolle Wasserressourcen dar – so auch für Österreich. Hier werden 21,6% der Landesfläche aus verkarstungsfähigem Gestein gebildet (M. KRALIK, 2001), wovon etwa 50% der Bevölkerung mit Trinkwasser versorgt werden (F. ZWAHLEN, 2003). Weltweit werden etwa 25% der Bevölkerung mit Trinkwasser aus Karstgebieten versorgt, die etwa 12,5% der festen Landoberfläche einnehmen (J. B. MARTIN & W. B. WHITE, 2008).

Die hohe Abfluss- und Speicherdynamik von Karstquellen stellt besondere Anforderungen an das Qualitätsmanagement, wenn derartige Karstwasserressourcen als Trinkwasser verwendet werden sollen.

Obwohl ereignisbezogene Untersuchungen im Bereich der Hydrogeologie seit vielen Jahren zum Standardrepertoire zählen und schon früh erste Ereignisbeobachtungen belegt sind (F. THINNFELD, 1873), fehlten diese bis dato weitgehend bezüglich mikrobiologischer Parameter. Die vorliegende Arbeit stellt eine Zusammenstellung von vier Probenungen sommerlicher Starkregenereignisse dar.

2. Anwendung automatisierter sowie feldtauglicher mikrobiologischer Untersuchungsmethoden

Die hier vorgestellten Ergebnisse wurden anhand von Untersuchungs- und Messmethoden, die im Zuge des Forschungsprojektes „Mikrobiologie alpiner Karstquellwässer“ etabliert, evaluiert bzw. entwickelt wurden, gewonnen (A. H. FARNLEITNER et al., 2011a). Diese Verfahren und Parameter wurden an ausgewählten repräsentativen Quellen und deren Einzugsgebieten angewendet.

In diesem Zusammenhang ist zu betonen, dass vor allem die Integration mit hydrologischen Methoden eine wichtige Voraussetzung war, um unter definierten und reproduzierbaren „Systembedingungen“ an den Quellwässern arbeiten zu können. Die hier dargestellten Ergebnisse repräsentieren den ersten wichtigen Bereich einer neu etablierten Verfahrensweise zur integrativen Analyse und zu pro-aktivem Management mikrobiologischer Qualitätsparameter für alpine Karstwasserressourcen. Diese integrative Verfahrensweise beinhaltet

- die Analyse der mikrobiologischen Rohwasserqualität auf zeitlich unterschiedlichen Auflösungsniveaus (d.h. Analyse mittels Laborverfahren, Feldmethoden sowie nahe Echtzeit-Proxy-Methoden – siehe diese Publikation),
- den Einsatz von Methoden zur Herkunftsbestimmung mikrobiologischer Einträge zum zielgerichteten Ressourcenschutz und zur Optimierung im Einzugsgebiet (vgl. G. H. REISCHER et al., 2011, A. H. FARNLEITNER et al., 2011b),

- die Möglichkeit zur Kopplung mit einer umfassenden mikrobiologischen Qualitäts- und Sicherheitsanalyse im Zuge gesamtheitlicher Systembetrachtungen bei der Erstellung von Wassersicherheitsplänen (G. STALDER et al., 2011a, G. STALDER et al., 2011b).

2.1. Mikrobiologische Qualitätsdynamik während sommerlicher Hochwasserereignisse

Die Untersuchung von Hochwasserereignissen an alpinen Karstquellen stellt traditionell eine sehr probate Herangehensweise zur Analyse und Charakterisierung der Abfluss- und Speicherdynamik sowie der Stofftransferdynamik dar. Obwohl hydrologische, physikalische und chemische Parameter im Zuge dieser Untersuchungen regelmäßig erhoben wurden, fanden mikrobiologische Parameter bis dato kaum Berücksichtigung. Die Ursachen sind einerseits in der Herausforderung der Probenentnahme, andererseits in der zeitgerechten Analyse zu finden. Mikrobiologische Verfahren benötigen darüber hinaus zumeist eine spezielle Laborinfrastruktur.

2.1.1. Automatisierte Ereignisuntersuchung und Probennahme

Im Zuge der hier vorgestellten Arbeiten wurde ein vor Kurzem etabliertes Verfahren zur automatisierten Ereignisbeprobung sowie integrierter Untersuchung von hydrologischen, chemo-physikalischen und mikrobiologischen Parametern in Anwendung gebracht. Eine detaillierte Beschreibung erfolgte bereits in früheren Publikationen (H. STADLER et al., 2008a, H. STADLER et al., 2010a).

Die automatisierte Probennahme wurde mit Probennehmern von BÜHLER (PB MOS) durchgeführt. Die Entnahme erfolgt im Vakuumprinzip, sodass das Probenmedium nur mit dem Saugschlauch, dem Dosiergefäß und den Verteilern in Berührung kommt. Saugschlauch und Dosiergefäß werden vor jeder Probennahme gespült und ausgeblasen, sodass eine Beeinflussung zwischen aufeinanderfolgenden Proben weitgehend verhindert werden kann.

Das System beruht auf der Vernetzung einer Niederschlagsstation mit ein oder mehreren Quellbeprobungsstationen über Satellitenverbindungen (H. STADLER et al., 2008a). Als Kommunikationsschiene wurden sogenannte LEOS (Low Earth Orbiting Satellites) gewählt, da diese auch sehr enge alpine Täler lückenlos abdecken und keinerlei terrestrische Kommunikationsinfrastruktur benötigen. Ferner sind durch die geringe Erdentfernung der Satelliten nur einfache Stabantennen und geringe Energiemengen notwendig (Möglichkeit der autarken Solarversorgung des gesamten Systems). Die Niederschlagsstation ist auch zur Beprobung des Niederschlags ausgerüstet. Des Weiteren liefert sie den Trigger für die Quellstation und ermöglicht so das Ziehen einer „Nullprobe“, also einer Probe vor Beginn des Ereignisses. Dies ist zur Systembeurteilung besonders wichtig. Der Schüttungsanstieg nach dem Niederschlagsereignis liefert an der Quellstation das zweite Triggerkriterium und startet bei ausreichender Größe die automatische Dauerbeprobung. Alle Daten der Ereignisbeprobung können über ein Webportal in Echtzeit visualisiert werden. Das Betreuungsteam vor Ort wird über SMS vom Stand der Beprobung informiert.

2.1.2. Mikrobiologische Zeitserienuntersuchungen unter definierten hydrologischen Bedingungen

Mit Hilfe des bereits früher dargestellten Systems (H. STADLER et al., 2008b und H. STADLER et al., 2010a) wurde es nun erstmals möglich, mikrobiologische Parameter zielgerichtet während Hochwasserereignissen an schwer zugänglichen alpinen Karst-

quellwässern zu erheben und diese mit hydrologischen Parametern gemeinsam zu interpretieren. Die Untersuchungen waren dabei auf die Analyse von Schüttungsereignissen nach sommerlichen Starkregen ausgerichtet, um in den Einzugsgebieten alle potenziellen Fäkaleintragsquellen vertreten zu wissen (Tourismus, Wildtiere und Almwirtschaft). Die Strategie der mikrobiologischen Untersuchung war dabei einerseits auf eine hoch auflösende automatische Ereignisbeprobung, andererseits auf eine dazu komplementäre – an repräsentativen Zeitpunkten des Ereignisses durchgeführte – händische Probenentnahme ausgerichtet (A. H. FARNLEITNER et al., 2007). Die Kombination dieser Probenentnahmen ermöglicht einerseits eine hohe zeitliche Untersuchungsfrequenz für einen ausgewählten repräsentativen mikrobiologischen Parameter, andererseits die notwendige Breite an unterschiedlichen Parametern zu ausgewählten Zeitpunkten. Wie bereits weiter oben dargestellt, wurden die hydrologischen und chemo-physikalischen Parameter online erhoben. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnten vier isolierte Sommerereignisse in den Jahren 2005 bis 2008 an den Karstquellen LKAS2, LKAS6 und LKAS8 untersucht werden. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Ereignischarakteristika (Regenereignisse, Reaktionszeiten etc.) sowie die Anzahl der automatischen Probenentnahmen. *Escherichia coli* wurde als Parameter zur hochauflösenden Untersuchung gewählt (H. STADLER et al., 2008b). Dafür waren vor allem zwei Gründe ausschlaggebend:

- hervorragende Zeigereigenschaften für rezente fäkale Einträge in alpinen Karstquellwässern sowie
- die Nachweisbarkeit mittels Feldmethoden vor Ort (vgl. Kap. 2.1.3).

Die dafür notwendigen Proben wurden anhand automatisierter Probennehmer in sterilen 100 ml Gefäßen gezogen und nach maximal 24 h Lagerung bei In-Situ-Quellwassertemperatur (5–6°C) von Mitarbeitern der Wasserwerke analysiert (Colilert-18-Verfahren; IDEXX, USA). Reduktionen der Koloniezahlen, d.h. Absterben der Zellen, aufgrund (unterschiedlich langer) Lagerung der Proben im Probenentnahmegesetz wurde anhand dafür eigens ermittelter Reduktionskoeffizienten korrigiert. Die Koeffizienten waren im Bereich von 0,10/d bis 0,14/d angesiedelt, d.h. die ermittelten Koloniezahlen von *E. coli* in Quellwasser werden bei Lagerung im Schnitt alle 5–7 d auf die Hälfte reduziert.

Die mikrobiologischen Untersuchungen auf Basis der automatisierten Probenentnahmen zeigte sehr deutlich die Ereignisabhängigkeit mikrobiologischer Aktivitäten (Fig. 1). Abhängig vom Quell- und Ereignistypus sowie der jeweiligen Situation im Einzugsgebiet (z. B. Ausmaß oberflächenverfügbarer Fäkalien) konnten starke Konzentrationsdynamiken verzeichnet werden. So stieg die *E. coli* Koloniezahl in der LKAS2 während der 2005 und 2006 untersuchten Sommerereignisse innerhalb weniger Stunden von $\leq 1\text{--}5$ KBE/100 ml auf $> 200\text{--}300$ KBE/100 ml an, um danach über mehrere Tage hinweg wieder abzuklingen. Generell konnten *E. coli* Konzentrationsanstiege von 60- bis 1600fach innerhalb weniger Stunden an den von 2005 bis 2008 untersuchten Hochsommerereignissen verzeichnet werden (Tab. 1). Die gewonnenen Ergebnisse demonstrieren eindrucksvoll die Bedeutung der Quellbewirtschaftung zur Gewährleistung einer optimalen Rohwasserqualität.

Bei allen untersuchten Ereignissen konnten aus mikrobiologischer Sicht drei – in der Abfolge gleichbleibende – Phasen unterschieden werden (A. H. FARNLEITNER et al., 2007, H. STADLER et al., 2010b). Die Länge und Ausprägung der einzelnen Phasen war jedoch gemäß Quell- und Ereignistypus sehr unterschiedlich. Im Folgenden wird ein Erklärungsmodell zu diesen beobachteten Phasen gegeben:

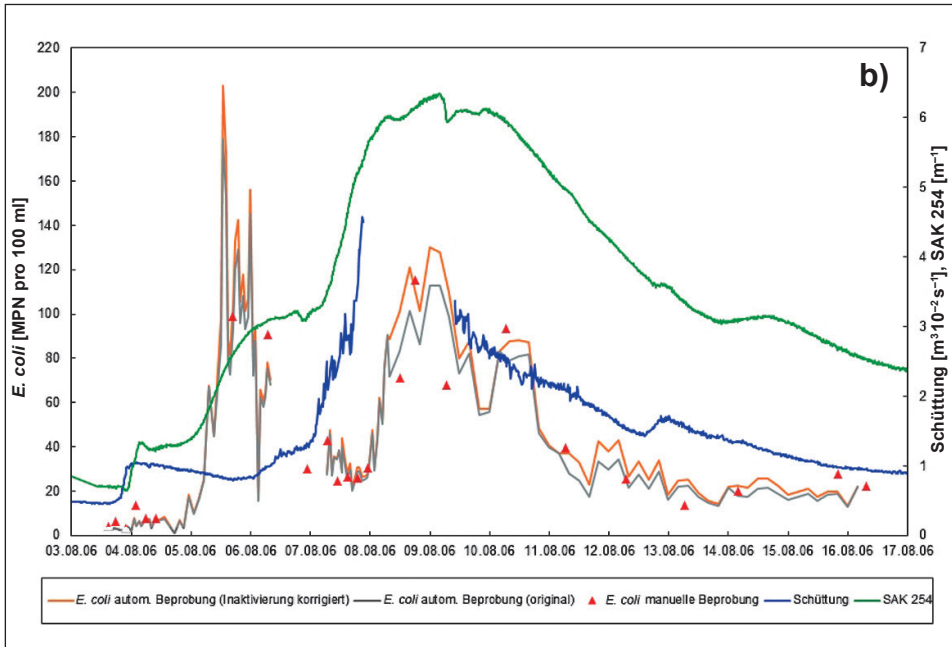
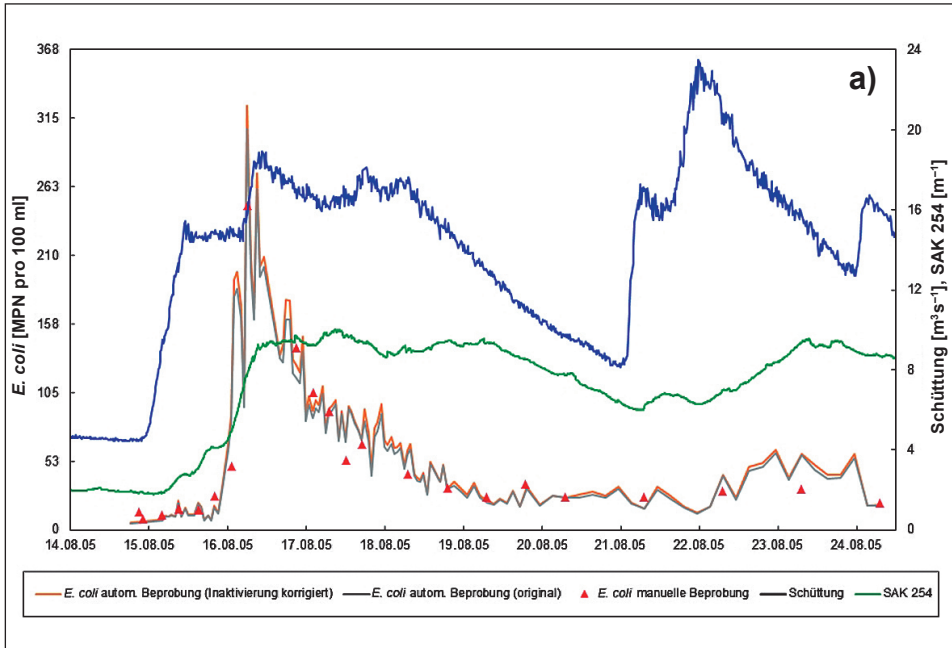


Fig. 1: Ergebnisse der Ereignisbeprobung LKAS2 im Sommer 2005 (a) und LKAS2 Sommer 2006 (b). SAK254 – spektraler Absorptionskoeffizient bei 254 nm, MPN – höchstwahrscheinliche Anzahl. Results of event-sampling LKAS2 during summer 2005 (a) and summer 2006 (b). SAK254 – spectral absorption coefficient at 254 nm, MPN – most probably number.

Tab. 1: Übersichtstabelle der untersuchten Hochwasserereignisse von 2005 bis 2008 an den Quellen LKAS2, LKAS8 und LKAS6. MQ – mittlere Schüttung, NQT – niedrigstes Tagesmittel der Schüttung, HQT – höchstes Tagesmittel der Schüttung, FNU – Formazine Nephelometric Units.
 Outline over the investigated storm events from 2005 to 2008 at the springs LKAS2, LKAS8 and LKAS6. MQ – mean discharge, NQT – lowest daily mean discharge, HQT – highest daily mean discharge, FNU – Formazin Nephelometric Units.

Übersichtsdaten	LKAS2	LKAS2	LKAS8	LKAS6
MQ [ls ⁻¹]	5100	5100	589	254
NQT [ls ⁻¹]	443	443	170	87
HQT [ls ⁻¹]	34273	34273	1950	1379
HQT:NQT	1:77,4	1:77,4	1:11,5	1:15,9
Ereignisbezogene Daten	LKAS2 Event 2005	LKAS2 Event 2006	LKAS8 Event 2007	LKAS6 Event 2008
Niederschlag [mm] 1. Tag	43,0	28,3	53,0	52,7
Niederschlag [mm] 2. Tag	45,3	128,4	0,2	18,9
Niederschlag [mm] gesamt	88,3	156,7	53,2	71,6
Reaktionszeit [hh:mm]	02:45	08:15	03:10	05:19
Zeitpunkt des Niederschlagstriggers	14.08.2005 18:10	03.08.2006 13:25	09.08.2007 18:45	15.08.2008 13:43
Zeitpunkt der Nullprobenahme	14.08.2005 18:23	03.08.2006 14:40	09.08.2007 18:51	15.08.2008 15:25
Ende der automatischen Beprobung	24.08.2005 07:15	16.08.2006 03:51	07.09.2007 04:50	27.08.2008 10:10
Dauer der Beprobung [dd:hh:mm]	09:12:52	12:23:11	28:09:58	11:18:44
Q Beginn [ls ⁻¹]	4536	4553	352	214
Q max [ls ⁻¹]	23524	45713	1781	539
Δ Q [ls ⁻¹]	18988	41160	1429	325
SAK254 min [abs m ⁻¹]	1,78	0,65	0,55	0,52
SAK254 max [abs m ⁻¹]	10,02	6,31	2,48	8,18
Δ SAK254 [abs m ⁻¹]	8,24	5,66	1,93	7,66
Vorlaufzeit SAK254 vs. <i>E. coli</i> [hh:mm]	03:00	06:00	06:00	05:00
<i>E. coli</i> min [Colilert 100ml ⁻¹]	5	2	0	2
<i>E. coli</i> max [Colilert 100ml ⁻¹]	307,6	178,9	1553,1	2419,6
Δ <i>E. coli</i> [Colilert 100ml ⁻¹]	302,6	176,9	1553,1	2417,6
Exponentialkoeffizient <i>E. coli</i> vs. Zeit	11,85	3,74	3,39	38,89
Lineare Korrelation SAK254 vs. <i>E. coli</i> : Steigung	0,0097	0,0079	0,0006	0,0017
Lineare Korrelation SAK254 vs. <i>E. coli</i> : R ²	0,95	0,78	0,78	0,99
Trübung min [FNU]	0,23	0,21	0,07	0,09
Trübung max [FNU]	2,90	12,06	3,77	2,55
Δ Trübung [FNU]	2,67	11,85	3,70	2,46
Probenanzahl: automatisch	128	121	268	214
Probenanzahl: händisch	25	28	44	29

- **PHASE I:** Durch das rasche Eindringen von Oberflächenabflüssen in die Aquifere wird ein hydraulischer Druck auf das bereits vorhandene Grundwasser ausgeübt. Dies führt zu einem Anstieg der Schüttung und Mobilisierung von Aquifersedimenten. Durch diese interne Sedimentmobilisierung und dem verstärkten Abrieb von Biofilmen in den Aquiferbereichen kommt es in dieser Phase im Quellwasser daher hauptsächlich zu einer Zunahme an suspendierten natürlichen Quellwassermikroorganismen (vgl. natürliche AMEC Gemeinschaften, A. H. FARNLEITNER et al., 2005). Unmittelbar oberflächeneingetragene Mikroorganismen sind in dieser Phase nicht zu detektieren.
- **PHASE II:** In dieser Phase erreichen die von der Oberfläche eingetragenen Stoffe (z.B. DOC – Gelöster organischer Kohlenstoff, Nährstoffe, Partikel, Mikroorganismen, chemische Substanzen) den Quellbereich (Stofftransport). In dieser Phase kommt es zu einem exponentiellen Anstieg von oberflächenassoziierten Mikroorganismen. Der oben genannte Anstieg von *E. coli* ist ein Beispiel dafür.
- **PHASE III:** In dieser Phase kommt es bei rückgängiger Schüttung zu einem teilweise exponentiellen Rückgang von stoffbezogenen Parametern. Auch die mikrobiologisch-hygienischen Parameter zeigen diese Verlaufscharakteristik.

Für Phase II und III konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass eine hohe Korrelation zwischen den Konzentrationen der unterschiedlichen mikrobiologischen Fraktionen (Fäkalindikatoren, Saprophyten, Phagenpartikel, Protozoen etc.) an den untersuchten Quellen bestehen. Unabhängig von ihrer Größe und Persistenz werden Mikroorganismen in Phase II/III von der Oberfläche aus zu den Quellbereichen transferiert. Aufgrund der beobachteten hohen Korrelation zwischen den untersuchten mikrobiellen Fraktionen kann davon ausgegangen werden, dass *E. coli* – neben seiner Rolle als exzellenter bakterieller Fäkalindikator – ebenso einen guten stellvertretenden Indikator für die unmittelbare Oberflächenbeeinflussung anderer hygienisch relevanter Mikroorganismen sowie potenziell auftretende fäkalassoziierte Pathogene in alpinen Karstquellwässern darstellt (siehe A. H. FARNLEITNER et al., 2007, A. H. FARNLEITNER et al., 2010). Durch die Tatsache, dass beide Parameter (*E. coli* und SAK254 – spektraler Absorptionskoeffizient bei 254 nm) stark oberflächenassoziiert sind, stellen die Ergebnisse auch allgemeine Hinweise auf oberflächliche Eintragsmöglichkeiten dar.

2.1.3. Evaluierung der Detektion von *E. coli* und Enterokokken mittels Feldmethoden

Der Nachweis von *E. coli* und Enterokokken gemäß Standardmethodik (z.B. ISO 9308-1, ISO-7899-2) setzt die Verfügbarkeit eines mikrobiologischen Labors voraus. Da in der Regel weite Strecken zwischen den zu untersuchenden Quellen und den entsprechenden Labors zurückgelegt werden müssen, sind der Anzahl konventioneller Untersuchungen klare Grenzen gesetzt. Untersuchungen in der Vergangenheit waren daher auf wenige Zeitpunkte im Jahr beschränkt. Um die zeitlich hohe hydrologische Dynamik der Quellen abdecken zu können, sind häufigere Untersuchungen wünschenswert. Feldmessungen werden daher seit einiger Zeit von den Wasserwerken vor Ort durchgeführt. Umso wichtiger war es daher die Aussagekraft dieser Untersuchungsmethoden festzustellen.

Im gegenständlichen Fall handelt es sich um das Colilert- bzw. Enterolert-Verfahren zum Nachweis von *E. coli* und Enterokokken (IDEXX). Eine generelle Gemeinsamkeit all dieser Methoden ist ihre einfache Handhabbarkeit auch unter erschwerten Feldbedingungen. Im Zuge der Projektdurchführung wurde die Vergleichbarkeit des Colilert- und Enterolert-Verfahrens mit den entsprechenden Standardmethoden für alpine Quellwässer überprüft.

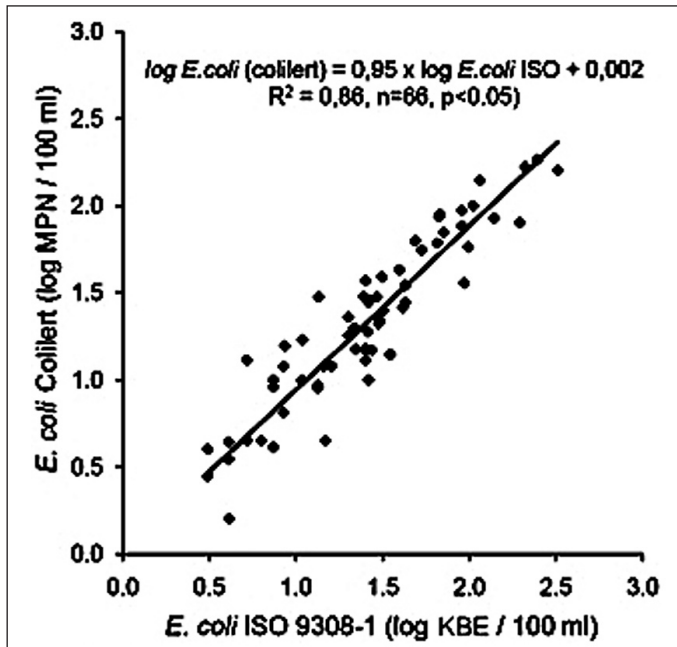


Fig. 2: Vergleichende Untersuchung zur Quantifizierung von *E. coli* mittels Standardverfahren (ISO 9308-1) versus Colilert-Feldmethode. KBE – Kolonie bildende Einheiten, log – Zehnerlogarithmus, MPN – höchstwahrscheinliche Anzahl. Die Unterschiede in den Einheiten ergeben sich aus dem Umstand, dass es sich bei der ISO-Methodik um ein Membranfiltrationsverfahren handelt, wogegen das Colilert-Verfahren die Quantifizierung anhand von Flüssigkulturen vornimmt.

Comparative investigations for quantification of *E. coli* with standard method (ISO 9308-1) versus Colilert field method. KBE – colony forming unit, log – common logarithm, MPN – most probably number. The differences of the units are caused in the different methods. ISO method is a membran filtration method, Colilert method quantifies by means of liquid cultivation.

Parallel durchgeführte Vergleichsmessungen mit Proben aus der LKAS2 zeigten für das Colilert-Verfahren eine gute Übereinstimmung mit dem ISO 9308-1 Standardverfahren für den Parameter *E. coli* (Fig. 2). Lediglich die Sensitivität des ISO-Verfahrens zeigte einen Trend zu erhöhten *E. coli* Werten bei steigenden Nachweiskonzentrationen (siehe Fig. 2, Steigung 0,95). Da das entsprechende ISO-Verfahren bekanntermaßen eine hohe Sensitivität jedoch geringe Spezifität aufweist, ist diese Diskrepanz durchaus zu erwarten. Die erhaltenen Ergebnisse konnten in weiterer Folge auch für die Quellen der LKAS6 und LKAS8 bestätigt werden. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass der durch Probenlagerung bei In-Situ-Temperaturen (~5–6 °C) verursachte Bestimmungsfehler ≤5% war, wenn die Proben innerhalb von 8 h aufgearbeitet wurden.

Das Enterolert-Verfahren zur Quantifizierung von Enterokokken (ISO 7899-2) resultierte im Vergleich mit dem Standardverfahren in unterschiedlichen Ergebnissen. Beide Verfahrensvarianten der Enterolert-Methode (Enterolert und Enterolert-E zeigten im Bezug zum Standardverfahren eine weit schlechtere Sensitivität. Besonders im Messbereich < 10 MPN (höchst wahrscheinliche Anzahl)/100 ml traten hohe falsch negative Nachweisraten für das Enterolert-Verfahren auf. Dies führte zu einer inakzeptablen Nachweisgrenze (Fig. 3). Beide Varianten dieses Feldnachweisverfahrens liefern daher unbrauchbare Ergebnisse.

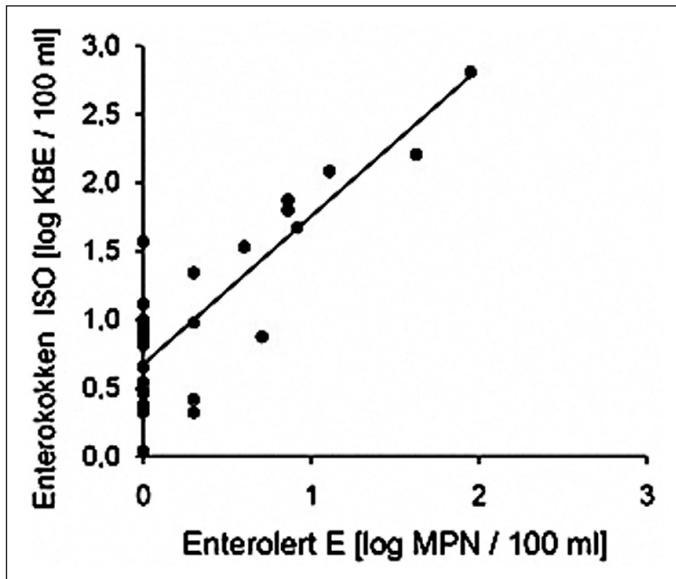


Fig. 3: Vergleichende Untersuchung zur Quantifizierung von Enterokokken mittels Standardverfahren (ISO 7899-2) versus Enterolert-Feldmethode. KBE – Kolonie bildende Einheiten, log – Zehnerlogarithmus, MPN – höchstwahrscheinliche Anzahl. Die Ergebnisse zeigen die Resultate der Enterolert-E-Messungen.

Comparative investigations for quantification of Enterokokki with standard method (ISO 7899-2) versus Enterolert field method. KBE – colony forming unit, log – common logarithm, MPN – most probably number. The results show the Enterolert-E results.

Abschließend kann festgehalten werden, dass das Colilert-Verfahren eine sehr brauchbare Feldmethode zur Quantifizierung von *E. coli* in alpinem Quellwasser darstellt. Mit Hilfe dieser Methodik können Untersuchungen vor Ort in einer größeren Zahl durchgeführt werden, um Einblicke in die Qualitätsdynamik alpiner Quellwässer zu ermöglichen.

In Kombination mit automatischen Probenentnahmeggeräten ist dieses Verfahren auch bestens geeignet, um Zeitreihen von Hochwasserereignissen zu etablieren. Es soll betont werden, dass diese Verfahren kein Ersatz für behördlich durchgeführte Untersuchungen basierend auf standardisierten Methoden darstellen. Dennoch ist diese Methode bestens für ein betriebsinternes zeitaufgelöstes Monitoring geeignet. Im Gegensatz dazu stellen Enterolert-Systeme derzeit keine brauchbaren Feldmethoden zur Quantifizierung von Enterokokken in alpinen Quellwässern dar.

2.1.4. Der spektrale Absorptionskoeffizient bei 254 nm als Frühwarn-Proxi-Parameter für fäkale Einträge

Der kultivierungsbasierende Nachweis fäkaler mikrobiologischer Einträge in alpine Karstquellwässer benötigt selbst bei Anwendung von „schnelleren“ Feldmethoden zumindest 18 h. Eine Quellbewirtschaftung, die sehr schnell auf entsprechende Qualitätsveränderungen der Wässer reagieren muss (d. h. „Ausleiten“ der Quelle bei Überschreitung entsprechender Qualitätskriterien), ist daher auf Basis dieser kultivierungsbasierenden Verfahren völlig unmöglich.

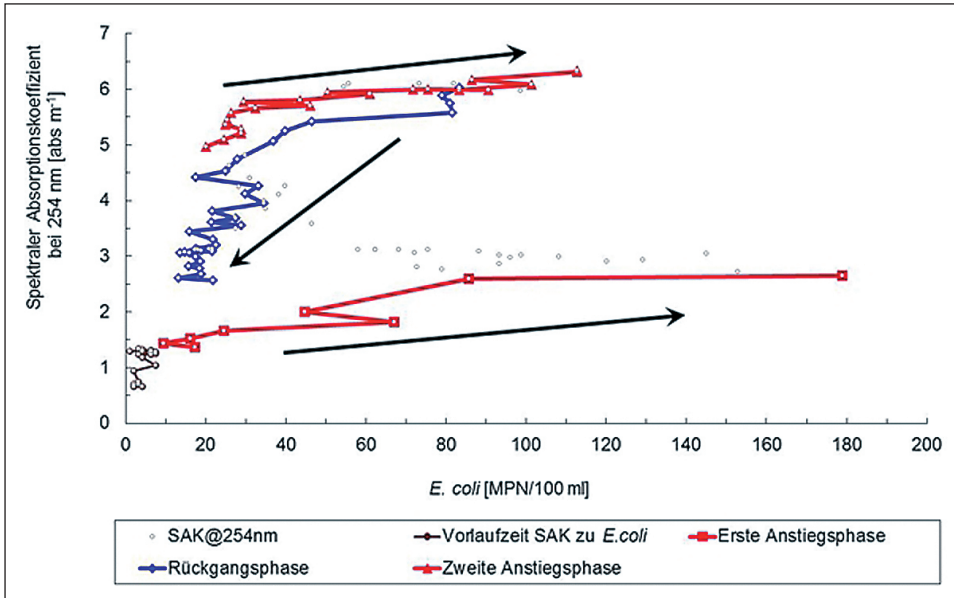


Fig. 4: Beispiel der durchgeführten Korrelationsanalysen (Event LKAS2 2006 von *E. coli* Konzentrationen versus spektralen Absorptionskoeffizient bei 254 nm (SAK254). MPN – höchst wahrscheinliche Anzahl. Die Phasen der Vorlaufzeit, des ersten und zweiten Anstieges sowie des Rückganges sind dargestellt.

Example of the correlation analyses (event LKAS2 2006) of *E. coli* concentrations versus SAK254. SAK254 – spectral absorption coefficient at 254 nm, MPN – most probably number. The phases of lead time, first and second boost and decrease are shown.

Geeignete Steuer- oder Leitparameter der Wasserqualität müssen in Echtzeit oder zumindest in „Nahe-Echtzeit“ an den Quellen direkt erfassbar sein, um rasch die entsprechenden Schritte setzen zu können. Seit einigen Jahren wird eine Online-Erfassung der Parameter Trübung und SAK254 routinemäßig an vielen Quellwässern durchgeführt. In den untersuchten Gebieten kann davon ausgegangen werden, dass Trübung ein nicht eindeutig oberflächenassoziierter Parameter ist. Aufgrund des zum SAK254 unterschiedlichen Verlaufs während der untersuchten Ereignisse wird davon ausgegangen, dass ein wesentlicher Anteil der auftretenden Trübungen aus dem Karstsystem mobilisiert wird. Erhöhte Durchflussmengen in den Karsthohlräumen, die erhöhte Drücke, Scherkräfte und Fließgeschwindigkeiten bewirken, führen zur Mobilisierung von Trübung verursachenden Schwebstoffen aus den in den Karstgängen abgelagerten Sedimenten. Dies erklärt die unmittelbar nach Beginn von Schüttungsanstiegen auftretenden Trübungserhöhungen. Der Beginn der SAK254-Anstiege erfolgt jeweils nach dem Trübungsanstieg. Der SAK254 wird dabei als Proxy-Parameter zur Erfassung des Eintrages von gelöstem organischem Material (DOC) verwendet. Ein direkter Zusammenhang zwischen dem SAK254 und dem Eintrag von oberflächenassozierten Mikroorganismen war bislang noch nicht bekannt. Die detaillierte Analyse der untersuchten Ereignisse von 2005 bis 2008 mit >800 *E. coli* Einzelbestimmungen aus den automatisierten Probenentnahmen zeigten jedoch interessante und grundlegende Beziehungen (Fig. 4).

Während aller Untersuchungen stieg zu Beginn der Ereignisse der SAK254 in der sogenannten Vorlaufphase (3–6 h) an, während im Gegensatz dazu *E. coli* Koloniezahlen

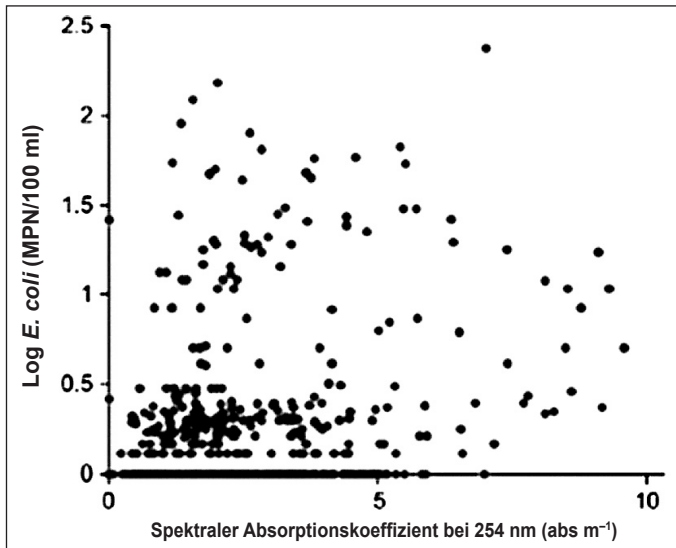


Fig. 5: Korrelationsanalyse von *E. coli* versus spektralen Absorptionskoeffizienten bei 254 nm (SAK254) auf Basis saisonaler Messwerte von 2005 bis 2006 (LKAS2). MPN – höchst wahrscheinliche Anzahl.
Correlation analyses of *E. coli* versus spectral absorptions coefficient at 254 nm (SAK254) based on seasonal values from 2005 to 2006 (LKAS2). MPN – most probably number.

nicht anstiegen oder nicht nachzuweisen waren (H. STADLER et al., 2010b). Erst in der darauffolgenden ersten und zweiten Anstiegsphase war jeweils eine hohe Korrelation zwischen dem SAK254 und den *E. coli* Koloniezahlen zu verzeichnen.

Die beobachteten Korrelationen in diesen Phasen waren durch einen starken Zusammenhang gekennzeichnet, die Steigungskoeffizienten (d.h. Anstieg *E. coli* Koloniezahl pro Anstieg SAK254) waren aber je nach untersuchtem Ereignis- und Quelltypus sehr unterschiedlich. Eine „globale“ Korrelation zwischen SAK254 und *E. coli* Koloniezahlen ist daher – wie hinlänglich bekannt war – nicht gegeben (Fig. 5). Ein starker Zusammenhang innerhalb der angesprochenen Phasen war für alle untersuchten Ereignisse gegeben (Fig. 4). Aufgrund dieser Beziehungen kann der SAK254 als konservativer online erfassbarer Frühwarn-Proxy-Parameter für fäkale Einträge aufgefasst werden. Seine Veränderung zu Beginn eines Ereignisses indiziert entweder das unmittelbare Bevorstehen (Vorlaufphase) oder das unmittelbare Ansteigen von *E. coli* Koloniezahlen in den Quellwässern falls im Einzugsgebiet die entsprechende Eintragungssituation gegeben ist. Eine direkte Abschätzung von *E. coli* Konzentrationen kann daraus – aufgrund der variablen Steigungskoeffizienten – nicht unmittelbar abgeleitet werden. Eine Abschätzung der *E. coli* Konzentrationen aus den SAK254 Verläufen erscheint dennoch möglich. In diesem Falle ist jedoch eine statistisch abgesicherte „Kalibrierung“ für den jeweiligen Ereignis- und Quelltypus zu etablieren.

3. Fazit

Mikrobiologische Einträge während Hochwasserereignissen stellen eine ernst zu nehmende Qualitätsbeeinträchtigung alpiner Karstquellwässer dar. Die erhobenen Daten zeigen dabei den positiven Effekt der Quellbewirtschaftung zur Optimierung der Roh-

wasserqualität auf. Effiziente mikrobiologische Analysemethoden – auf allen relevanten Ebenen zeitlicher und räumlicher Auflösungs-niveaus – in Kombination mit hydrologischen Untersuchungsmethoden sind daher von größter praktischer Bedeutung, um sowohl zielgerichtete Schutzmaßnahmen im Einzugsgebiet als auch eine optimale Wassergewinnung zur Bereitstellung einer guten Rohwasserqualität gewährleisten zu können. Die in dieser Arbeit präsentierten methodischen Zugänge erlauben eine mikrobiologische Analyse auf unterschiedlichen zeitlichen Niveaus und können als wichtige Grundlagen für eine optimierte Wassergewinnung angesehen werden. Die Untersuchungen weisen darüber hinaus eindrucksvoll darauf hin, dass der spektrale Absorptionskoeffizient bei 254 nm (SAK254) als Frühwarn-Proxy-Parameter für fäkale Eintragsereignisse dienen kann. Eine durch die Parameter Trübung und SAK254 geleitete Rohwassergewinnung ist daher auch der Minimierung fäkaler Einträge zugänglich.

Zusammenfassung

Ziel der Arbeiten war es, mikrobiologische Parameter für die Entwicklung von Frühwarnsystemen an Karstquellen, die zur Trinkwasserversorgung herangezogen werden, zugänglich zu machen. Dazu wurden in situ messbare Parameter, mikrobiologische (Feld)Laboranalysen sowie automatisierte Probennahmetechniken während mehrerer Ereignisbeprobungen kombiniert. Damit konnte der spektrale Absorptionskoeffizient bei 254 nm (SAK254) als Frühwarn- und potenzieller Proxy-Parameter zur Detektion mikrobiologischer Einträge fäkaler Herkunft etabliert und darüber hinaus grundlegende Gesetzmäßigkeiten im Ereignisverlauf zwischen hydrologischen, chemo-physikalischen und mikrobiologischen Qualitätsparametern erkannt werden.

Somit konnte die Methode der Ereignisbeprobung, die als „Worst-Case-Monitoring“ unter den sich verändernden Umweltbedingungen weiter an Bedeutung gewinnen wird, um ein wesentliches Anwendungsgebiet erweitert werden und wertvolle Informationen für die optimierte Quellbewirtschaftung liefern.

Literatur

- FARNLEITNER, A. H., I. WILHARTITZ, A. K. T. KIRSCHNER, H. STADLER, M. M. BURTSCHER, R. HORNEK, U. SZEWCZYK, G. HERNDL & R. L. MACH (2005): Bacterial dynamics in spring water of two contrasting alpine karst aquifers indicate autochthonous microbial endokarst communities.– *Environmental Microbiology*, 7, 1248–1259.
- FARNLEITNER, A. H., H. STADLER, J. HAIDER, R. SOMMER, A. K. T. KIRSCHNER, G. RYZINSKA, G. REISCHER, M. M. BURTSCHER, K. KEIBLINGER, U. FISCHER, C. WIELTSCHNIG & R. L. MACH (2007): Establishing the basic links between hydrological conditions and microbial quality parameters in alpine karstic spring water under increased discharge.– Poster, 14. International Symposium on Health Related Microbiology of the International Water Association (IWA), Tokyo, Japan.
- FARNLEITNER, A. H., G. RYZINSKA-PAIER, G. H. REISCHER, M. M. BURTSCHER, S. KNETSCH, S. RUDNICKI, T. DIRNBÖCK, G. KUSCHNIG, R. L. MACH & R. SOMMER (2010): *Escherichia coli* and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock, and wild life faecal pollution in alpine mountainous water resources.– *Journal of Applied Microbiology*, 109, 1599–1608.
- FARNLEITNER A. H., H. STADLER, D. KOLLANUR, G. H. REISCHER, M. M. BURTSCHER, G. RYZINSKA-PAIER, I. WILHARTITZ, A. K. T. KIRSCHNER, R. L. MACH & R. SOMMER (2011a): Mikrobiologie alpiner Karstquellwässer 2002–2009.– Zusammenfassender Endbericht zu den durchgeführten Projekten und Publikationen, 1252 S., Studie im Auftrag der Wiener Wasserwerke MA31.

- FARNLEITNER, A. H., G. H. REISCHER, H. STADLER, D. KOLLANUR, R. SOMMER, W. ZEROBIN, G. BLÖSCHL, K. M. BARRELLA, J. A. TRUESDALE, E. A. CASAREZ & G. D. DI GIOVANNI (2011b): Chapter 18 – Agricultural and Rural Watersheds.– In: HAGEDORN, C., J. HAARWOOD & A. BLANCH (Eds.): Microbial Source Tracking: Methods, Applications, and Case Studie.– 399–432, New York (Springer).
- IDEXX: Colilert® Ein einfacher 24-Stunden-Test zum Nachweis von Coliformen und *E. coli*.– Url: http://www.idexx.com/pubwebresources/pdf/en_us/water/6406100l.pdf [11. 7. 2012].
- ISO 7899-2:2000 04 15: Water Quality – Detection and Enumeration of Intestinal Enterococci – Part 2: Membrane Filtration Method.– 7 S., International Organization of Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 9308-1:2000 09 15: Water Quality – Detection and Enumeration of Escherichia coli and Coliform Bacteria – Part 1: Membrane Filtration Method.– 10 S., International Organization of Standardization, Geneva, Switzerland.
- KRALIK, M. (2001): Strategie zum Schutz der Karstgebiete in Österreich.– Berichte Umweltbundesamt, BE-189, 99 S., Wien.
- MARTIN, J. B. & W. B. WHITE (Eds., 2008): Frontiers of karst research.– Special Publication, 13, Karst Waters Institute, Leesburg, Virginia.
- REISCHER, G. H., D. KOLLANUR, J. VIERHEILIG, C. WEHRSPAUN, R. L. MACH, H. STADLER, R. SOMMER & A. H. FARNLEITNER (2011): A hypothesis-driven approach for the identification of fecal pollution sources in water resources.– Environmental Science and Technology, 45 (9), 4038–4045.
- STADLER, H., P. SKRITEK, R. SOMMER, R. L. MACH, W. ZEROBIN & A. H. FARNLEITNER (2008a): Microbiological monitoring and automated event sampling at karst springs using LEO-satellites.– Water Science and Technology, 58 (4), 899–909.
- STADLER, H., P. SKRITEK, R. L. MACH & A. H. FARNLEITNER (2008b): Elucidating Faecal Indicator Dynamics in Alpine Karstic Spring Water at a High Resolution Scale: LEO – Satellite Based Automatic Event Sampling and *E. coli* Field Analysis.– Poster, International World Water Congress and Exhibition, 8.–12. 9. 2008, Vienna, Austria.
- STADLER, H., P. SKRITEK, D. PINDEUS, W. ZEROBIN & A. H. FARNLEITNER (2010a): Datenakquisition in der Hydrologie – Anwendungen in der Erkundung und Überwachung von Trinkwasserressourcen.– Beiträge zur Hydrogeologie, 57, 103–128, Graz.
- STADLER, H., E. KLOCK, P. SKRITEK, R. L. MACH, W. ZEROBIN & A. H. FARNLEITNER (2010b): The spectral absorbance coefficient at 254 nm as a near real time early warning proxy for detecting faecal pollution events at alpine karst water resources.– Water Science and Technology, 62 (8), 1898–1906.
- STALDER, G., R. SOMMER, C. WALZER, R. L. MACH, C. BEIGLBÖCK, A. P. BLASCHKE & A. H. FARNLEITNER (2011a): Gefährdungs- und risikobasierende Konzepte zur Bewertung der mikrobiologischen Wasserqualität – Teil 1.– Veterinary Medicine Austria, 98, 9–24.
- STALDER, G., A. H. FARNLEITNER, R. SOMMER, C. BEIGLBÖCK & C. WALZER (2011b): Gefährdungs- und risikobasierende Konzepte zur Bewertung der mikrobiologischen Wasserqualität – Teil 2.– Veterinary Medicine Austria, 98, 54–65.
- THINNFELD, F. (1873): Die Peggauer Bäche.– Tagespost, Nr. 231, Graz.
- ZWAHLEN, F. (Ed., 2003): Vulnerability and Risk Mapping for the Protection of Carbonate (Karst) Aquifers. Scope – Goals – Results.– COST Action 620, 39 S., European Commission, DG Science, Research and Development, Luxemburg.

Summary

Aim of the investigations was to implement microbial parameter for early warning systems within drinking water quality assurance systems. For this in-situ measurements were combined with microbial field-laboratory analyses and automated sampling techniques. This was done during four estival thunder-shower events at alpine karst springs. Therewith the spectral absorption coefficient at 254 nm (SAC254) could be established as early warning proxy of potential fecal pollution in the catchment area. Above all, basal correlations between hydrologic, physic-chemical and microbial quality parameter could be found.

Hence the method of event sampling as a worst-case monitoring could be enlarged to an important field of hydrological workings. This will get more and more important within climate change conditions.

Dank

Die vorliegenden Untersuchungen wurden durch Projekte der Wiener Wasserwerke ermöglicht. Dafür danken die Autoren besonders dem Betriebsvorstand der MA31, Herrn DI Dr. Wolfgang ZEROBIN und Dr. Gerhard KUSCHNIG. Nur mit tatkräftiger Unterstützung aus den Betriebsleitungen (Ing. Christoph RIGLER und Ing. Hans TOBLER) konnten die umfangreichen Wartungs- und Beprobungsarbeiten in dem dargestellten Umfang durchgeführt werden.

Schlüsselwörter: diffuse fäkale Verunreinigung, Trinkwasserressourcen, Frühwarn-Proxy-Parameter, Satelliten gestützte automatisierte Ereignisbeprobung, spektraler Absorptionskoeffizient bei 254 nm
Keywords: diffuse fecal pollution, drinking water resources, early warning proxy parameter, satellite based automated event sampling, spectral absorption coefficient at 254 nm