

Rita Triebkorn (Hrsg.)

# Weitergehende Abwasserreinigung

Ein wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf

Gemeinsamer Schlussbericht der  
Projekte SchussenAktiv, SchussenAktivplus und SchussenAktivplus+



EBERHARD KARLS  
UNIVERSITÄT  
TÜBINGEN



Rita Triebkorn (Hrsg.)  
**Weitergehende Abwasserreinigung:**  
Ein wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung  
von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf

Gemeinsamer Schlussbericht der vom  
Bundesministerium für Bildung und Forschung  
sowie vom  
Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg  
geförderten Projekte  
SchussenAktiv, SchussenAktiv*plus* und SchussenAktiv*plus*+



Die diesem Buch zu Grunde liegenden Vorhaben wurden mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unter dem Förderkennzeichen 02WRS1281 sowie vom Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg (UM-BW) unter den Vorhaben-Nummern 306/2010 und 371/214 gefördert.

### **Laufzeit der Projekte:**

**SchussenAktiv:** Modellstudie zur Effizienz der Reduktion der Gehalte an anthropogenen Spurenstoffen durch Aktivkohle in Kläranlagen: Monitoring vor Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe auf der Kläranlage Langwiese (gefördert vom UM-BW): 2010-2012

**SchussenAktivplus:** Reduktion von Mikroverunreinigung und Keimen zur weiteren Verbesserung der Gewässerqualität, des Bodenseezuflusses Schussen“ (gefördert vom BMBF unter der Fördermaßnahme RiSKWa - *Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf* - mit Unterstützung des UM-BW): 2012-2015

**SchussenAktivplus+:** Langzeiteffekte des Ausbaus der Kläranlage Langwiese (AZV Mariatal, Ravensburg) mit der 4. Reinigungsstufe auf der Basis von Pulveraktivkohle für das Ökosystem der Schussen (gemeinsam gefördert vom BMBF und UM-BW): 2015-2016.

Das Buch stellt den gemeinsamen Abschlussbericht dieser Projekte dar.

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren der einzelnen Kapitel.

---

## Autorinnen und Autoren (in alphabetischer Reihenfolge)

Klaus Amler, Ökonsult GbR Stuttgart

Martin Beníšek, ehem. RECETOX, Masaryk Universität Brno

Luděk Bláha, RECETOX, Masaryk Universität Brno

Jürgen Fromm, Regierungspräsidium Tübingen

Claudia Gallert, KIT Karlsruhe und Hochschule Emden/Leer

Sabrina Giebner, Goethe Universität Frankfurt am Main

Hans Güde, ehem. LUBW, ISF Langenargen

Anja Henneberg, Universität Tübingen

Stefanie Hess, KIT und Hochschule Emden/Leer

Harald Hetzenauer, LUBW, ISF Langenargen

Klaus Jedele, Jedele & Partner GmbH Stuttgart

Heinz-R. Köhler, Universität Tübingen

Bertram Kuch, Universität Stuttgart

Frauke Lüddecke, LUBW, ISF Langenargen

Diana Maier, Universität Tübingen

Michael Müller\*, Jedele & Partner GmbH Stuttgart

Jörg Oehlmann, Goethe Universität Frankfurt am Main

Katharina Peschke, Universität Tübingen

Magali Rault, Universität Avignon

Doreen Richter, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Frank Sacher, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Marco Scheurer, TZW, DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe

Jutta Schneider-Rapp, Ökonsult GbR Stuttgart

---

\* in Vertretung von Ralph-Michael Jung (Abwasserzweckverband Mariatal, Klärwerk Langwiese), Andreas Schmid (Abwasserverband Unteres Schussental) und Sven Kneipp (Gemeinde Merklingen)

Simon Schwarz, Universität Tübingen

Merav Seifan, Ben-Gurion University of the Negev (ehem. Universität Tübingen)

Séverine Suchail, Universität Avignon

Paul Thellmann, Universität Tübingen

Rita Triebkorn, Universität Tübingen

Hans - Joachim Vogel, ehem. Regierungspräsidium Tübingen

Sabrina Wilhelm, Universität Tübingen

Josef Winter, KIT Karlsruhe

Karl Wurm, Gewässerökologisches Labor Starzach

---

## Dank an folgende Einrichtungen und Personen

### Für die Finanzierung des Projektes

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) vertreten durch Helmut Loewe  
Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg (UM BW)  
vertreten durch Joachim Eberlein, Ursula Maier, Hans Neifer und Jochen Weinbrecht

### Für die finanzielle Unterstützung des Projekts durch Eigenleistungen, Stipendien, Zuwendungen oder Spenden

Carbon Service & Consulting GmbH & Co KG  
Jedele & Partner GmbH, Stuttgart  
MTU Umweltstiftung  
Neudorff GmbH KG, Emmerthal  
Ökonsult GbR  
Reinhold und Maria Teufel Stiftung  
Stiftung „Natur und Umwelt“ der Landesbank Baden-Württemberg  
Stiftung Christoph Sonntag  
Universität Tübingen  
Verein der Freunde des Instituts für Seenforschung und des Bodensees e.V.  
Vereinigung der Freunde der Universität Tübingen (Universitätsbund) e.V.  
Xylem Services GmbH

### Für die Projektkoordination und Unterstützung beim Projektträger Karlsruhe und an der Universität Tübingen

**Projektträger Karlsruhe, Karlsruher Institut für Technologie (KIT):** Verena Höckele, Melanie Bauer (ehem.), Ellen Ernst, Maike Funke (ehem.), Daniel Jost

**Universität Tübingen:** Andrea Beck-De Meo, Jutta Pickel, Ulrich Schwabe

### Für Beiträge in Form von Abschlussarbeiten

**Eberhard Karls Universität Tübingen:** Franziska Bucka, Janne Burmester, Manuel Dietenberger, Jonas Geburzi, Katharina Greiner - Perth, Lisa Hanslik, Anja Henneberg, Markus Hermann, Birgitta Hohnheiser, Conny Hüber, Stefanie Jacob, Mara - Annett Jerke, Sebastian Kindermann, Marina Knoll, Marlene Langjahr, Simon Lechner, Carla Lorenz, Matthias Lucht, Diana Maier (geb. Busch), Nadine Mayer, Julia Menold, Roosa Mikkola,

Simone Müller, Franziska Reichel, Katharina Reitter, Manuela Schaefer, Hannah Schmiegl, Manuela Schneider, Andrea Schübel, Carolin Schultz, Johanna Schulz, Michael Stängle, Paul Thellmann, Sabrina Wilhelm, Michael Ziegler

**Goethe Universität Frankfurt am Main:** Sina Ostermann, Claudia Stößel, Susanne Straskraba

**Karlsruher Institut für Technologie (KIT):** Stefanie Hess

## Für technische oder sonstige Unterstützung

**Abwasserverband Unteres Schussental:** Nina Gülec, Heiko Kiebler, Andreas Schmid, Tobias Schmitt, Gerd Schwarz, Christopher Strauß

**Abwasserzweckverband Mariatal:** Markus Bertsch, Alexander Härdtner, Christoph König, Reinhold Urban

**BBW Achberg:** Michael Weyhmüller, Maria Weyhmüller

**Carbon Service & Consulting, Vettweiß:** Torsten Seiffert

**Chemviron Carbon, Beverungen:** Ulrich Heinz, Björn Otto

**Eberhard Karls Universität Tübingen:** Katja Bader, Andreas Dieterich, Stefanie Kraiss, Raphaela Osterauer, Alexandra Scheil, Volker Scheil, Krisztina Vincze

**fm geotechnik, Amtzell:** Ralf Frankovsky

**Gemeinde Merklingen:** Gerhard Fink, Sven Kneipp, Manfred Stark, Manuela Uebele

**Gemeinde Eriskirch:** Markus Spieth

**Goethe Universität Frankfurt am Main:** Matthias Oetken, Martin Wagner

**Hach, Düsseldorf:** Reimund Hauser, Frank Meinhardt, Uwe Neuffer, Martin Spiegl

**Hydra, Institut für angewandte Hydrobiologie, Konstanz:** John Hesselschwerdt, Peter Rey, Stefan Werner

**iat-Ingenieurberatung, Stuttgart:** Daniela Müller

**Jedele und Partner, Stuttgart:** Katrin Härterich, Christian Locher, Martina Metzger, Dieter Schilling

**Kreisfischereiverein Ravensburg:** Andreas Marschall und Willi Angele

**Landratsamt Alb-Donau-Kreis:** Georg Scholz

**LAZBW, Fischereiforschungsstelle Langenargen:** Hans-Peter Billmann, Alexander Brinker

**LUBW, ISF Langenargen:** Simone Eckenfels, Brigitte Engesser, Herbert Löffler, Petra Obad, Kathrin Lehner, Kurt Sarembe, Andreas Schießl, Gerd Schröder, Petra Teiber-Siessegger

**Ökonsult GbR Stuttgart:** Stefan Flaig

**Preg Umwelttechnik, Balingen:** Reiner Preg

**Regierungspräsidium Tübingen:** Bernd Becht, Dietmar Enkel, Lothar Heissel, Klaus Kersting, Erich Mittermayr, Grit Puchan (ehem.), Wolfgang Vollmer, Anton Willburger

**Stadt Ravensburg:** Ralph-Michael Jung, Bernhard Wöllhaf

**Università del Piemonte Orientale, Alessandria, Italien:** Francesco Dondero, Aldo Viarengo

**Universität Stuttgart:** Claudia Lange, Peter Maurer, Jörg Metzger, Erwin Unger

**Xylem Services, Herford:** Jens Gebhardt

## **Für die große Hilfestellung bei der Fertigstellung dieses Buchs**

Diana Maier

**Für die ersten Schritte zum Projekt und die Unterstützung bei vielen weiteren „Bewegungen“, für seine stete Diskussionsbereitschaft und die vielen guten Ideen und Kritikpunkte, ohne die das Projekt ein anderes gewesen wäre**

Hans-Joachim Vogel (ehem. Regierungspräsidium Tübingen)

**Für die Bereitstellung der Infrastruktur und des Nährbodens für das Projekt, für seine stete Unterstützung in allen Bereichen sowie für die Rückendeckung und das gemeinsame Weitergehen auf dem Weg zum Ziel**

Heinz-R. Köhler



## Abkürzungsverzeichnis

a: Jahr

AB: Ablauf

AK: Aktivkohle

BB: Belebung

BG: Bestimmungsgrenze

BSB: Biologischer Sauerstoffbedarf

CSB: Chemischer Sauerstoffbedarf

d: Tag

DOC: gelöster organischer Kohlenstoff (dissolved organic carbon)

EMSR: Elektro-, Mess-, Steuer- und Regeltechnik

EW: Einwohner(werte)

FHM: Flockungshilfsmittel

GAK: Granulierte Aktivkohle

GKZ: Gesamtkeimzahl

Ha<sup>+</sup>: befestigter Hektar

*In vitro*: im (Reagenz-)Glas in kontrollierter künstlicher Umgebung

*In vivo*: im (vielzelligen) lebenden Organismen

FF: Flockungsfilter

KA: Kläranlage

KBE: Koloniebildende Einheiten

LK: Lamellenklärer

LSF: Langsamsandfilter

LZZ: Lebendzellzahl

NK: Nachklärung

O<sub>3</sub>: Ozon

Oz: Ozon

P 1-6: Probestellen im Retentionsbodenfilter

PAK: Pulveraktivkohle

PN: Probenahme

PS 1-6: Probestellen im Freiland

RBF: Retentionsbodenfilter

RKB: Regenklärbecken

RÜB: Regenüberlaufbecken

SAK<sub>254</sub>: Spektraler Absorptions-Koeffizient bei 254 nm

SF: Sandfilter

TS: Trockensubstanz

VK: Vorklärung

WS: Wirksubstanz

## Inhalt

1	Das Projekt SchussenAktiv <i>plus</i> : Hintergrund, Ziele, Inhalt und Projektteam.....	15
1.1	Hintergrund.....	15
1.2	Ziele und Inhalt.....	17
1.3	Projektteam.....	20
2	Synthese.....	22
2.1	Technologiebewertung.....	22
2.2	Risikobewertung.....	23
2.3	Eintragsbilanzierung.....	24
2.4	Kosten.....	24
3	Methoden.....	26
3.1	Gewässer.....	26
3.2	Probestellen.....	27
3.3	Elektrobefischungen und Entnahme von wirbellosen Tieren.....	28
3.4	Expositionen in Fluss-Bypass-Systemen.....	29
3.5	Käfig-Expositionen.....	31
3.6	Expositionen in Aquarien an der Kläranlage Eriskirch.....	31
3.7	Probengewinnung.....	31
3.8	Testsysteme an Kläranlagen und Regenüberlaufbecken.....	32
3.8.1	Testsystem 1 - Kläranlage Langwiese.....	33
3.8.2	Testsystem 2 - Kläranlage Eriskirch.....	41
3.8.3	Testsystem 3 - Kläranlage Mercklingen.....	51
3.8.4	Testsystem 4 - Regenüberlaufbecken Mariatal.....	60
3.8.5	Testsystem 5 - Retentionsbodenfilter Tettwang.....	69
3.9	Limnologische Analytik.....	77
3.10	Spurenstoffanalytik.....	78
3.10.1	Hauptuntersuchungen.....	78
3.10.2	Zusatzuntersuchung zum RBF.....	83
3.10.3	Vorversuche zu Lagerung und Stabilisierung von Wasserproben.....	85

---

3.10.4	Optimierung von Analyseverfahren .....	87
3.11	Keimanalytik .....	90
3.11.1	Indikatorkeime.....	90
3.11.2	Antibiotika-resistente Keime.....	92
3.12	Biotests.....	95
	<b>Biotests <i>in vitro</i></b> .....	96
3.12.1	Genotoxizität .....	96
3.12.2	Dioxinähnliche Toxizität.....	97
3.12.3	Östrogenität .....	98
3.12.4	Anti-Östrogenität .....	99
3.12.5	Androgenität.....	100
3.12.6	Anti-Androgenität .....	100
	<b>Biotests <i>in vivo</i></b> .....	101
3.12.7	Phytotoxizität.....	101
3.12.8	Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest mit dem Zebraäbrbling <i>Danio rerio</i> ; FET) .....	102
3.12.9	Entwicklungstoxizität beim Glanzwurm <i>Lumbriculus variegatus</i> .....	104
3.12.10	Reproduktionstoxizität und generelle Toxizität bei der Zwergdeckelschnecke <i>Potamopyrgus antipodarum</i> .....	104
3.13	Biomarker zur Wirkanalytik in Fischen und Flohkrebse.....	105
3.13.1	Histopathologische Untersuchungen .....	105
3.13.2	Glykogenanalysen.....	110
3.13.3	Stressproteinanalysen.....	110
3.13.4	Nachweis des Biotransformationsenzym CyP1A1 .....	111
3.13.5	Nachweis genotoxischer Effekte mit dem Mikrokerntest.....	111
3.13.6	Nachweis neurotoxischer Wirkungen über Messungen der Acetylcholinesterase und Carboxylesterase .....	112
3.13.7	Vitellogenin-Nachweise .....	112
3.13.8	Gonadosomatischer Index und Gonadenhistologie .....	113

---

3.14	Fischartwicklung im Freiland .....	114
3.15	Geschlechterverhältnis bei Gammariden .....	115
3.16	Fekunditätsindex bei Gammariden .....	116
3.17	Effekte in der Biozönose .....	117
3.18	Zusammenfassende statistische Datenauswertung .....	121
4	Resultate und Diskussionen .....	122
I.	TECHNOLOGIEBEWERTUNG.....	122
4.1	Ingenieurtechnische Begleituntersuchungen und zusammenfassende Auswertungen .....	122
4.1.1	Testsystem 1 - Kläranlage Langwiese .....	122
4.1.2	Testsystem 2 - Kläranlage Eriskirch .....	126
4.1.3	Testsystem 3 - Kläranlage Merklingen .....	133
4.1.4	Testsystem 4 - Regenüberlaufbecken Mariatal.....	137
4.1.5	Testsystem 5 - Retentionsbodenfilter Tettnang .....	141
4.2	Technologiebewertung aus der Sicht des Ingenieurs sowie Kosten-Nutzenabschätzungen .....	152
4.2.1	Technologien zur Spurenstoffelimination.....	152
4.2.2	Technische Umsetzung in der Kläranlagenpraxis.....	153
4.2.3	Technische Umsetzung bei der Regenwasserbehandlung .....	155
4.2.4	Ansätze und Annahmen für die Bilanzierung.....	156
4.2.5	Kosten.....	159
4.3	Spurenstoffe (Anlagenbewertung) .....	161
4.4	Indikatorkeime (Anlagenbewertung) .....	182
4.5	Antibiotika-resistente Keime (Anlagenbewertung).....	190
4.6	Biotests <i>in vitro</i> zur Bewertung der Anlagen.....	202
4.6.1	Gentoxizität .....	202
4.6.2	Dioxinähnliche Toxizität.....	205
4.6.3	Östrogenität .....	207
4.6.4	Anti-Östrogenität .....	217

---

4.6.5	Androgenität.....	222
4.6.6	Anti-Androgenität .....	225
4.7	Biotests <i>in vivo</i> zur Bewertung der Anlagen.....	227
4.7.1	Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest .....	
	mit dem Zebraäbrbling <i>Danio rerio</i> ; FET) .....	227
4.7.2	Reproduktionstoxizität bei der Zwergdeckelschnecke .....	
	<i>Potamopyrgus antipodarum</i> .....	231
4.8	Wirkungen bei Fischen (Kläranlage Eriskirch).....	235
4.8.1	Histopathologische Untersuchungen.....	235
4.8.2	Stressproteinanalysen.....	235
4.8.3	Nachweis des Biotransformationsenzym Cyp1A1.....	236
4.8.4	Nachweis genotoxischer Effekte .....	237
4.8.5	Vitellogenin-Nachweise .....	237
4.9	Zusammenfassende statistische Datenauswertung (Anlagenbewertung) .....	239
4.9.1	Spurenstoffentnahme: Alle Anlagen 2012 – 2014.....	239
4.9.2	Spurenstoffentnahme: Nur KA Langwiese 2012 - 2016.....	240
4.9.3	Keimentnahme: Alle Anlagen 2012 – 2014.....	241
4.9.4	Entnahme von Effektpotentialen: Alle Anlagen 2012 – 2014 .....	244
4.10	Zusammenfassung Anlagenbewertung.....	247
II. AUSWIRKUNGEN DES AUSBAUS DER KLÄRANLAGE .....		
LANGWIESE AUF DAS ÖKOSYSTEM DER SCHUSSEN.....		248
4.11	Limnologische Analytik .....	248
4.12	Spurenstoffe (Auswirkungen auf das Gewässer) .....	250
4.13	Indikatorkeime (Auswirkungen auf das Gewässer) .....	267
4.13.1	Mikrobiologische Situation an Schussen und Argen – .....	
	Wasser und Sediment.....	267
4.13.2	Bewertung des Ausbaus der Kläranlage Langwiese mit PAK .....	
	im Vollstrom auf die mikrobiologische Belastung der Schussen .....	269
4.13.3	Persistenz von Fäkalindikatorkeimen in Abhängigkeit vom Sediment.....	271
4.14	Antibiotika-resistente Keime (Auswirkungen auf das Gewässer).....	277

---

4.15	Biotests <i>in vitro</i> (Auswirkungen auf das Gewässer) .....	282
4.15.1	Genotoxizität .....	282
4.15.2	Dioxinähnliche Toxizität.....	282
4.15.3	Östrogenität .....	283
4.15.4	Anti-Östrogenität .....	292
4.15.5	Androgenität.....	294
4.15.6	Anti-Androgenität .....	296
4.16	Biotests <i>in vivo</i> (Auswirkungen auf das Gewässer).....	296
4.16.1	Phytotoxizität.....	296
4.16.2	Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest ..... mit dem Zebraäbrbling <i>Danio rerio</i> ; FET) .....	297
4.16.3	Entwicklungstoxizität beim Glanzwurm <i>Lumbriculus variegatus</i> .....	300
4.16.4	Reproduktionstoxizität bei der Zwergdeckelschnecke ..... <i>Potamopyrgus antipodarum</i> .....	301
4.17	Wirkungen bei Fischen (Expositionen in Käfigen und Fluss-Bypässen, ..... Freilandfische) .....	302
4.17.1	Histopathologische Untersuchungen .....	302
4.17.2	Glykogenanalysen.....	305
4.17.3	Stressproteinanalysen.....	306
4.17.4	Nachweis des Biotransformationsenzym CyP1A1 .....	310
4.17.5	Nachweis gentoxischer Effekte .....	312
4.17.6	Nachweise von Acetylcholinesterase und Carboxylesterasen .....	315
4.17.7	Vitellogenin .....	316
4.18	Fischartwicklung im Freiland.....	320
4.19	Wirkungen bei Flohkrebse ..... .....	323
4.19.1	Stressproteine .....	323
4.19.2	Geschlechterverhältnis.....	324
4.19.3	Fekundität .....	326
4.20	Effekte in der Biozönose .....	327

---

4.20.1	Gewässergüte/Saprobie.....	327
4.20.2	Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Makrozoobenthos .....	332
4.21	Befischungsdaten für die Schussen.....	343
4.22	Zusammenfassende statistische Datenauswertung (Auswirkungen .....	
	auf das Ökosystem der Schussen) .....	344
4.22.1	Spurenstoffe Freiland.....	344
4.22.2	Effektpotentiale Freiland.....	346
4.22.3	Wirkungen Freiland – Bypassanlagen.....	347
4.22.4	Wirkungen Freiland – Käfigexposition an der Kläranlage Langwiese.....	349
4.22.5	Wirkungen Freiland – Passives Monitoring an Döbel und Schneider.....	350
4.23	Bilanzierung für das Einzugsgebiet der Schussen .....	353
4.23.1	Einzugsgebiet der Schussen.....	353
4.23.2	Abwasserreinigung entlang der Schussen.....	355
4.23.3	Ergebnis der Bilanzierung Einzugsgebiet Schussen.....	360
4.24	Zusammenfassung: Auswirkungen der Pulveraktivkohlestufe .....	
	auf der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg auf das Ökosystem .....	
	der Schussen und Bilanzierungen für das Einzugsgebiet der Schussen.....	365
5	Kommunikation, Öffentlichkeitsarbeit und Verwertung der Ergebnisse.....	368
5.1	Kommunikation und Öffentlichkeitsarbeit.....	368
5.2	Verwertung .....	386
5.2.1	Verwertungsmöglichkeiten und bereits erfolgte Verwertung .....	386
5.2.2	Strategiepapier des Regierungspräsidiums Tübingen .....	388
5.2.3	Beitrag zum Parlamentarischen Abend am 10. November 2016 .....	389
5.3	Methodische Empfehlungen aus SchussenAktiv <i>plus</i> für die .....	
	Bewertung zusätzlicher Reinigungsstufen auf Kläranlagen und .....	
	Regenüberlaufbecken.....	391
6	Literatur.....	395

# 1 DAS PROJEKT SCHUSSENAKTIVPLUS: HINTERGRUND, ZIELE, INHALT UND PROJEKTTEAM

*Tribskorn (Universität Tübingen)*

## 1.1 Hintergrund

Das Auftreten von Spurenstoffen und Keimen inkl. resistenter Bakterien im Wasserkreislauf ist in den letzten Jahren verstärkt ins Zentrum des wissenschaftlichen, politischen, aber auch des öffentlichen Interesses gerückt (Exner und Schwartz 2015; Jekel und Ruhl 2016). Auf Seiten der chemischen Belastungen stehen hierbei z. B. Wirkstoffe von Arzneimitteln, Inhaltsstoffe von Haushaltschemikalien (z. B. Wasch- oder Putzmittel), Körperpflegemitteln, Pflanzenschutzmitteln oder Industriechemikalien, aber auch Nahrungs(ergänzungs)mittel, wie z. B. künstliche Süßstoffe oder Koffein im Fokus (Tribskorn 2015). Man geht davon aus, dass heutzutage von den über 120 Millionen in der CAS-Datenbank (cas.org) registrierten chemischen Stoffen mehrere Tausend im Wasserkreislauf in Konzentrationen von wenigen µg/L bis ng/L nachgewiesen werden können. Wie viele Stoffe tatsächlich vorhanden sind, ist unbekannt. Gleiches gilt für resistente und nicht resistente Keime im Wasserkreislauf. Die Öffentlichkeit wurde auf die Thematik vor allem dadurch aufmerksam, dass entweder Rückstände von Spurenstoffen im Trinkwasser auftraten (Anker 2015; Wetzel 2016) oder spektakuläre Wirkungen bei aquatischen Organismen, wie zum Beispiel Geschlechtsumwandlungen oder Verhaltensänderungen bei Fischen durch hormon- oder neuroaktive Substanzen bekannt wurden (Brodin et al. 2013; Gimeno et al. 1996). Keimbelastungen im Wasser fallen vor allem dann auf, wenn Trinkwasserressourcen zeitweise nicht oder nur eingeschränkt genutzt werden können, wie z. B. durch Legionellen-Belastungen im Fall Warstein (Siegmond-Schulze 2013), oder wenn Badeverbote aufgrund von Überschreitungen von Grenzwerten an Indikatorkeimen ausgesprochen werden (Wiedemann 2016).

Während man das Risiko, das für den Menschen mit der Präsenz von Keimen einhergeht, in vielen Fällen relativ gut einschätzen kann, bestehen im Bereich der Spurenstoffe noch große Wissenslücken, vor allem wenn es darum geht, die Relevanz der Stoffe für Mensch und Umwelt zu bewerten. Für die meisten Spurenstoffe existieren nämlich weder Umweltqualitätsnormen, um das Risiko für aquatische Organismen einzuschätzen, noch GOW-Werte (gesundheitliche Orientierungswerte), anhand derer ein mögliches Risiko für den Menschen nach Aufnahme von Stoffen über das Trinkwasser abgeschätzt werden kann. Erschwerend kommt hinzu, dass Spurenstoffe sowohl in Organismen als auch im Wasser um- und abgebaut werden können, so dass oft unbekannte Metabolite bzw.



Transformationsprodukte entstehen. Ob und in welcher Weise diese alleine, miteinander oder auch zusammen mit den Muttersubstanzen wirken, ist so gut wie vollkommen unbekannt. Forschungsbedarf besteht jedoch auch noch im Bereich von Keimbelastungen im Wasserkreislauf: Mikrobiologische Methoden ermöglichen nämlich mittlerweile nicht mehr nur den Nachweis lebender Erreger, der den Schluss auf ein mögliches Risiko zulässt, sondern durch moderne Techniken kann heute freie oder in abgetöteten Keimen vorliegende DNA gefunden werden, deren Bedeutung als Risikofaktor noch wenig erforscht ist. Hinzu kommt die steigende Zahl an resistenten Keimen im Wasserkreislauf, über deren Entstehung, Vermehrung und Überleben z. B. bei der Abwasserreinigung noch sehr wenig bekannt ist.

In industrialisierten Ländern gelten kommunale Kläranlagen und angeschlossene Regenüberlaufbecken als bedeutendste Eintragspfade für Spurenstoffe und Keime in den Wasserkreislauf. Für Spurenstoffeinträge stehen hierbei die Kläranlagen, für Keimeinträge eher die Mischwasserentlastungen, durch die bei länger anhaltenden Starkregenereignissen ungeklärtes Abwasser in Gewässer abgeschlagen wird, im Vordergrund. Langfristig ist zudem abzusehen, dass Stoff- und Keimeinträge über diese Pfade steigen werden, da in Folge des demographischen Wandels mit einem weiter steigenden Produkt- und Medikamentenkonsum und damit einhergehend auch mit erhöhten Stoffemissionen über den Abwasserpfad zu rechnen ist. Da herkömmliche Kläranlagen Spurenstoffe und Keime derzeit nur bedingt eliminieren, und aufgrund des Klimawandels zudem vermehrt Niedrigwasserperioden in den Gewässern auftreten werden, ist absehbar, dass Stoff- und Keimkonzentrationen im Wasserkreislauf langfristig steigen werden. Es ist darüber hinaus zu befürchten, dass vereinzelte Starkregenereignisse, deren Intensität mit fortschreitendem Klimawandel vermutlich zunehmen wird, zu einem vermehrten Abschlagen ungeklärten Mischwassers und somit akut zu einem verstärkten Eintrag von Keimen in die Vorfluter führen können.

Im Sinne eines nachhaltigen und vorsorgenden Wasserressourcenmanagements ist es deshalb notwendig, Maßnahmen zu ergreifen, durch die Spurenstoff- und Keimeinträge in den Wasserkreislauf langfristig reduziert und Mensch und Umwelt nachhaltig geschützt werden können. Dies ist sowohl an der Quelle (d. h. beim Hersteller und Verbraucher der Stoffe) als auch nach dem Eintrag in den Wasserkreislauf ("*end of pipe*"-Ansatz) durch technische Maßnahmen geboten.

Minderungsmaßnahmen an der Quelle setzen hierbei auf die Beteiligung des Menschen selbst z. B. durch die Entwicklung und Produktion umweltverträglicher Arzneimittel, die richtige Entsorgung von Medikamenten, den bewussten und verantwortungsvollen Umgang mit Produkten im täglichen Leben, seien es Human- oder Tierarzneimittel, Waschmittel oder Körperpflegemittel. Eingriffe „*end of pipe*“ setzen auf neue Technologien und / oder

Kombinationen von Techniken im Bereich der Abwasser- und Mischwasserreinigung als sogenannte „weitergehende Abwasserreinigung“ bzw. „4. Reinigungsstufe“.

Dieses Thema wurde in den letzten zehn Jahren intensiv beforscht (z. B. Strategie Micropoll in der Schweiz: <http://www-eawag.emp-eaw.ch/827/?L=0>; EU Projekte Switch: <http://www.switchurbanwater.eu> und Pills: <http://www.pills-project.eu/>) und stand auch im Zentrum des Förderschwerpunkts RiSKWa (Risikomanagement von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf) des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF).

Von 2012-2016 widmeten sich im Rahmen dieser Fördermaßnahme zwölf große Forschungsverbände der Thematik „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf (RiSKWa)“. Die Kernbotschaften aus allen zwölf Projekten sind in einem Praxishandbuch beschrieben und zusammengefasst (Track 2016). Das Projekt SchussenAktiv*plus* war eines dieser zwölf geförderten Projekte.

Im Rahmen einer Literaturstudie sowie eines Vorläuferprojekts (SchussenAktiv), welche beide vom Land Baden-Württemberg finanziert waren, wurden zwischen 2000 und 2012 grundlegende Daten als Basis für SchussenAktiv*plus* erarbeitet (Triebskorn et al. 2013a; Triebskorn und Hetzenauer 2012). Durch eine Anschlussfinanzierung durch das Land Baden-Württemberg sowie eine partielle Weiterfinanzierung durch das BMBF war es zudem möglich, die Untersuchungen als SchussenAktiv*plus*+ bis Mitte 2016 fortzuführen, sodass für das Gesamtprojekt ein Datensatz für 6 Jahre erhoben werden konnte. Im Folgenden werden die drei Projekte SchussenAktiv, SchussenAktiv*plus* und SchussenAktiv*plus*+ der Einfachheit halber als SchussenAktiv*plus* (SAP) zusammengefasst.

## 1.2 Ziele und Inhalt

Als Modell für ein durch Abwasser und Mischwasser beeinflusstes Gewässer in einem dicht besiedelten Einzugsgebiet stand im Zentrum von SchussenAktiv*plus* die Schussen, der größte deutsche Zufluss zum Bodensee. Stoff- und Keimeinträge durch die Schussen in den Bodensee waren hierbei nicht nur im Zusammenhang mit der Trinkwassergewinnung, sondern auch mit der Nutzung des Bodensees als Badegewässer, Erholungsgebiet und als Fischgewässer von Relevanz. Zudem befindet sich an der Schussenmündung ein ausgewiesenes Naturschutzgebiet (Eriskircher Ried).

Übergeordnetes Ziel des Projektes war es, auf der Basis von Untersuchungen im Einzugsgebiet der Schussen modellhaft ein Konzept für einen integrierten Ansatz in der Abwasser- und Regenwasserbehandlung in Flusseinzugsgebieten zu erarbeiten, welches zur Eintragsminderung von (1) Spurenstoffen und Keimen (inkl. Antibiotika-resistenter Keime) über Kläranlagen und Mischwasserentlastungen sowie (2) mit diesen verbundenen negativen Auswirkungen für Mensch und Umwelt beiträgt. Die Projektergebnisse sollten das

nachhaltige Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf unterstützen und langfristig zum vorsorgenden Trinkwasserschutz im Sinne des Multibarriere-Konzepts der Trinkwasserversorger sowie zur Verbesserung der Badewasserqualität von Oberflächengewässern wie dem Bodensee beitragen.

Als drei konkretere Teilziele sind zu nennen:

1. Die Beschreibung und Bewertung der Effizienz von zusätzlichen Reinigungsstufen zur Reduktion von nicht-resistenten und resistenten Keimen, Spurenstoffen und toxischen bzw. hormonellen Wirkpotentialen im Abwasser und Mischwasser.
2. Die Beurteilung von Vorteilen der weitergehenden Abwasserreinigung für ein angeschlossenes Gewässerökosystem. Hierbei ging es um die Frage, inwiefern sich der Ausbau einer Kläranlage mit einer Pulveraktivkohlestufe positiv auf den Gesundheitszustand von Gewässerorganismen auswirkt.
3. Kosten-Nutzenabschätzungen für das Einzugsgebiet der Schussen im Zusammenhang mit der Reduktion von Spurenstoffen und Keimen durch verschiedene Abwasser- und Mischwasserreinigungstechniken.

Wesentliche Projektelemente von SchussenAktiv*plus* waren (1) die Risikominimierung über verschiedene Technologien zur Reinigung von Abwasser und Mischwasser, (2) die Risikocharakterisierung durch die Kombination von chemisch-analytischen und mikrobiologischen Verfahren (Expositionsanalytik) mit Tests, welche mögliche oder tatsächliche Wirkungen im Labor und Freiland anzeigen (Potential- und Wirkanalytik), sowie (3) die Risikokommunikation (Abb. 1).

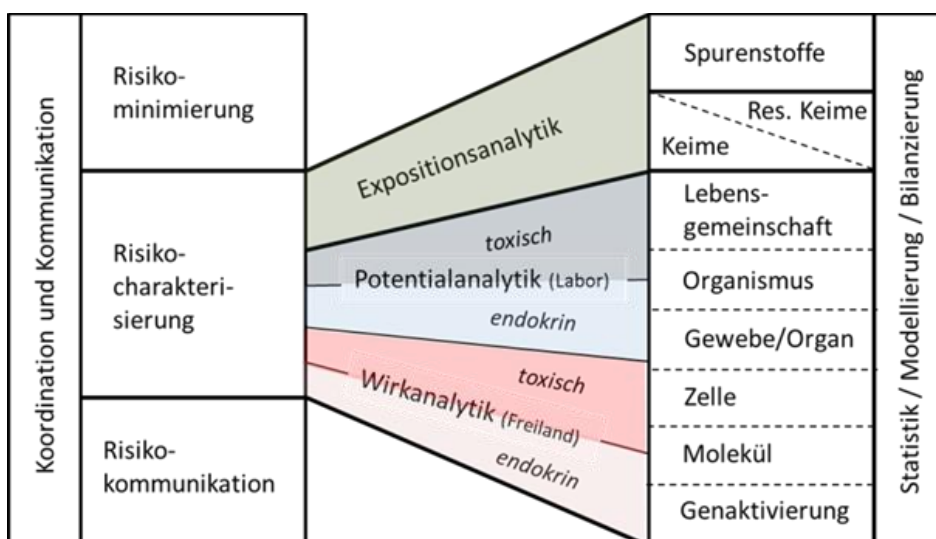


Abb. 1: Projektelemente von SchussenAktiv*plus*

Als Risikominderungsmaßnahmen wurden im Projekt SchussenAktivplus fünf verschiedene Abwasserreinigungstechnologien an unterschiedlich großen Kläranlagen und Mischwasserentlastungssystemen untersucht (s. auch Kap. 3.8).

Testsystem 1: Kläranlage Langwiese, AZV Mariatal, Ravensburg, als Modell für eine große Kläranlage, (170.000 Einwohnergleichwerte, EGW): Großtechnischer Ausbau mit einem Pulveraktivkohlefilter.

Testsystem 2: Kläranlage Eriskirch als Modell für eine mittelgroße Kläranlage (40.000 EGW): Modellanlage mit Ozonierung vor und Kornkohle nach einem Sandfilter.

Testsystem 3: Kläranlage Merklingen als Modell für eine kleine Kläranlage (2.400 EGW): großtechnischer Einsatz von Ozon vor einem bestehenden Langsandsandfilter.

Testsystem 4: Regenüberlaufbecken Mariatal, Ravensburg: Einsatz eines Lamellenklärsers zum Feststoffrückhalt.

Testsystem 5: Retentionsbodenfilter Tettnang als Modell für ein biologisches System nach einem Regenüberlaufbecken.

Um das Risiko von Spurenstoffen und Keimen sowie den Grad der Minderung durch verschiedene Maßnahmen zu charakterisieren, arbeitete das Forschungsprojekt mit einer Fülle von Untersuchungsmethoden:

- (1) Mit Hilfe der Expositionsanalytik wurden Spurenstoffe und Keime inklusive multiresistenter Keime in Abwasser, Oberflächenwasser, Sediment und – im Falle der Spurenstoffe – auch in Fischen und Fischnährtieren nachgewiesen.
- (2) Mit Hilfe der Wirkpotentialanalytik, die eine umfassende Palette an *in vitro* und *in vivo* Biotests nutzte, wurden im Labor Proben auf toxische und hormonelle Wirkungen hin untersucht. Die auf biologischer Wirkung basierenden Tests gaben hierbei Hinweise auf potentielle toxische und hormonelle Wirkungen in den untersuchten Proben, die bei Menschen, Tieren und Pflanzen auftreten können.
- (3) Die Wirkanalytik erfasste schließlich tatsächliche Auswirkungen des großtechnischen Ausbaus einer Kläranlage (Kläranlage Langwiese, Ravensburg) im Gewässer-Ökosystem der Schussen. Als Referenz diente der weniger belastete Bodenseezufluss Argen. Hierfür wurden Fische (Döbel, Schneider) und wirbellose Tiere (Flohkrebse) vor und nach Ausbau der Kläranlage entweder direkt aus Schussen und Argen entnommen oder aktiv in Käfigen oder Bypass-Systemen dem Flusswasser oder dem Abwasser gegenüber exponiert (Bach- und Regenbogenforellen, Flohkrebse, Schnecken). Der Gesundheitszustand der Organismen wurde ausgehend vom genetischen Material über biochemische Prozesse, Zellen und Gewebe bis hin zur Lebensgemeinschaft untersucht. Embryotests mit Forellen zeigten, wie das Flusswasser die Entwicklung von Fischen beeinflusst.

Kommuniziert wurden Hintergrund, Ziele und Ergebnisse des Projekts anhand von Flyern, bei Informationsveranstaltungen für verschiedene Ziel- und Interessensgruppen, durch Fachvorträge und Pressemeldungen auf nationaler und internationaler Ebene. Im Einzugsgebiet der Schussen erhielt die Bevölkerung zudem Informationen zum Beispiel zur richtigen Arzneimittelentsorgung. In den Kapiteln „Kommunikation und Verwertung“ am Ende dieses Buches sind die verschiedenen Kommunikationsmaßnahmen ausführlicher beschrieben.

Als innovativ an diesem Projekt ist vor allem die kombinierte Betrachtung von Exposition (Vorhandensein von Spurenstoffen im Klär- und Oberflächenwasser sowie im Sediment und in Biota) und den hiermit verbundenen Effekten in Biotests im Labor sowie in den im Freiland lebenden Organismen hervorzuheben. Diese Kombination erlaubt eine komplementäre und umfassende Bewertung des Risikos, das von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf für Mensch und Umwelt ausgeht.

### 1.3 Projektteam

An SchussenAktivplus waren insgesamt 22 Projektpartner im Rahmen von 12 Teilprojekten (TP) mit Unterauftragnehmern (UA) beteiligt (Abb. 2):



Abb. 2: Der Projektverbund „SchussenAktivplus“

Hierzu zählten 7 Universitäten bzw. Hochschulen (U Tübingen, U Frankfurt am Main, KIT Karlsruhe, U Stuttgart, U Brno, U Avignon, HS Emden/Leer), 2 Forschungsinstitute (ISF Langenargen, TZW Karlsruhe), 6 Firmen (Jedele & Partner GmbH Stuttgart, Ökonsult GbR Stuttgart, BBW Achberg, GÖL Starzach, Hydra Konstanz, Steinbeis-Donau-Zentrum Stuttgart), 4 Städte/Kommunen (Ravensburg, Eriskirch, Tettang, Merklingen), 2

Abwasser(zweck)verbände (AZV Mariatal, AV Unteres Schussental) und das Land Baden-Württemberg (Regierungspräsidium Tübingen).

Das Vorhaben wurde vom BMBF in folgenden 12 Teilprojekten gefördert:

- TP1: Eberhard Karls Universität Tübingen (FKZ 02WRS1281A). Koordination, Limnochemie, toxische und endokrine Potentiale und Wirkungen. Projektleitung: Prof. Dr. Rita Triebskorn (email: rita.triebaskorn@uni-tuebingen.de).
- TP2: Jedele und Partner GmbH, Stuttgart (FKZ 02WRS1281B). Abwassertechnische Umsetzung von Maßnahmen. Projektleitung: Dr.-Ing. Klaus Jedele (jedele@jupgmbh.de).
- TP3: Abwasserverband Unteres Schussental, Gemeinde Eriskirch, Stadt Tettang (FKZ 02WRS1281D). Kläranlage Eriskirch und Retentionsbodenfilter Tettang. Projektleitung: Markus Spieth, Andreas Schmid (markus.spieth@eriskirch.de).
- TP4: Stadt Ravensburg, AZV Mariatal (FKZ: 02WRS1281E). Kläranlage Ravensburg, RÜB Mariatal. Projektleitung: Ralph-Michael Jung (ralph-michael.jung@ravensburg.de).
- TP5: Gemeinde Merklingen (FKZ:02WRS1281F). Kläranlage Merklingen. Projektleitung: Sven Kneipp (sven.kneipp@merklingen.de).
- TP6: Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg (LUBW), ISF Langenargen (FKZ: 02WRS1281G). Indikatorkeime und Elektrobefischungen. Projektleitung: Dr. Frauke Lüddecke (frauке.lueddeke@lubw.bwl.de).
- TP7: DVGW Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., TZW Karlsruhe, (FKZ: 02WRS1281H). Chemische Analytik. Projektleitung: Dr. Marco Scheurer (marco.scheurer@tzw.de).
- TP8: Karlsruher Institut für Technologie, KIT (FKZ:02WRS1281I). Resistente Keime. Projektleitung: Prof. Dr. Claudia Gallert (claudia.gallert@hs-enden-leer.de)
- TP9: Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main (FKZ: 02WRS1281J). Toxische und hormonelle Wirkpotentiale. Projektleitung: Prof. Dr. Jörg Oehlmann (oehlmann@bio.uni-frankfurt.de).
- TP10: Universität Stuttgart (FKZ: 02WRS1281K). Östrogene Wirkpotentiale. Projektleitung: Dr. Bertram Kuch, Prof. Dr. Jörg Metzger (Bertram.Kuch@iswа.uni-stuttgart.de)
- TP11: Ökonsult GbR - Consulting für Ökologie und Kommunikation (FKZ: 02WRS1281L). Kommunikation und Öffentlichkeitsarbeit. Projektleitung: Jutta Schneider-Rapp (schneider-rapp@oekonsult-stuttgart.de)
- TP12: Hochschule Emden/Leer (FKZ: 02WRS1281M). Zusatzuntersuchungen zu resistenten Keimen. Projektleitung: Prof. Dr. Claudia Gallert (claudia.gallert@hs-enden-leer.de).

Im Unterauftrag waren beteiligt:

- Recetox, Universität Brno (Prof. Dr. Luděk Bláha): Reporterassays für Wirkpotentiale.
- Universität Avignon (Dr. Magali Rault): Cholinesterasemessungen.
- BBW Achberg (Michael Weyhmüller). Aufbau und Wartung der Bypass-Anlagen.
- GÖL Starzach (Dr. Karl Wurm). Gewässerökologische Untersuchungen
- Hydra Konstanz (Peter Rey). Kommunikation und Elektrobefischung
- Steinbeis-Donau-Zentrum, Stuttgart (Jürgen Raizner): Kommunikation

Kostenneutrale Teilnahme:

- Land Baden-Württemberg, Regierungspräsidium Tübingen (Hans-Joachim Vogel): Kommunikation.

## 2 SYNTHESE

*Tribskorn (Universität Tübingen), Gallert (KIT, Hochschule Emden/Leer), Jedele (Jedele & Partner, Stuttgart), Lüddeke (LUBW, Institut für Seenforschung, Langenargen), Scheurer (TZW Karlsruhe), Vogel (ehem. RP Tübingen)*

Durch die Kombination chemisch-analytischer, mikrobiologischer und effektbasierter Untersuchungen konnte im Rahmen von SchussenAktivplus eine Bewertung weitergehender Maßnahmen zur Reinigung von Abwasser und Mischwasser aus Regenentlastungen hinsichtlich stofflicher und mikrobieller Belastungen erfolgen. Das Risiko, das von Spurenstoffen im Wasserkreislauf ausgeht, konnte dadurch besser und genauer bewertet werden.

### 2.1 Technologiebewertung

Durch alle auf den Kläranlagen untersuchten Technologien war eine sehr effiziente Reduktion von Spurenstoffen, Indikatorkeimen und Wirkpotentialen möglich. Es konnten im Mittel mehr als 80 % an Spurenstoffen und Wirkpotentialen und mehr als drei Zehnerpotenzen an Keimen entnommen werden. Die absolute Entnahmeleistung der verschiedenen Verfahren und Verfahrenskombinationen ist jedoch von den betrachteten Chemikalien, Keimarten und Wirkendpunkten abhängig. Im Vergleich zur Ozonung in Kombination mit einem Sandfilter oder granulierter Aktivkohle erzielte so z. B. eine Pulveraktivkohlestufe plus Sandfilter bessere Entnahmewerte für einige Substanzen wie z. B. 1H-Benzotriazol, Metoprolol und verschiedene Röntgenkontrastmittel, jedoch eine schlechtere Reduktion von Stoffen wie z. B. Carbamazepin und Diclofenac.

Durch eine Ozonung verringern sich die Konzentrationen an Fäkalkeimen um mindestens eine weitere Zehnerpotenz im Vergleich zur konventionellen Abwasserreinigung. Die Konzentration an Enterokokken im Kläranlagenablauf kann sowohl durch Pulveraktivkohle als auch durch die Kombination aus Ozon plus Sandfilter und/oder granulierter Aktivkohle im Median unter den Grenzwert der Badegewässerrichtlinie reduziert werden. Obgleich die absolute Anzahl an resistenten Bakterien deutlich reduziert wird, steigt der prozentuale Anteil Antibiotika-resistenter Keime beim Einsatz weitergehender Reinigungsmaßnahmen auf Kläranlagen meistens an. Die Relevanz und Bewertung dieses Befunds, der auch in anderen RiSKWa-Projekten beobachtet wurde, ist derzeit Thema intensiver wissenschaftlicher Diskussionen.

Pulveraktivkohle führt nicht zur Bildung von Transformationsprodukten, die eine potentielle toxikologische Relevanz besitzen können. Sie ist allerdings für die Entnahme von Keimen deutlich weniger effizient als eine Ozonung, die wegen möglicher Transformationsprodukte

immer eine nachgeschaltete Filtration benötigt (Sandfilter, optimal Kornkohle). Der Erfolg der Nachbehandlung kann durch Wirkttests nachgewiesen werden.

Als möglicher Nachteil der Aktivkohle ist zudem die unsichere Verfügbarkeit, schwankende Qualität und eine schwierige Prognose der Preisentwicklung zu nennen, was sich wesentlich auf die Betriebskosten auswirken kann.

Als sehr wirksam für die Reduktion von Spurenstoff-, Keim- und Wirkpotentialeinträgen in Gewässer über Mischwasserentlastungen erwies sich der untersuchte Retentionsbodenfilter, dessen Effizienz mit derjenigen einer konventionellen Kläranlage zu vergleichen ist. Der untersuchte Lamellenklärer war in dieser Hinsicht nicht effizient.

## 2.2 Risikobewertung

Im Rahmen der wissenschaftlichen Begleitung des großtechnischen Ausbaus der Kläranlage Langwiese (AZV Mariatal, Ravensburg) am Bodensee durch die Projekte SchussenAktiv, SchussenAktiv*plus* und SchussenAktiv*plus*+ konnte über insgesamt fast sieben Jahre hinweg verfolgt werden, wie sich eine Verbesserung der Qualität des gereinigten Abwassers aufgrund der weiterführenden Abwasserreinigung durch Pulveraktivkohle äußerst vorteilhaft auf Stoffkonzentrationen im aufnehmenden Gewässer sowie auf dort lebende Gewässerorganismen ausgewirkt hat. Bereits drei Jahre nach Ausbau dieser Anlage zeigten sowohl Fische als auch Fischnährtiere in der Schussen unterhalb der Kläranlage einen deutlich besseren Gesundheitszustand als vor der Maßnahme, was vor allem mit der Entnahme erbgutschädigender, dioxinähnlicher und entwicklungstoxischer Stoffe in Zusammenhang zu bringen ist. Es kam des Weiteren zu einer positiven Entwicklung des Artenbestandes und damit insgesamt gesehen zu einer deutlichen Verbesserung der Gewässersituation. Diese Erkenntnisse konnten auch klar durch zwei außerhalb dieses Projektes durchgeführte Untersuchungen auf der Schwäbischen Alb untermauert werden, in denen zwei Kläranlagen untersucht wurden, die ganz im Oberlauf zweier Gewässer einleiten und die seit über 20 Jahren mit einer Aktivkohlestufe betrieben werden.

Es konnten insgesamt plausible Zusammenhänge zwischen der Reduktion von Spurenstoffen durch die weitergehende Abwasserreinigung, Ergebnissen aus effektbasierten Biotests und Biomarkerstudien an Fischen und Flohkrebse und verschiedenen Ökosystemparametern in der Schussen erarbeitet werden (Abb. 3). Die ökologische Relevanz der erzielten Ergebnisse und ihre Bedeutung im Zusammenhang mit Forderungen der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie nach einem guten chemischen und ökologischen Zustand unserer Gewässer sind offensichtlich.



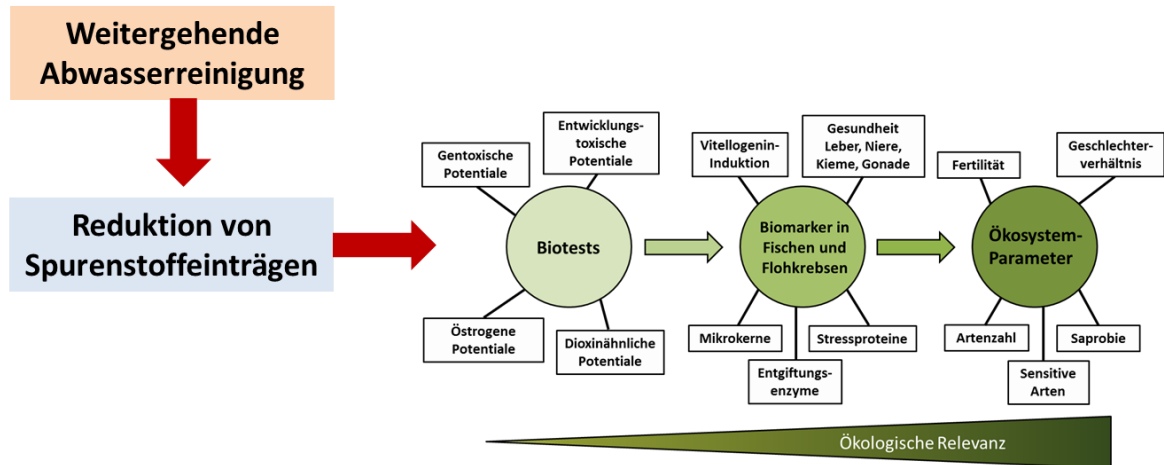


Abb. 3: Plausible Zusammenhänge zwischen der Reduktion von Spurenstoffen durch die weitergehende Abwasserreinigung, Ergebnissen aus Effekt-basierten Biotests und Biomarkerstudien an Fischen und Flohkrebse und verschiedenen Ökosystemparametern in der Schussen

## 2.3 Eintragsbilanzierung

Im Einzugsgebiet der Schussen kommen ca. 95 % der Einträge an Spurenstoffen aus Kläranlagen. Durch die Ertüchtigung der Anlagen könnten dort (abhängig von der gewählten Technologie) pro Jahr bis zu 80 % der Stoffe zurückgehalten werden. Würden alle 19 Kläranlagen im Einzugsgebiet gezielt mit einer 4. Reinigungsstufe ertüchtigt werden, könnten damit pro Jahr z. B. ca. 100 kg Benzotriazol, 140 kg lomeprol, 23 kg Carbamazepin und 45 kg Diclofenac weniger in die Schussen eingetragen werden. Darüber hinaus würde noch eine Vielzahl anderer Substanzen deutlich vermindert.

Eine Bilanzierung der Keimbelastung ist schwierig und kann zu falschen Schlussfolgerungen führen, weil unterschiedlich relevante wasserwirtschaftliche Situationen maßgebend sein können (Wasserschutzgebiete, versickernde Gewässer, Badegewässer). Der Eintrag durch Regenüberlaufbecken (RÜB) ist zudem temporär. Je nach wasserwirtschaftlicher Situation sind deshalb zusätzliche Maßnahmen an RÜBs notwendig. Der untersuchte Retentionsbodenfilter zeigte eine sehr gute Entnahmeleistung für Spurenstoffe und Indikatorkeime, die mit einer konventionellen Kläranlage vergleichbar ist. Der untersuchte Lamellenklärer in einem Regenüberlaufbecken war in dieser Hinsicht nicht effizient.

## 2.4 Kosten

Würden alle Kläranlagen >10.000 Einwohnerwerte (entspricht 90 % des anfallenden Abwassers) im Einzugsgebiet der Schussen mit einer Pulveraktivkohle-Stufe ausgestattet, würden 36 Mio. € Investitionskosten anfallen. Dies entspräche der schweizerischen

Konzeption. Alle Kläranlagen mit Pulveraktivkohle auszustatten, würde weitere 12 Mio. € kosten und wäre wenig wirtschaftlich. Diese Anlagen könnten, soweit möglich, an größere Anlagen angeschlossen werden.

Würde ein Drittel der Regenüberlaufbecken im Einzugsgebiet der Schussen mit Retentionsbodenfiltern ausgestattet werden, soweit dies netzspezifisch und vom Platzbedarf her möglich wäre, würden zusätzliche Kosten in Höhe von ca. 96 Mio. € anfallen.

Die Jahreskosten für die Anlagen zur gezielten Spurenstoffelimination sind, insgesamt betrachtet, von der gewählten Technologie, der Anlagengröße (Einwohnerwerte - EW) und den örtlichen Randbedingungen (nutzbarer Bestand) abhängig. Bei Anlagengrößen von 100.000 EW sind ohne Berücksichtigung von Fördermitteln Kosten zwischen 6 und 14 € pro Einwohner und Jahr realistisch. Der darin enthaltene Anteil für den Betriebsaufwand beläuft sich auf ca. 50 %.

Die weitergehende Abwasserreinigung auf Kläranlagen ist somit ein sehr wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf!

## 3 METHODEN

3.1-3.7: Tribskorn, Henneberg, Maier, Peschke, Wilhelm (Universität Tübingen)

### 3.1 Gewässer

Die Untersuchungen, die im Rahmen von SchussenAktiv*plus* durchgeführt wurden, fanden zum größten Teil an den beiden Bodenseezuflüssen Schussen und Argen (als Referenzgewässer) statt. Zusätzlich wurde ein Testsystem auf der Schwäbischen Alb untersucht (Kläranlage Merklingen), da dort bereits ein Langsamsandfilter vorhanden war.

#### Schussen

Die Schussen ist von ihrer Quelle (ca. 1,5 Kilometer nördlich von Bad Schussenried) bis zur Mündung in den Bodensee (im Eriskircher Ried bei Eriskirch) 62 km lang, die mittlere Abflussmenge beträgt 9-13 m<sup>3</sup>/s. Trotz des größeren Einzugsgebiets (815 km<sup>2</sup>) weist die Schussen aufgrund geringerer Niederschläge im Nordwesten des Bodenseegebietes einen nur halb so großen Abfluss wie die Argen auf. 25 % des Einzugsgebietes sind bewaldet, 30 % werden, vor allem im mittleren und unteren Schussental, für Ackerbau genutzt. Weitere 30 % entfallen auf Grünland. Auf 5 % der Fläche – insbesondere im seenahen Mündungsbereich und im Raum Tettnang – werden Sonderkulturen (v. a. Obst, Hopfen, Wein) angebaut. Mit ca. 200.000 Einwohnern und einer Siedlungsfläche von 11 % ist das Einzugsgebiet der Schussen relativ dicht besiedelt. In die Schussen leiten 18 Kläranlagen ein. Der Großteil der Abwässer ist häuslichen Ursprungs. Industrielles Abwasser, besonders das der Papierfabrik bei Mochenwangen, spielte in der Vergangenheit ebenfalls eine Rolle. Die Papierfabriken wurden 2015 geschlossen. Zusätzlich zu den Kläranlagen leiten über 100 Regenüberlaufbecken in die Schussen ein, sodass der Fluss im Vergleich zu anderen Zuflüssen des Bodensees als relativ stark belastet gilt (Tribskorn und Hetzenauer 2012). An der Mündung der Schussen in den Bodensee befinden sich ein Badestrand sowie das Naturschutzgebiet Eriskircher Ried.

#### Argen

Die Argen wurde im Rahmen von SchussenAktiv*plus* als Referenzgewässer genutzt. Sie ist der drittgrößte Bodenseezufluss, besitzt ein Einzugsgebiet von 653 km<sup>2</sup> und eine Länge von 78 km. Die Vereinigte Argen entsteht aus dem Zusammenfluss von Oberer und Unterer Argen südwestlich von Wangen in der Nähe von Pfügelberg. Die Untere Argen entspringt östlich von Missen, die Obere Argen nordwestlich von Oberstaufen im Allgäu. Die Argen mündet als relativ unverbauter naturnaher Fluss, der recht gut für Fische durchgängig ist,

nach 78 Kilometern bei Langenargen in den Bodensee. Das Einzugsgebiet beträgt 652 km<sup>2</sup>, der mittlere Abfluss 22-23 m<sup>3</sup>/s. Im oberen Bereich der Argen in der Umgebung von Wangen dominiert Grünland, im unteren Bereich ist durch Sonderkulturen (Äpfel, Erdbeeren, Kirschen) mit Pestizideintrag zu rechnen. Die Argen dient für 9 Kläranlagen als Vorfluter, hierunter die zwei großen Anlagen von Wangen und Isny sowie 7 kleinere Kläranlagen. Die Nähr- und Schadstoff-Frachten von Schussen und Argen sind vergleichbar. Da jedoch der mittlere Abfluss der Argen mit 20 m<sup>3</sup>/s fast doppelt so hoch ist wie der der Schussen (11 m<sup>3</sup>/s), kommt es in der Argen durch Verdünnungseffekte zu deutlich geringeren Schadstoffkonzentrationen als in der Schussen (Triebskorn und Hetzenauer 2012).

### 3.2 Probestellen

Im Rahmen von Voruntersuchungen wurden an den beiden Gewässern Probestellen identifiziert, die sich dazu eignen, den Einfluss des Kläranlagenausbaus im Ökosystem zu zeigen. Bei der Auswahl der Probestellen wurden sowohl der Einfluss weiterer Punktquellen oberhalb der Kläranlage als auch die Präsenz gleicher Fischarten und deren Wanderverhalten berücksichtigt. Probestelle 5 wurde im Laufe der Projektzeit aus den Untersuchungen herausgenommen. An den in Abb. 4 gezeigten und in Tabelle 1 näher beschriebenen Probestellen (außer an PS 2 und 6) wurden zu 14 Zeitpunkten zwischen Mai 2010 und Mai 2016 Elektrofischungen durchgeführt. Parallel wurden (außer an PS 2) Proben von Oberflächenwasser und Sediment entnommen und (außer an Probestelle 6) Untersuchungen an Makrozoobenthos-Organismen inkl. Gammariden durchgeführt.

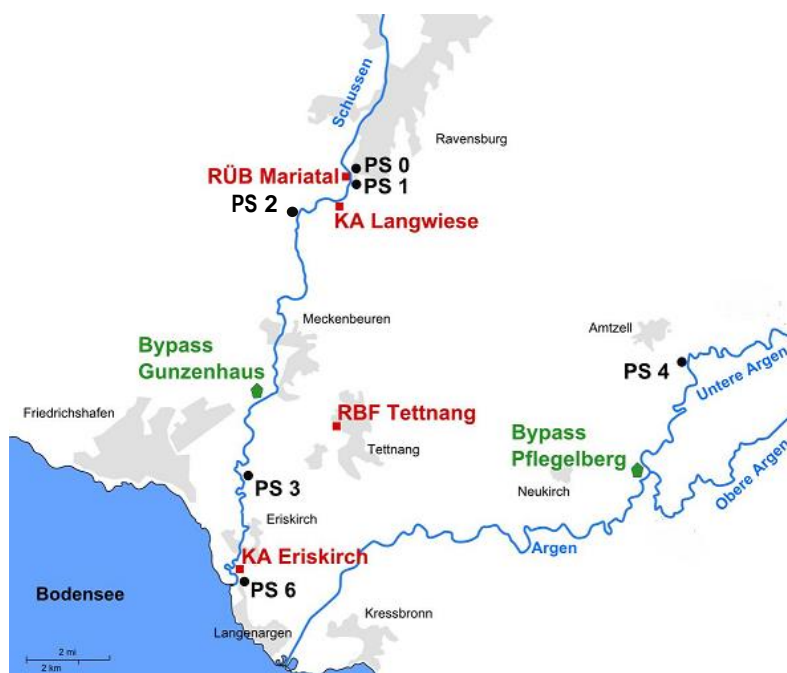


Abb. 4: Probenahmestellen und Testsysteme an Schussen und Argen. Die KA Merklingen liegt nicht in diesem Gebiet, sondern im Alb-Donaukreis, ca. 29 km westlich von Ulm.

Tab. 1: Probestellen an Schussen und Argen

Probestellen an Schussen und Argen		Koordinaten
Schussen	Probestelle 0	Ca. 2 km oberhalb KA Langwiese bei Ravensburg, oberhalb Regenüberlaufbecken Mariatal bei Weissenau. N47°45'31.7", E9°35'21.3"
	Probestelle 1	1700 m oberhalb KA Langwiese bei Ravensburg, direkt unterhalb RÜB bei Weissenau, bei Altgewässerarm. N47°45'27.8", E9°35'25.1"
	Probestelle 2	Ca. 700 m unterhalb KA Langwiese bei Ravensburg, Nähe Oberzell. N47°44'44", E9°33'46"
	Probestelle 3	13 km unterhalb KA Langwiese bei Ravensburg, Nähe Oberbaumgarten (Holzbrücke). N47°39'16.09", E9°31'53.35"
	Probestelle 6	Schussen Mündung (bei Panzerbrücke) 50 m unterhalb Abfluss KA Eriskirch. N47°37'04.7", E9°31'50.7"
Argen	Probestelle 4	Untere Argen bei Amtzell Oberau (oberhalb KA Wangen, unter Autobahnbrücke). N47°41.896' E9°47.792' bzw. Untere Argen bei Rehmen (Kunststoffbau Hymer AG). N47°44'20.46", E9°53'42.78"

### 3.3 Elektrofischungen und Entnahme von wirbellosen Tieren

Die Elektrofischungen an Schussen und Argen wurden von Brigitte Engesser, Kurt Sarembe und Andreas Schießl (LUBW, ISF Langenargen) koordiniert und mit Unterstützung durch John Hesselschwerdt, Peter Rey und Stefan Werner (Hydra, Institut für angewandte Hydrobiologie, Konstanz) durchgeführt (Abb. 5). Bei den Befischungen wurden Döbel (*Leuciscus cephalus*) und Schneider (*Alburnoides bipunctatus*) aus den Gewässern entnommen (Abb. 6).



Abb. 5: Elektrofischung an der Schussen



Abb. 6: An Schussen und Argen entnommene Fischarten. Döbel (*Leuciscus cephalus*, links), Schneider (*Alburnoides bipunctatus*, rechts). Photos: Peter Rey

An allen Probestellen wurden auch Flohkrebse (*Gammarus pulex*, *Gammarus fossarum* und *Gammarus roeseli*) für Biomarkeruntersuchungen sowie zur Bestimmung des Geschlechterverhältnisses und des Fekunditätsindex entnommen (Abb. 7).

An allen Stellen wurde zusätzlich von Karl Wurm (GÖL Starzach) der Zustand der Makrozoobenthoszönose bestimmt.



Abb. 7: Flohkrebs (*Gammarus pulex*) mit Eiern

### 3.4 Expositionen in Fluss-Bypass-Systemen

An Schussen (N47°40.768' E9°32.422', ca. 6 km flussabwärts der Kläranlage Langwiese) und Argen (N47°39.245' E9°44.493') wurde je ein Fluss-Bypass-System installiert, um im aktiven Monitoring Organismen unter kontrollierten Bedingungen Flusswasser gegenüber exponieren zu können (Lage s. Abb. 4). Durch Expositionen vor und nach Ausbau der Kläranlage Langwiese konnte hierdurch der Einfluss des Kläranlagenausbaus auf die exponierten Organismen untersucht werden. Expositionen an der Argen dienten dazu, natürliche Einflussfaktoren, wie z.B. jahreszeitliche Effekte, ausschließen zu können. Jede Station bestand aus einem 550 L Sedimentationstank und fünf 250 L fassenden Aquarien,

die kontinuierlich mit frischem Flusswasser durchströmt wurden (Abb. 8). In zwei der fünf Aquarien konnte das Flusswasser beheizt werden, sodass die Wassertemperatur an beiden Stationen angeglichen werden konnte.

In den beheizten Aquarien wurden Embryotests mit frisch befruchteten Bach- und Regenbogenforelleneiern durchgeführt (Abb. 9), in den unbeheizten Aquarien wurden einjährige Bach- und Regenbogenforellen für mehrere Monate aktiv gegenüber dem Wasser der Schussen exponiert (Abb. 10). Die beiden Bypass-Systeme wurden von Michael Weyhmüller (BBW Achberg) mit Unterstützung von MitarbeiterInnen der Universität Tübingen aufgebaut und gewartet.



Abb. 8: Bypass-Anlage an der Schussen unterhalb der KA Langwiese

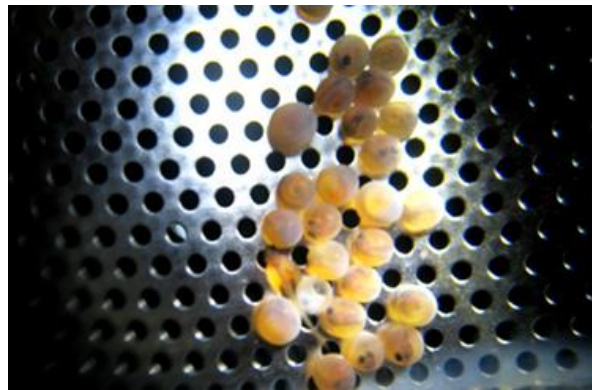


Abb. 9: Expositionseinheiten für Eier in den Bypässen (links) und exponierte Forelleneier (rechts)



Abb. 10: In Bypässen exponierte Fischarten: Bachforelle (*Salmo trutta* f. *fario*, links) und Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*, rechts)

### 3.5 Käfig-Expositionen

An der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg erfolgte die Exposition von einjährigen Regenbogenforellen in Edelstahlkäfigen (Abb. 11) oberhalb und unterhalb des Kläranlagenablaufs in der Schussen (unterhalb der KA ca. 50 % KA-Ablauf und 50 % Flusswasser). Die Expositionen erfolgten über 3 bis 4 Monate hinweg und wurden einmal vor und zweimal nach dem Ausbau der KA Langwiese durchgeführt.



Abb. 11: Expositionskäfig in der Schussen

### 3.6 Expositionen in Aquarien an der Kläranlage Eriskirch

An der Kläranlage Eriskirch wurden zwei Aquarien installiert, von denen eines mit normal gereinigtem Abwasser (Ablauf nach erfolgter Flockungsfiltration) und ein zweites mit Wasser von der Pilotanlage (Ablauf nach erfolgter Flockungsfiltration + Ozon + Granulierter Aktivkohle + Sandfilter) gespeist wurde. In den Aquarien wurden einjährige Regenbogenforellen exponiert (im Jahr 2013 für 43 Tage, im Jahr 2014 für 73 Tage).

### 3.7 Probengewinnung

Die Fische wurden unmittelbar nach der Entnahme aus dem Gewässer bzw. den Bypass-Systemen, Käfigen oder Aquarien betäubt, getötet und direkt vor Ort präpariert (Abb. 12). Die gewonnenen Proben wurden entweder chemisch fixiert (für histologische Untersuchungen) oder in flüssigem Stickstoff (für biochemische Untersuchungen) bzw. auf Trockeneis (für



chemische Analytik) eingefroren. Unter dem Punkt 3.13 ist die Methodik für die Biomarkeranalytik beschrieben.

Zeitgleich zu den Elektrofischungen fanden auch die Probenahmen von Oberflächenwasser und Sediment an den Probestellen sowie von Abwasserproben an den Testsystemen (Kläranlagen und Regenüberlaufbecken) statt. Hierbei wurden jeweils 24 h – Sammelproben aus verschiedenen Klärstufen entnommen.



Abb. 12: Vor Ort-Beprobungen an Schussen und Argen

### 3.8 Testsysteme an Kläranlagen und Regenüberlaufbecken

*Jedele, Müller (Jedele & Partner, Stuttgart)*

Die Untersuchungen wurden an 5 Testsystemen im Rahmen von 5 Teilprojekten durchgeführt (lage s. Abb. 4). Die abwasser- und verfahrenstechnische Begleitung des Vorhabens erfolgte durch die Dr.-Ing Jedele und Partner GmbH (JuP). Im Rahmen der vor Ort möglichen Eigenkontrolle (Organik, Nährstoffe, SAK<sub>254</sub>) wurden die Versuche von JuP verfahrenstechnisch begleitet. Die Analysen hierzu wurden vom jeweiligen Betriebspersonal der Kläranlagen durchgeführt. Die Messung des SAK<sub>254</sub> erfolgte in den Kläranlagen Eriskirch und Ravensburg *online* mittels Sonde. In Ravensburg wurde der SAK<sub>254</sub> nach Filtration der Proben zusätzlich im Labor bestimmt. Die ermittelten Analysenergebnisse wurden für die notwendigen Einstellungen an den technischen Einrichtungen verwendet. Ein bestimmungsgemäßer Betrieb der Anlagen wurde von JuP sichergestellt und bei Bedarf Veränderungen vorgenommen, damit die zeitlich fixierte und mit den beteiligten Projektpartnern abgestimmte Probenahme und darauf basierende Untersuchungen möglich waren. Die Analysen zur Haupt- und Begleitanalytik erfolgten durch die beteiligten Projektpartner. Die Anlagentechnik wurde jeweils durch das örtliche Betriebspersonal betreut. Die Einordnung dieser fünf Teilprojekte geht aus der Übersichtsdarstellung (Abb. 13) hervor.

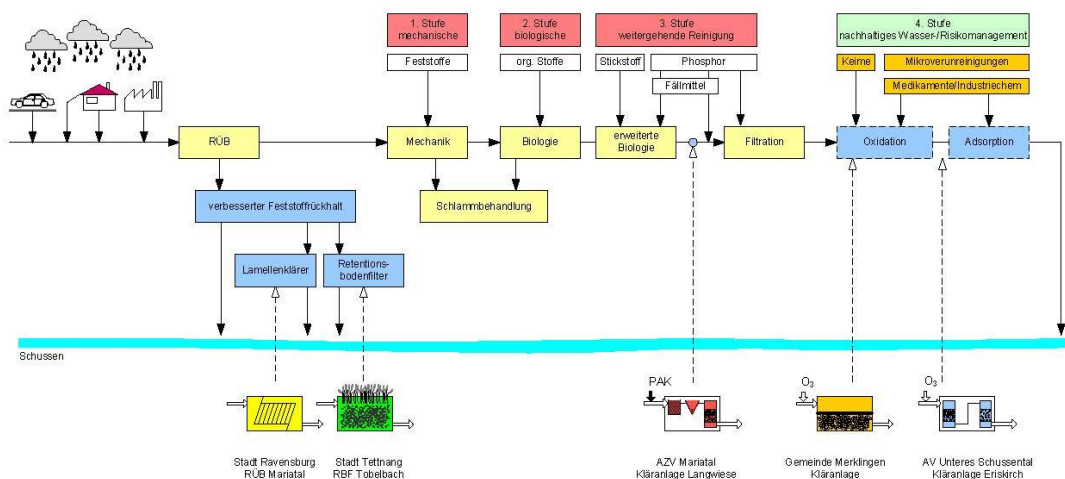


Abb. 13: Schematische Darstellung zur abwassertechnischen Einbindung der fünf Testsysteme

Die Technologien sollten in der Weise bereitgestellt werden, wie dies zum Zeitpunkt der Antragstellung (2011) dem Stand der Kenntnis entsprach. Eine gezielte Veränderung abwassertechnischer Parameter zur Feststellung der Leistungsgrenzen des jeweiligen Verfahrens war nicht vorgesehen. Die Veränderungen vor Ort betrafen betrieblich notwendige Anpassungen, um den Anlagenbetrieb auch unter veränderten Bedingungen (z.B. schwankende Zulaufmenge, Regenereignisse, Frost) sicher zu stellen. Das Untersuchungsprogramm basierte auf Probenahmen im Zeitraum von bis zu zwei Jahren und sollte Ergebnisse unter den in diesem Zeitraum vorliegenden Betriebsbedingungen (Jahreszeit, Belastung, Kläranlagenbetrieb, Abwasserbeschaffenheit) liefern.

### 3.8.1 Testsystem 1 - Kläranlage Langwiese

*Abwasserzweckverband Mariatal, Ravensburg; Verfahrenstechnologie Adsorption; Pulverkohle nach biologischer Reinigung.*

Der AZV Mariatal hatte die Initiative des Landes Baden–Württemberg zur Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser aufgenommen und die Kläranlage Langwiese als Pilotprojekt eingebracht. Der Zweckverband hatte den Bau einer vierten Reinigungsstufe beschlossen und diese mit finanzieller Förderung des Landes realisiert.

#### Aufgabenstellung

Die Entnahmewirkung von pulverisierter Aktivkohle (PAK) für Spurenstoffe und Keime sollte unter realen Bedingungen im kommunalen Abwasser untersucht werden.

Die technische Anlage sollte mit Beginn des Projektes zur Verfügung stehen. Schwierigkeiten bei der bau-, maschinen- und elektrotechnischen Realisierung verzögerten den Projektbeginn um ca. sechs Monate. Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse zu CSB, Nährstoffe und dem spektralen Absorptionskoeffizient bei 254 Nanometer (SAK<sub>254</sub>) basieren auf den durchgeführten Eigenkontrollen.

### Verfahrensschema der Kläranlage Langwiese

Die Abwasserreinigung erfolgt in Langwiese mechanisch, biologisch und chemisch (Abb. 14).

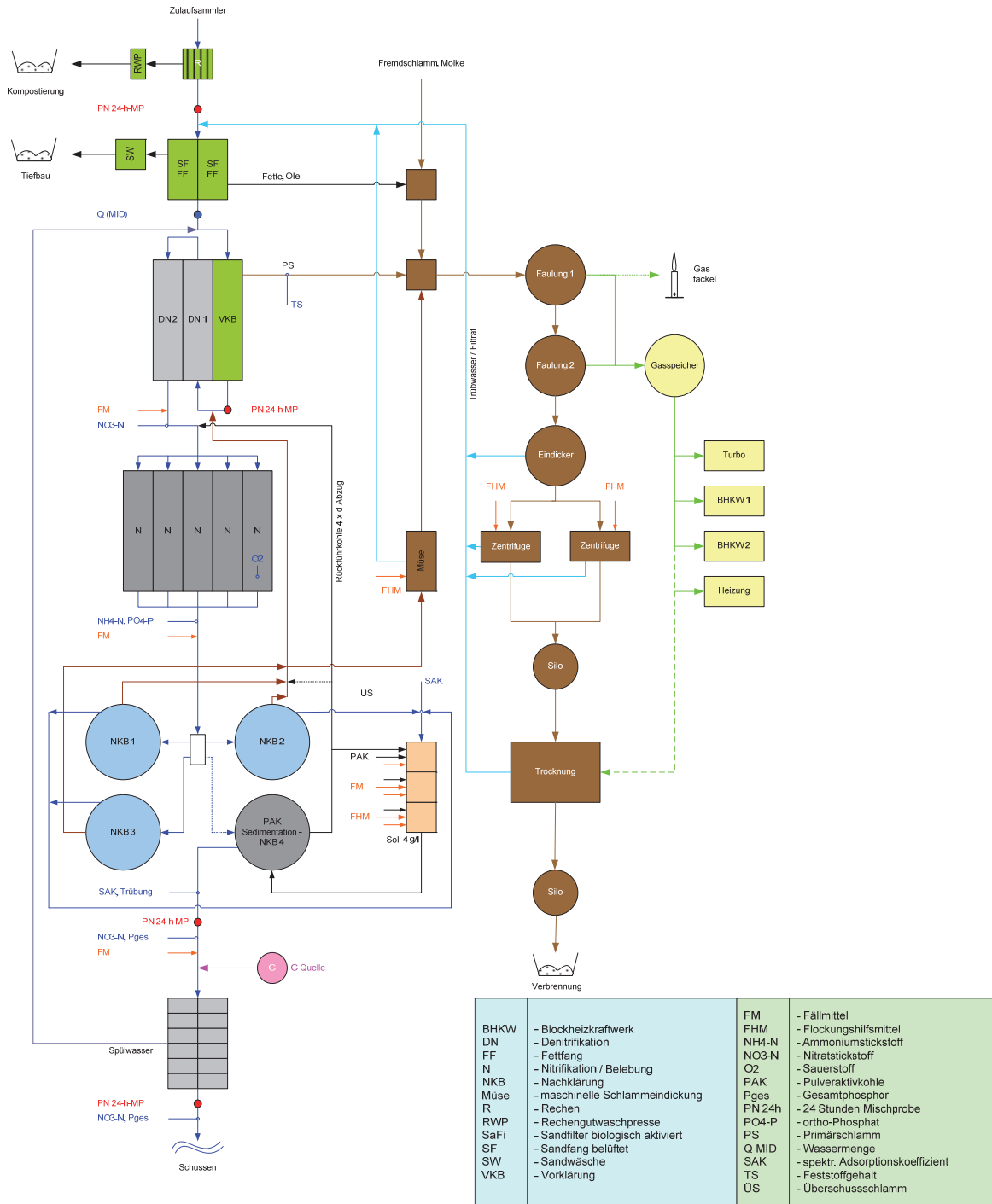


Abb. 14: Verfahrensschema der Kläranlage Langwiese

Da sich die Kläranlage im Einzugsgebiet des Bodensees befindet, sind Ablaufgrenzwerte von 0,3 mg/L beim Gesamtphosphor einzuhalten. Aus diesem Grund verfügt die Anlage über eine Flockungsfiltration.

### Abwassermenge

Die Zuflussganglinie für die Jahre 2012 bis 2014 ist in Abb. 15 dargestellt. Im Jahresmittel fielen ca. 40.000 m<sup>3</sup>/d an. Der Maximalzufluss bei Trockenwetter liegt im Bereich um 625 L/s. Bei Regenereignissen steigt der Zulauf auf bis zu 1.100 L/s an. Auf diesen Zufluss ist die Anlage zur Spurenstoffelimination ausgelegt.

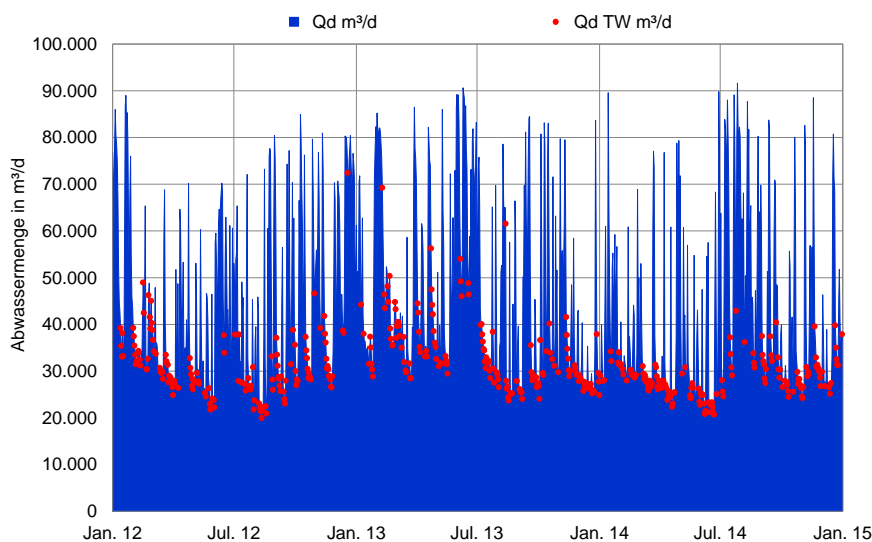


Abb. 15: Abwassermenge Kläranlage Langwiese

Die im Jahresmittel in der Kläranlage behandelte Abwassermenge wird zu je ca. 30 % durch Schmutzwasser und in das Kanalsystem eindringendes Fremdwasser verursacht. Der Rest oder ca. 40 % entfällt auf das von befestigten Flächen abfließende Niederschlagswasser.

### Ablaufbeschaffenheit

Unter den gegebenen Betriebsbedingungen werden die in der Tabelle 2 (Ablauf Nachklärbecken) und der Tabelle 3 (Ablauf FlockungsfILTER) angegebenen Konzentrationen erreicht.

Tab. 2: Kläranlage Langwiese / Beschaffenheit Ablauf NKB

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012	2013	2014
CSB	mg/L	20	22	21
N <sub>anorg</sub>	mg/L	12,0	13,1	13,4
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	0,10	0,07	0,18
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,84	0,67	0,82
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	0,53	0,51	0,61
AFS	mg/L	5,6	6,0	6,0

Tab. 3: Kläranlage Langwiese / Beschaffenheit Ablauf Flockungsfilter

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012	2013	2014 mit PAK
CSB	mg/L	18	18	15
N <sub>anorg</sub>	mg/L	9,9	9,2	9,6
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	0,14	0,06	0,06
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,20	0,23	0,15
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	-	0,15	0,10
AFS	mg/L	2,4	2,8	2,0

### Umgesetzte Technologie

Nach den im Land Baden-Württemberg durchgeführten Voruntersuchungen an anderer Stelle hatte sich der zuständige Abwasserzweckverband für die Adsorptionstechnologie entschieden. Umgesetzt wurde eine Anlage, in der aus der Nachklärung ablaufendes gereinigtes Abwasser mit PAK versetzt wird, diese in einem dreigeteilten Reaktionsbecken ihre Wirkung entfalten kann und nach Zugabe von Fäll- und Flockungshilfsmittel in einem

Absetzbecken abgeschieden wird (Abb. 16). Die abgesetzte PAK wird in die Reaktionsstufe zurückgeführt und in dieser eine bestimmte PAK-Konzentration (g/L) eingestellt.

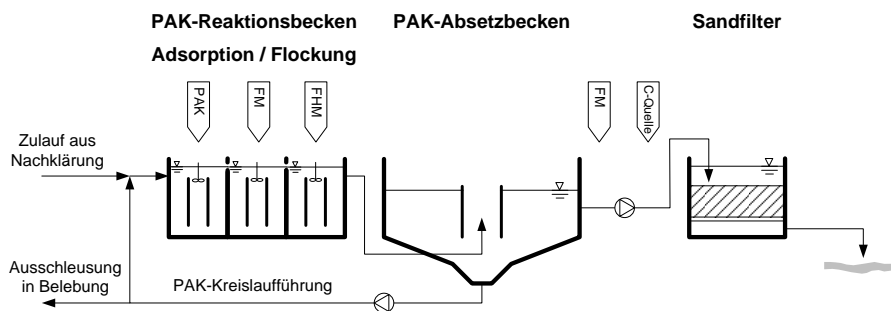


Abb. 16: Verfahrensschema - PAK-Anlage mit Schnellsandfilter

Der durch Nachdosierung frischer PAK entstehende Überschuss wird in die biologische Stufe abgezogen und mit dem biologischen Überschussschlamm entfernt. Der Überschussschlamm wird gemeinsam mit dem Primärschlamm anaerob stabilisiert, entwässert, getrocknet und danach verbrannt. Das aus dem PAK-Absetzbecken ablaufende Abwasser wird in Schnellsandfiltern filtriert und in die Schussen eingeleitet.

### Anlagenbetrieb

Die vollständige Inbetriebnahme der PAK-Anlage erfolgte im Oktober 2013. Bis Ende 2013 fand keine PAK-Ausschleusung statt, um den Feststoffgehalt im Reaktionsbecken zu steigern. Auf Grund von Lieferschwierigkeiten musste Anfang 2014 der PAK-Lieferant gewechselt werden.

Die Dosierung der Pulverkohle wurde im Untersuchungszeitraum so eingestellt, dass etwa 10 mg PAK/L Abwasser erreicht werden. Eine automatische Regelung der PAK-Dosierung, z. B. auf Basis der Abwassermenge, war auf Grund noch fehlender regelungstechnischer Einrichtungen bzw. der notwendigen softwaretechnischen Programmierung im Untersuchungszeitraum nicht möglich.

### Probenahme

Die Probenahmen erfolgten als 24 h-Mischprobe mit automatischen, klimatisierten Probenehmern an folgenden Stellen der KA Langwiese:

- Ablauf Vorklärung
- Ablauf Nachklärung (= Zulauf PAK-Anlage)

- Ablauf PAK-Anlage (= Zulauf Flockungsfilter)
- Ablauf Kläranlage (= Ablauf Schnellsandfilter)

Die jeweilige Probe wurde in einem ca. 25 L fassenden Glasgefäß gesammelt und gekühlt aufbewahrt. Im Untersuchungszeitraum erfolgten insgesamt 13 Probenahmen für die Haupt- und Begleitanalytik zur Bestimmung von Spurenstoffen, Keimen etc. Fünf davon fanden vor Inbetriebnahme der PAK-Anlage statt.

Zur Kontrolle des Anlagenbetriebs wurden täglich Proben entnommen und analysiert. Je nach Parameter lag das Untersuchungsintervall zwischen täglich (z. B. CSB) und wöchentlich (z. B. Phosphor).

### Auswahl Pulverkohle

Zur Auswahl einer geeigneten PAK wurden Vorversuche durchgeführt. Die Versuche erfolgten im Labor der Kläranlage Langwiese und wurden mit Abwasser aus dem Nachklärbecken durchgeführt. Hierbei wurde die Entnahmewirkung der Kohlen bei drei verschiedenen PAK-Konzentrationen (5 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L) bzgl. der Parameter DOC, CSB, SAK<sub>254</sub> und Wellenlängenscan zwischen 200 nm und 300 nm (Scan<sub>200-300</sub>) getestet (Abb. 17). Die Aktivkohlen 1 und 2 wiesen die besten Entnahmewirkungen auf.

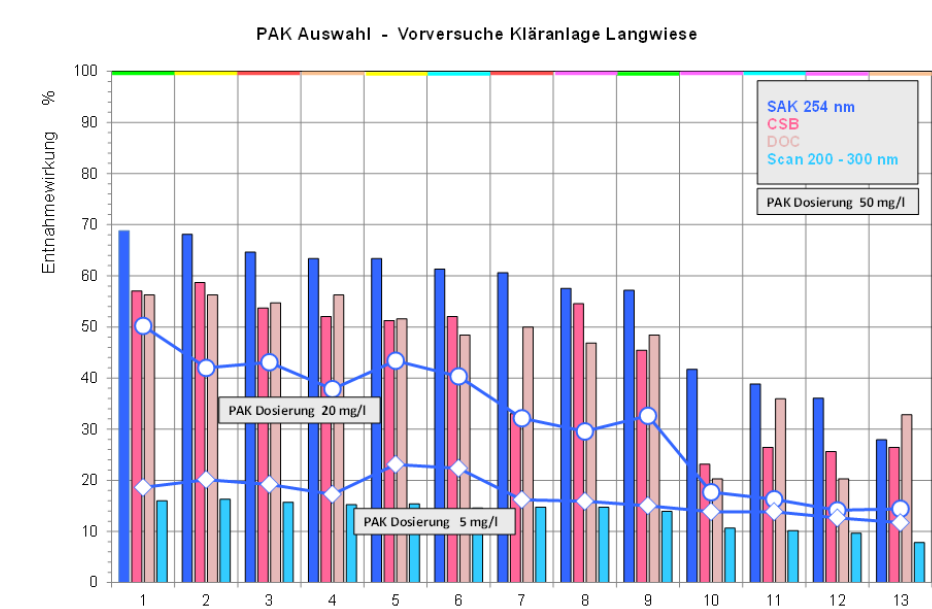


Abb. 17: Auswahl PAK / Voruntersuchungen Labor

## Anlagentechnische Umsetzung

Der Bau der Anlage zur Spurenstoffelimination mittels pulverisierter Aktivkohle nach dem Ulmer Verfahren wurde 2010 begonnen und mit der Inbetriebnahme im Juli 2013 abgeschlossen. Realisiert wurde sie auf der Freifläche zwischen den drei Nachklärbecken (Abb. 18 und 19).

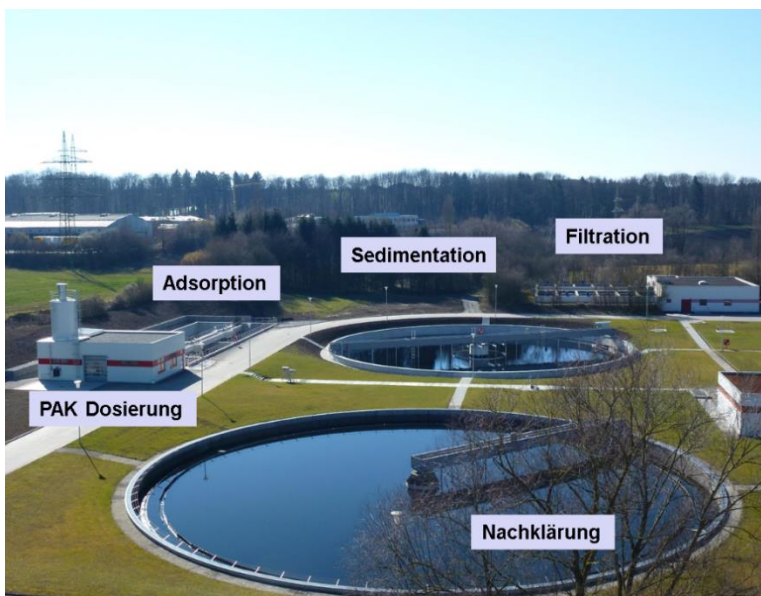
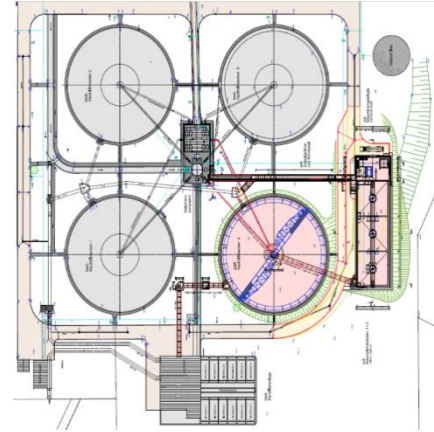


Abb. 18: KA Langwiese / Anlage zur Spurenstoffelimination



Bauphase Adsorptionsbecken



Bauphase Sedimentationsbecken



PAK Zugabe / Reaktionsraum



PAK Dosierpumpe



Sedimentationsbecken



Ablauf Sedimentationsbecken



Abb. 19: Bauphase und Anlagenbetrieb mit Pulverkohle

### 3.8.2 Testsystem 2 - Kläranlage Eriskirch

*Abwasserverband Unteres Schussental; Verfahrenstechnologie Oxidation/  
Filtration/Adsorption; Ozon/Sandfilter/granulierte Aktivkohle nach biologischer Reinigung.*

Der AV Unteres Schussental hatte sich bereit erklärt, an dem Projekt SchussenAktivplus zur Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser teilzunehmen, die Kläranlage Eriskirch für Versuche zur Verfügung gestellt und die Untersuchungen unterstützt.

#### **Aufgabenstellung**

In diesem Teilprojekt sollte die Entnahmewirkung von Ozon in Kombination mit einem Schnellsandfilter bzw. granulierter Aktivkohle bezüglich der Spurenstoffe und Keime im halbtechnischen Maßstab mit kommunalem Abwasser untersucht werden.

Die Ergebnisse zu CSB, Nährstoffe und dem spektralen Absorptionskoeffizient bei 254 Nanometer ( $SAK_{254}$ ) basieren auf den durchgeführten Eigenkontrollen und Online-Messungen.

#### **Verfahrensschema der Kläranlage Eriskirch**

Die Abwasserreinigung erfolgt in Eriskirch mechanisch, biologisch und chemisch. Da sich die Kläranlage im Einzugsgebiet des Bodensees befindet, sind bei deren Anschlussgröße Ablaufgrenzwerte von 0,3 mg/L beim Gesamtphosphor einzuhalten. Aus diesem Grund verfügt die Anlage über eine Flockungsfiltration (FF) (Abb. 20).

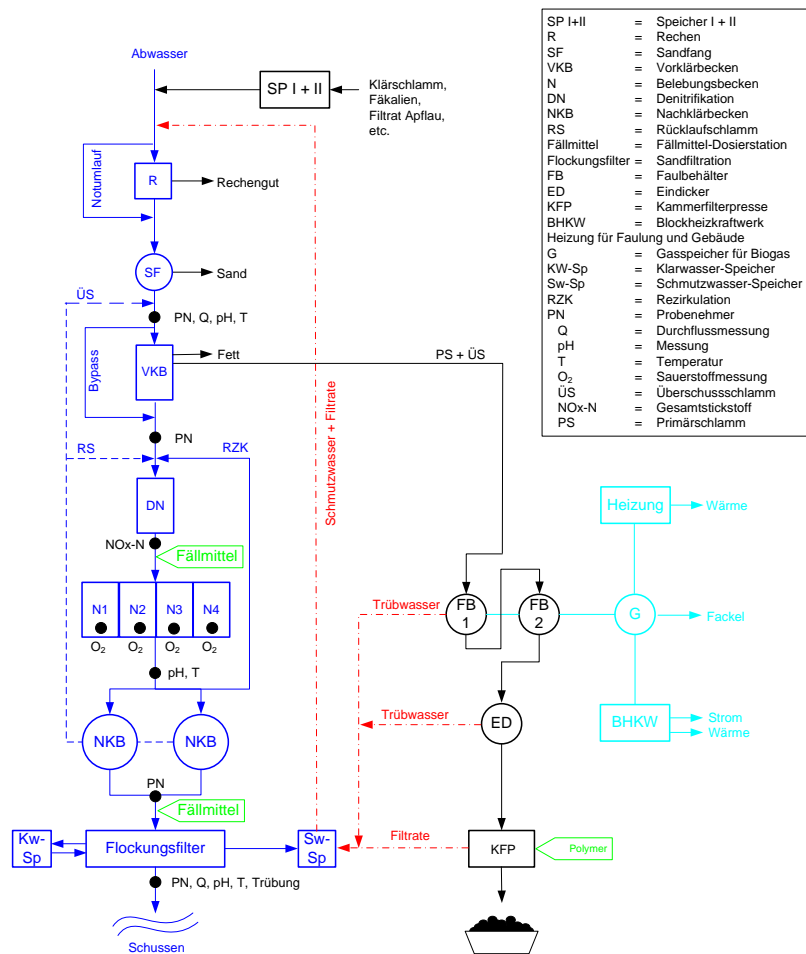


Abb. 20: Verfahrensschema der Kläranlage Eriskirch

## Abwassermenge

Die Zuflussganglinie für die Jahre 2012 bis 2014 ist in Abb. 21 dargestellt. Im Jahresmittel fielen ca. 11.000 m<sup>3</sup>/d an. Die Abwassermenge kann nach längeren Trockenwetterperioden auf bis zu ca. 5.000 m<sup>3</sup>/d zurückgehen und im Regenwetterfall auf bis zu ca. 30.000 m<sup>3</sup>/d ansteigen. Der Maximalzufluss liegt bei Trockenwetter im Bereich um 150 L/s. Bei Regenereignissen sind bis zu 350 L/s zu verzeichnen.

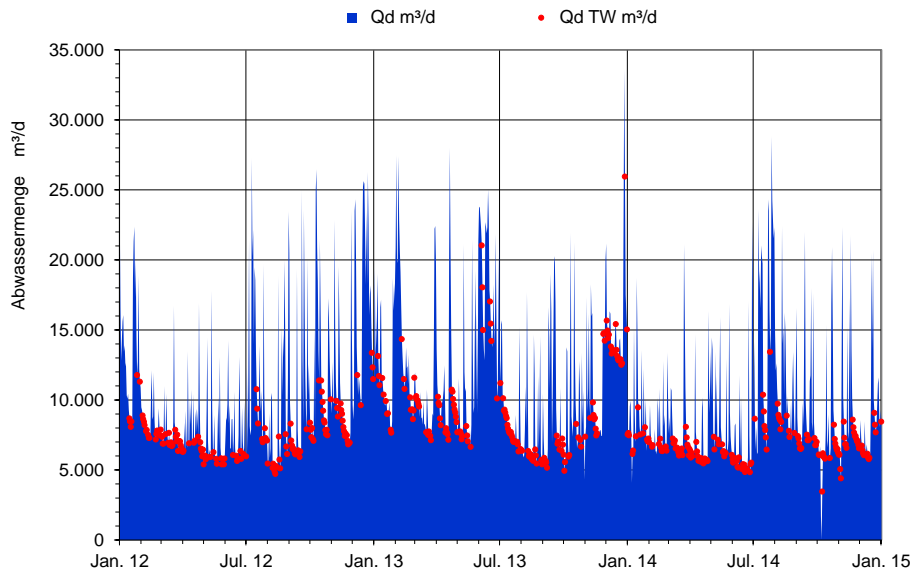


Abb. 21: Abwassermenge Zulauf Kläranlage Eriskirch

In dem Rohabwasser ist die Schmutzfracht von ca. 50.000 Einwohnerwerten (EW) enthalten. Die Konzentrationen bewegen sich im Ablauf der Vorklärung in folgenden Bereichen (Durchschnitt, minimal und maximal in der Tagessammelprobe): CSB  $\bar{\varnothing}$  250 mg/L (50 / 700),  $N_{ges}$   $\bar{\varnothing}$  50 mg/L (10 / 100),  $P_{ges}$   $\bar{\varnothing}$  5,6 mg/L (1 / 16). Das Abwasser weist einen Überhang beim Stickstoff auf. In der Kläranlage kann eine externe C-Quelle eingesetzt werden.

### Ablaufbeschaffenheit

Unter den gegebenen Betriebsbedingungen werden die in der Tab. 4 (Ablauf Nachklärbecken) und der Tab. 5 (Ablauf Flockungsfilter) angegebenen Konzentrationen erreicht.

Tab. 4: Kläranlage Eriskirch / Ablauf NKB während Versuchsbetrieb

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012 Okt. - Dez.	2013 Jan. - Dez.	2014 Jan. - Sept.
CSB	mg/L	16	21	24
$N_{anorg}$	mg/L	13,2	16,1	17,4
$NH_4-N$	mg/L	1,05	0,27	0,17
$P_{ges}$	mg/L	0,85	1,50	1,37
$PO_4-P$	mg/L	-	-	-
AFS	mg/L	4,7	4,3	4,9

Tab. 5: Kläranlage Eriskirch / Beschaffenheit Ablauf Flockungsfilter

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012	2013	2014
CSB	mg/L	18	16	18
N <sub>anorg</sub>	mg/L	14,2	14,3	16,7
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	1,20	0,30	0,27
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,22	0,29	0,25
PO <sub>4</sub> -P	mg/L	0,20	0,26	0,24
AFS	mg/L	5,0	2,9	2,8

### Versuchsanlage zur Spurenstoffelimination

In der Versuchsanlage sollte die Wirkung von Ozon in Kombination mit granulierter Aktivkohle und Sandfilter auf die Entnahme von Spurenstoffen und Keimen untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde der Ablauf aus der Nachklärung mit Ozon behandelt. Das mit Ozon behandelte Abwasser wurde danach aufgeteilt und in zwei getrennten abwärts durchströmten Filteranlagen weiter behandelt. Als Filtermedium wurde granuliert Aktivkohle (GAK) verwendet. Um den Einfluss von abfiltrierbaren Stoffen zu erfassen, wurde einem GAK Filter, in einem abwärts durchströmten Zweischichtfilter (Hydroanthrazit über Sand), vorfiltriertes Wasser zugeführt (siehe Schema Versuchsanlage in Abb. 22). In allen Filtern entwickelte sich ein schleimiger Bewuchs, sodass von biologisch aktiven Filtern ausgegangen werden kann.

Der Aufbau der Filter geht aus der Darstellung in Abb. 23 hervor. Die Filter wurden konstant mit einer Filtergeschwindigkeit von 10 m/h betrieben. Gespült wurde diskontinuierlich mit Luft und Wasser nach einem vorgegebenen Spülprogramm. Am Ende der Spülung wurde mit Wasser eine Klassierung der Filterschichten erreicht. Bei den gewählten Spülgeschwindigkeiten wurde die Beschaffenheit der Filtermedien berücksichtigt. Die Filter wurden im Mittel einmal täglich gespült. Bei einem höheren Druckverlust (Regenwetter mit Feststoffabtrieb aus der Nachklärung) mussten die Spülintervalle bei den GAK Filtern ohne Vorfiltration auf bis zu fünf Stunden verkürzt werden.

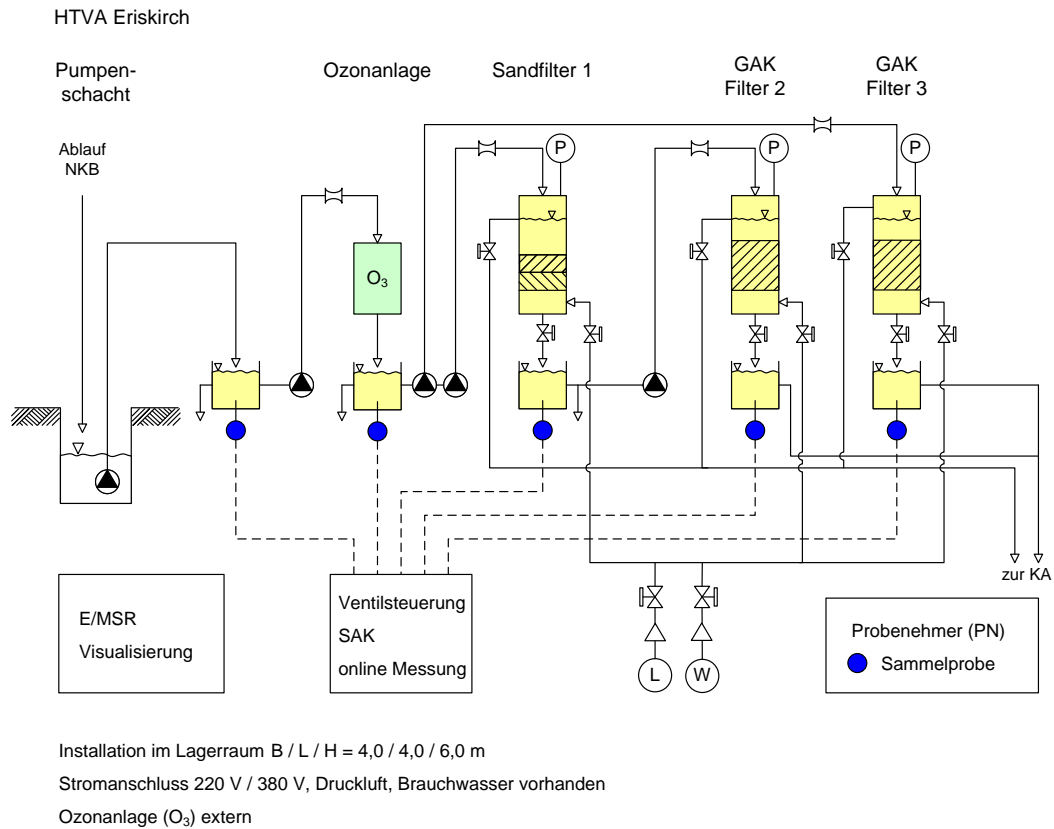


Abb. 22: Versuchsanlage Eriskirch / Schematische Darstellung

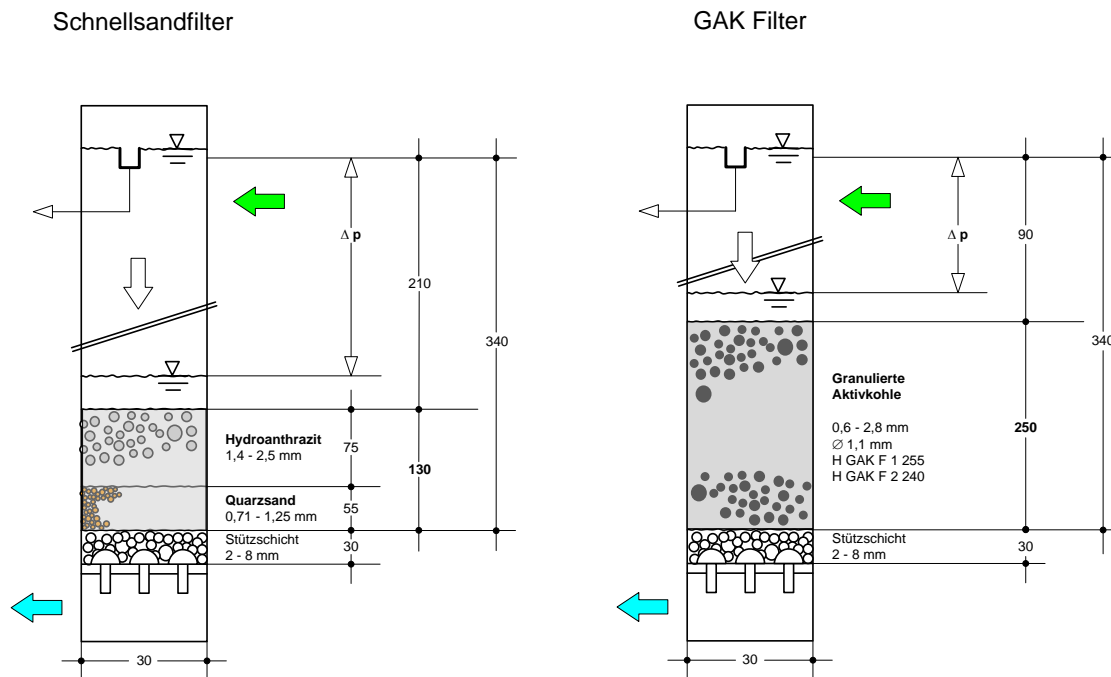


Abb. 23: Versuchsanlage Eriskirch / Filter Aufbau und Abmessungen

Durch die Spülungen konnten die Filterschichten immer frei gespült werden. Anhaftungen oder Ablagerungen waren keine zu verzeichnen. Jahreszeitlich bedingt wurden die Filterkörper von Würmern besiedelt, ohne dass dadurch deren Betrieb beeinträchtigt worden ist.

### Versuchsdurchführung

Die Anlage wurde mit der vorgesehenen Konfiguration in Betrieb genommen und über ca. ein Jahr kontinuierlich und konstant beschickt. Dabei wurde festgestellt, dass bei den gegebenen Gehalten an abfiltrierbaren Stoffen im Ablauf der Nachklärung der GAK-Filter auch ohne Vorfiltration betrieben werden kann.

Daraufhin wurde die Anlagenkonfiguration geändert und ein Filter mit neuer Aktivkohle befüllt und dieser direkt mit dem Ablauf der Nachklärung beaufschlagt. Dadurch war es möglich, die Wirkung der granulierten Aktivkohle ohne vorherige Ozonanwendung zu erfassen (Abb. 24).

V1 Ozon + Sandfilter (SF) + GAK

V2 Ozon + GAK

V2 Ozon + GAK

V3 Ozon + SF

V4 GAK

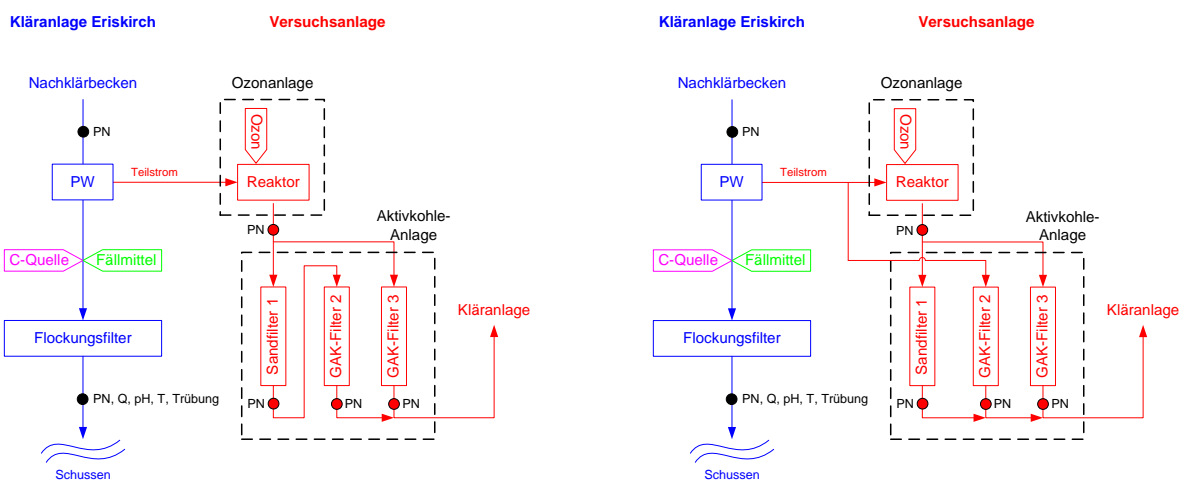


Abb. 24: Verfahrensschemata halbtechnische Versuchsanlage

Durch die Veränderung konnte die Wirkung von Ozon in Verbindung mit einer klassischen Filtration und mit einer GAK-Filtration erfasst werden, um darüber hinaus auch eine Aussage zu ermöglichen, wie sich die Entnahmewirkung der GAK ohne Ozon darstellt.

### Anlagenbetrieb

Die Ozonanlage wurde im August 2012 und die der Aktivkohle-Anlage im Folgemonat in Betrieb genommen. Im Anschluss fanden Anlagenoptimierungen (z. B. Automatisierung der

Filterrückspülungen) statt. Im August 2013 wurde der GAK-Filter 2 mit frischer Aktivkohle befüllt und die Anlage auf die verfahrenstechnischen Varianten V2 bis V4 (siehe Abb. 24) umgestellt. Der Anlagenbetrieb endete Anfang November 2014.

Die Anlage wurde mit einer Sonde zur Onlinemessung des  $SAK_{254}$  ausgestattet, die abwechselnd mit Abwasser aus den verschiedenen Anlagenteilen beschickt wurde, so dass mit einer Messung alle Probenahmestellen bedient werden konnten. Nach anfänglichen Problemen mit der  $SAK_{254}$ -Sonde musste diese im Februar 2013 ausgetauscht werden. Ab Ende Mai 2014 gab es erneut Probleme, die nicht mehr zufriedenstellend behoben werden konnten. Ein Ausfall der Onlinemessung war im Juni zu verzeichnen.

### **Probenahme**

Die Probenahme erfolgte als 24 h-Mischprobe mit automatischen, klimatisierten Probenehmern an folgenden Stellen der KA Eriskirch sowie der Versuchsanlage:

- Ablauf Vorklä rung
- Ablauf Nachklä rung (= Zulauf Versuchsanlage)
- Ablauf Klä ranlage (= Ablauf Flockungsfilter)
- Ablauf Ozonanlage
- Ablauf Sandfilter 1
- Ablauf GAK Filter 2
- Ablauf GAK Filter 3

Die jeweilige Probe wurde in einem ca. 25 L fassenden Glasgefäß gesammelt und gekühlt aufbewahrt. Im Untersuchungszeitraum fanden insgesamt 14 Probenahmen für die Haupt- und Begleitanalytik zur Bestimmung von Spurenstoffen, Keimen etc. statt. Zwei davon fanden vor Inbetriebnahme der Versuchsanlage, fünf vor und sieben nach der verfahrenstechnischen Umstellung statt.

Zur Kontrolle des Anlagenbetriebs wurden zwei- bis dreimal pro Woche Proben entnommen und vor Ort analysiert. Je nach Parameter lag das Untersuchungsintervall zwischen einmal (z. B. Ammonium) und maximal dreimal pro Woche (z. B. CSB).

### **Auswahl der granulierten Aktivkohle**

In Voruntersuchungen wurden granulierten Aktivkohlen verschiedener Hersteller untersucht und deren Eignung für die Anwendung in einer Filtrationsstufe getestet. Dabei wurden neben



der Adsorptionswirkung bezüglich CSB, DOC und SAK<sub>254</sub> bei der Auswahl auch den Betrieb betreffende Gesichtspunkte mit bewertet.

Zu letzterem zählen beispielsweise die Korngrößenverteilung, die Abriebfestigkeit und das Verhalten der Körnung bei der Spülung mit Wasser oder in Kombination mit Luft. Bei den untersuchten Kohlen ergaben sich bei zwei Produkten annähernd vergleichbare Ergebnisse und Einschätzungen (Abb. 25).

Für die Untersuchungen wurde die GAK mit der Bezeichnung C ausgewählt. Bei der Entscheidung gaben der etwas kleinere Durchmesser und die höhere Abriebfestigkeit den Ausschlag. Letztere beruhte dabei aber nicht auf reproduzierbaren Messergebnissen, sondern auf der subjektiven Einstufung an der Untersuchung beteiligter Personen, die händisch den Abrieb zwischen zwei Fingern nachvollzogen.

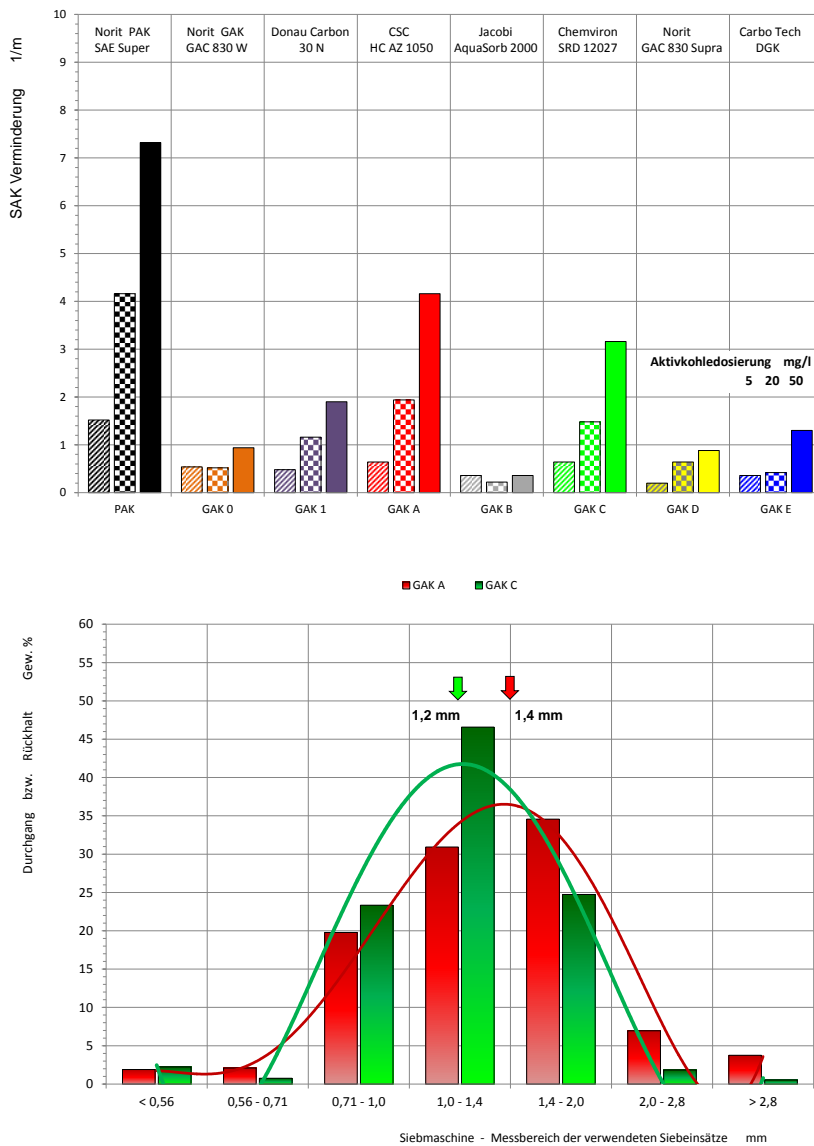


Abb. 25: Granulierte Aktivkohlen im Vergleich

### Anlagentechnische Umsetzung

Damit die Untersuchungen vor Ort in der Kläranlage Eriskirch durchgeführt werden konnten, waren entsprechende Vorarbeiten notwendig und mussten Anlagenteile und Einrichtungen realisiert werden. Die Versuchsanlage wurde in dem Schlammmentwässerungsgebäude realisiert, in dem die Kammerfilterpresse (KFP) für die Klärschlammmentwässerung untergebracht ist. Das Gebäude liegt zwischen den Faulbehältern und dem Nacheindicker (NED) (Abb. 26, 27 und 28).

Faulbehälter    KFP    NED



Abb. 26: Kläranlage Eriskirch / Reinigungsstufen – Einrichtungen

### Ozonanlage / Industrievariante



### Gasförmiges Ozon



Ozonanlage / Einbau in Versuchsanlage



Konzentration / Druck



Filter / Hydroanthrazit über Quarzsand

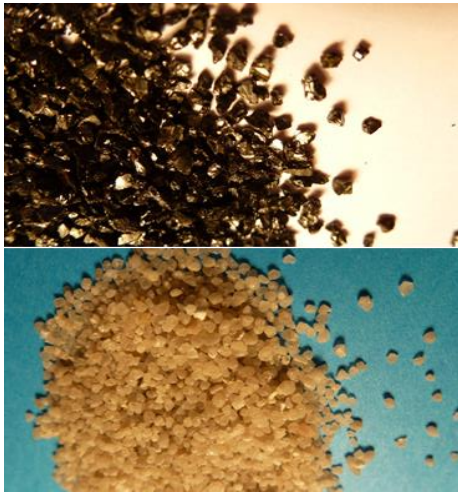


Filtersäulen mit granulierter Aktivkohle



Abb. 27: Ozonanlage / Versuchsanlage Eriskirch

Hydroanthrazit HA / Quarzsand QS



Granulierte Aktivkohle GAK



Abb. 28: Halbtechnische Filteranlage (1 x HA/QS, 2 x GAK)

### 3.8.3 Testsystem 3 - Kläranlage Merklingen

*Gemeinde Merklingen; Verfahrenstechnologie Oxidation/Filtration; Ozonanwendung vor Langsamsandfilter.*

Die Gemeinde Merklingen hatte sich bereit erklärt, an dem Projekt SchussenAktivplus zur Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser teilzunehmen und ihre Kläranlage, insbesondere den Langsamsandfilter, für Versuche zur Verfügung zu stellen und somit die Untersuchungen zu unterstützen.

#### **Aufgabenstellung**

In diesem Teilprojekt sollte die Entnahmewirkung von Ozon in Kombination mit einem großtechnisch vorhandenen Langsamsandfilter (LSF) für die Entnahme von Spurenstoffen und Keimen aus dem kommunalen Abwasser untersucht werden. Die Ergebnisse zum CSB basieren auf den durchgeführten Eigenkontrollen. Die exemplarisch dargestellten Entnahmewirkungen bei vier ausgewählten Spurenstoffen (1H-Benzotriazol - Korrosionsschutzmittel, Carbamazepin - Antiepileptikum, Diclofenac - Schmerzmittel, Sulfamethoxazol - Antibiotikum) und dem spektralen Absorptionskoeffizienten bei 254 Nanometer (SAK<sub>254</sub>) beruhen auf den durchgeführten Analysen der Projektpartner. Die Analyseergebnisse des Stoffes Iomeprol (Röntgenkontrastmittel) konnten nicht verwertet

werden, da die Konzentrationen dieser Chemikalie bereits im Zulauf zur Kläranlage zu gering waren.

### Verfahrensschema der Kläranlage Merklingen

Das Abwasser wird in Merklingen mechanisch, biologisch und chemisch gereinigt und der Kläranlagenablauf in einen Erdfall eingeleitet. Zum Schutz des Karstgebietes verfügt die Anlage neben einer Ultrafiltrationsanlage auch über einen Langsandsandfilter (LSF) (Abb. 29).

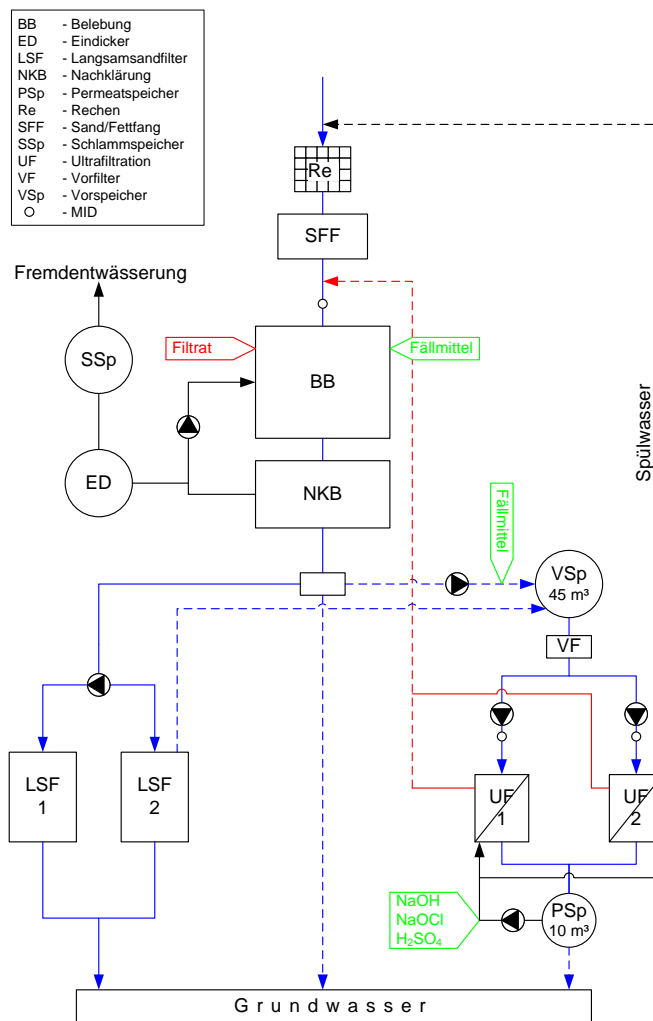


Abb. 29: Verfahrensschema Kläranlage Merklingen

### Abwassermenge

An die Kläranlage sind ca. 2.300 EW angeschlossen. Der Zufluss beträgt bei Trockenwetter ca. 200 – 250 m<sup>3</sup>/d. Er steigt bei Regenwetter stark an, sodass im Jahresmittel ca. 600 m<sup>3</sup>/d zu verzeichnen sind. Die Ganglinie des Zuflusses für die Jahre 2012 bis 2014 enthält die Abb. 30. Der Maximalzufluss bei Trockenwetter kann bis zu 10 L/s betragen. Bei Regenereignissen steigt der Zulauf auf bis zu 30 L/s an.

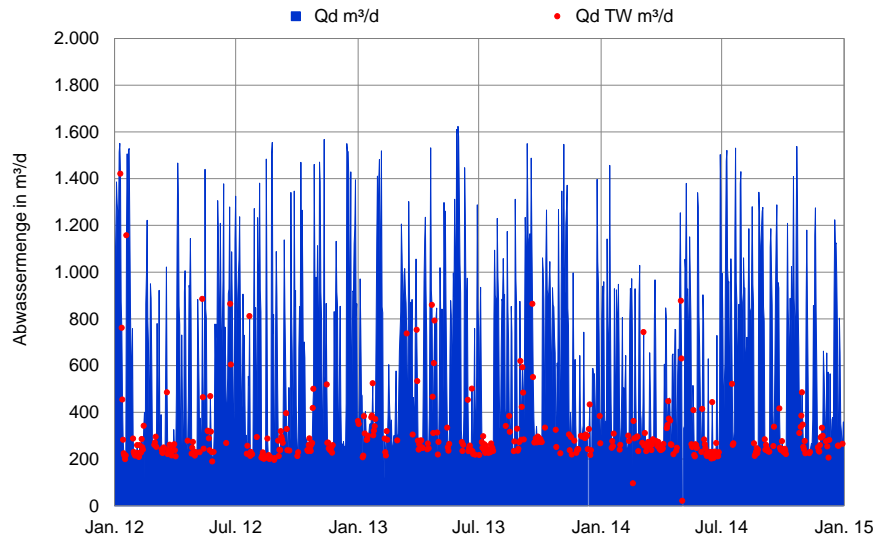


Abb. 30: Abwassermenge Kläranlage Gemeinde Merklingen

Der Ablauf aus der Nachklärung wurde früher in Merklingen aufgeteilt. Eine Hälfte des Abwassers wurde in einer Ultrafiltrationsanlage (UF) behandelt und die andere klassisch filtriert, wozu ein Langsandsandfilter verwendet wird, der auch bei der Trinkwasseraufbereitung zum Einsatz kommt. Von den beiden vorhandenen Filtern wird einer für die Regenwasserbehandlung und einer für die Abwasserreinigung genutzt. Die UF-Anlage war während der Untersuchungen im Rahmen von SchussenAktiv*plus* nicht in Betrieb.

### Langsandsandfilter

Die beiden Langsandsandfilter sind in Reihe angeordnet. Der im Lageplan rechts und damit östlich angelegte Filter wird für die Behandlung des Nachklärbeckenablaufs eingesetzt. Er wurde auch für die im Rahmen von SchussenAktiv*plus* durchgeführten Versuche verwendet (Abb. 31).

Vor Beginn der Untersuchungen wurde die oberste Filterschicht (ca. 2 – 5 cm) abgetragen und damit an der Oberfläche vorhandene Verunreinigungen entfernt. Durch die bislang von der Gemeinde durchgeführten Reinigungen wurden insgesamt ca. 15 cm der Filterschicht entfernt und nicht wieder aufgefüllt. Von den ursprünglich vorhandenen 100 cm sind damit nur noch 85 cm der Filterschicht in der Anlage effektiv vorhanden.

Der Füllstand im Filter wird über ein Ablaufrohr voreingestellt, so dass über dem aktuellen Filterschichtniveau noch ca. 40 cm Wasser stehen bleiben. Infolge der Beschickung und dem sich einstellenden Druckverlust steigt der Wasserspiegel über dem Filter an und kann bis zu

maximal 1 m einnehmen. Ist der maximale Wasserstand erreicht, entspricht dies einem Füllvolumen im Überstand von ca. 500 m<sup>3</sup>. Im eigentlichen Filterkörper sind bei einem geschätzten Porenvolumen von 35 % nochmals ca. 150 m<sup>3</sup> vorhanden.

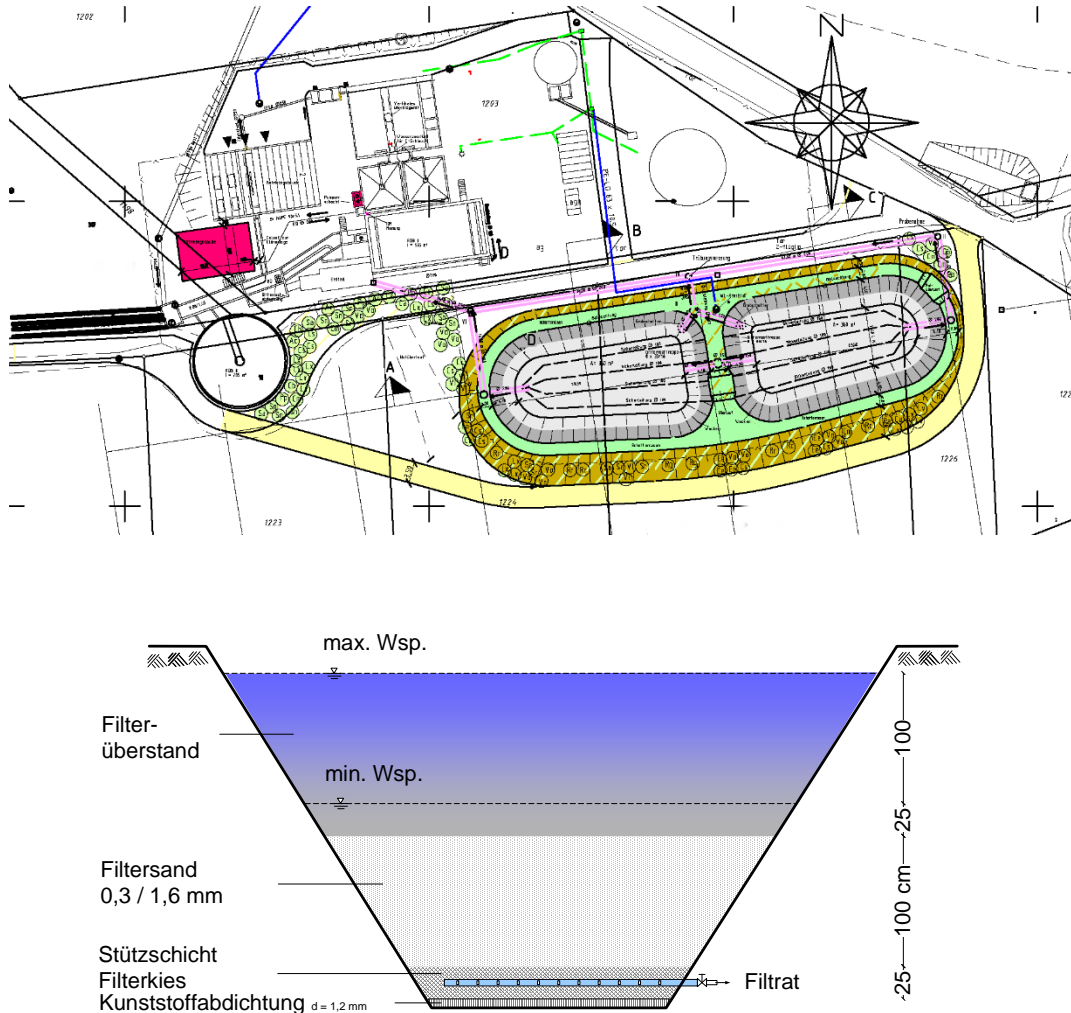


Abb. 31: Einbindung und Aufbau des Langsandsandfilters

Die Filterfläche des Langsandsandfilters ist ca. 360 m<sup>2</sup> groß. Ausgelegt ist er auf einen maximalen Zufluss von 18 m<sup>3</sup>/h, so dass sich eine Filtergeschwindigkeit von 0,05 m/h ergibt. Größenordnungen von 0,05 – 0,2 m/h sind bei der Aufbereitung von Trinkwasser üblich.

Bei der Auslegungswassermenge ergibt sich bei maximalem Füllstand eine Verweilzeit von ca. 1,5 Tagen. Bei Trockenwetterbedingungen verlängert sich diese auf bis zu fünf Tage.

### Ablaufbeschaffenheit

Unter den gegebenen Betriebsbedingungen in der Kläranlage werden im Ablauf der Nachklärung die in der Tab. 6 angegebenen Werte erreicht. Diese vermindern sich durch die Wirkung des Langsandsfilters auf die in Tab. 7 enthaltenen Konzentrationen.

Tab. 6: Kläranlage Merklingen / Beschaffenheit Ablauf NKB

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012	2013	2014
CSB	mg/L	39	42	40
N <sub>anorg</sub>	mg/L	17,3	21,6	15,7
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	1,30	2,10	2,10
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,90	0,80	0,86

Tab. 7: Kläranlage Merklingen / Beschaffenheit Ablauf Langsandsandfilter

Parameter / Jahr 85 % Werte		2012	2013 mit Ozon	2014 mit Ozon
CSB	mg/L	36	30	22
N <sub>anorg</sub>	mg/L	16,4	16,4	22,2
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	1,30	1,14	1,05
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,80	0,65	0,86

Durch die Filtration werden bei den dargestellten Parametern Verbesserungen erreicht. Der CSB verringert sich durch die reine Wirkung des Filters (Jahr 2012) von ca. 39 mg/L auf ca. 36 mg/L und nimmt dadurch um 3 mg/L oder ca. 10 % ab.



## Versuchsanlage zur Spurenstoffelimination

In der Versuchsanlage sollte die oxidative Wirkung von Ozon  $O_3$  auf die Entnahme von Spurenstoffen untersucht werden und dabei die Nachbehandlung des mit Ozon versetzten Abwassers in einem Langsandsandfilter erfolgen.

Um diese Aufgabenstellung mit möglichst geringem Aufwand (apparativ, steuerungstechnisch und finanziell) bei den gegebenen Randbedingungen umsetzen zu können, wurde die notwendige Ozonstufe mit einer Pumpe kontinuierlich beschickt. Deren Ablauf wurde dem Langsandsandfilter zugeführt (siehe Schema in Abb. 32). Probenahmen erfolgten an den angegebenen Stellen.

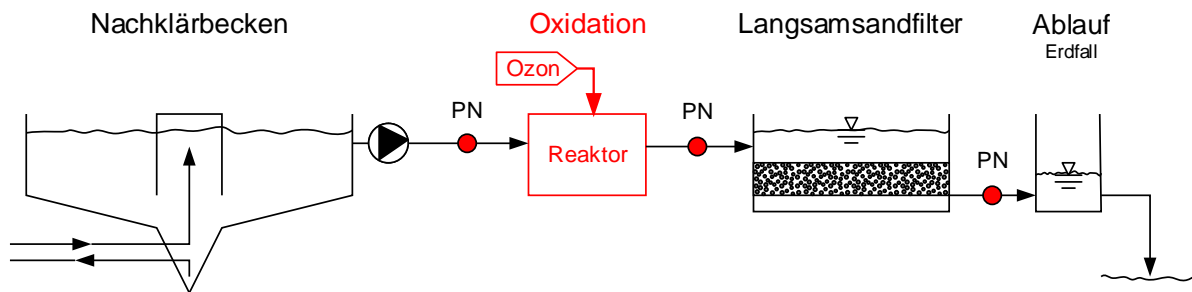


Abb. 32: Verfahrensschema - Einbindung Ozonanlage

Die Ozonanlage im halbertechnischen Maßstab war in einem Container eingebaut und verfügte über alle notwendigen Einrichtungen, um Ozon erzeugen zu können und dieses mit dem zugeführten Abwasser in Kontakt zu bringen.

In unmittelbarer Nähe zur Kläranlage wird in einem Schotterwerk Gestein aufbereitet und dabei Staub erzeugt. Je nach Windrichtung wurden dabei innerhalb des Kläranlagengeländes Partikelkonzentrationen erreicht, bei denen die verwendeten Filtersysteme überlastet wurden und somit zeitweise Störungsmeldungen generierten.

## Versuchsdurchführung

Die Anlage wurde mit der vorgesehenen Konfiguration in Betrieb genommen und dauerhaft betrieben. Witterungsbedingt mussten im Verlauf der Untersuchungen noch Nachrüstungen erfolgen und Begleitheizungen installiert werden.

Jahreszeitlich bedingt wuchsen im Filterüberstand Algen und Wasserlinsen. Optisch wies die Wasseroberfläche dadurch eine Grünfärbung auf. Der Bewuchs bildete sich auch wieder zurück, totes organisches Material sedimentierte zum Teil auf die Filterfläche und belastete

dadurch den Langsandsfilter. Die Verhältnisse entsprachen dem natürlichen Betriebszyklus eines in der Praxis eingesetzten Filtersystems.

### **Anlagenbetrieb**

Die Inbetriebnahme der Ozonanlage startete im Oktober 2012. Während des Betriebs der Ozonanlage wurde der LSF ausschließlich mit Abwasser aus der Ozonanlage beschickt.

Im ersten Winter wurde die Ozonanlage von November 2012 bis Ende März 2013 nicht betrieben. Im nachfolgenden Winter 2013 / 2014 war dies möglich, weil alle Leitungen isoliert und mit einer Begleitheizung versehen waren.

Unabhängig von den durch die staubbelastete Umgebungsluft verursachten Störungen, gab es mehrere kurzzeitige Anlagenstillstände. Sie waren u. a. messtechnisch bedingt. Ursächlich dafür waren Fehlmessungen an einer Sonde zur Raumluftüberwachung.

### **Probenahmen**

Die Proben wurden in Form einer 24 h-Mischprobe mit automatischen, klimatisierten Probenehmern an folgenden Stellen der KA Merklingen sowie der Ozonanlage gezogen:

- Ablauf Mechanik (= Zulauf Biologie)
- Ablauf Nachklärung (= Zulauf Ozon-Anlage)
- Ablauf Ozon-Anlage (= Zulauf LSF)
- Ablauf LSF (= Ablauf Kläranlage)

Die jeweilige Probe wurde in einem ca. 25 L fassenden Glasgefäß gesammelt und gekühlt aufbewahrt. Im Untersuchungszeitraum fanden insgesamt fünf Probenahmen für die Haupt- und Begleitanalytik zur Bestimmung von Spurenstoffen, Keimen etc. statt. Eine davon erfolgte vor Inbetriebnahme der Ozon-Anlage.

Zur Kontrolle des Anlagenbetriebs wurden wöchentlich Proben entnommen und analysiert.

### **Anlagentechnische Umsetzung**

Damit die Untersuchungen vor Ort in der Kläranlage Merklingen durchgeführt werden konnten, waren entsprechende Vorarbeiten notwendig und mussten Anlagenteile und Einrichtungen realisiert werden (Abb. 33, 34 und 35).

Langsamsandfilter / Baufertigstellung



Seite Filterüberstand



Filter vor der Abschälung der obersten Schicht



Filterschicht 85 cm



Abb. 33: Langsamsandfilter Kläranlage Merklingen

Ozonanlage / Containervariante



Ozonerzeugung / Reaktionsraum



Ozonanlage / Zulauf Probenahme



Auslauf Ozonanlage



Abb. 34: Ozonanlage / Kläranlage Merklingen

Filter Sommerbetrieb



Filter Frühjahr



Filter mit Wasserlinsen



Filter mit Algen und Wasserlinsen



Abb. 35: Langsamsandfilter / Jahreszeitliche Unterschiede

### **3.8.4 Testsystem 4 - Regenüberlaufbecken Mariatal**

*Stadt Ravensburg; Verfahrenstechnologie Sedimentation; Erweiterte Feststoffabscheidung mittels Lamellenklärer bei Regen- bzw. Mischwasser*

Die Stadt Ravensburg hatte sich bereit erklärt, an dem Projekt SchussenAktiv*plus* zur Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser teilzunehmen. Das Stadtgebiet entwässert überwiegend im Mischsystem und verfügt über mehrere Regenüberlaufbecken. Das RÜB Mariatal ist das größte davon. Die dort vorhandenen Einrichtungen wurden für Versuche zur Verfügung gestellt.

#### **Aufgabenstellung**

In dem beantragten Teilprojekt sollte die Entnahmewirkung eines Lamellenklärers bezüglich der Spurenstoffe und Keime im halbtechnischen Maßstab bei der Regenwasserbehandlung an einem Regenüberlaufbecken (RÜB) untersucht werden.

Die Ergebnisse zu CSB, Stickstoff- und Phosphorverbindungen und den abfiltrierbaren Stoffen basieren auf den durchgeführten Eigenkontrollen.

#### **Einzugsgebiet des RÜB Mariatal**

Das Regenüberlaufbecken (RÜB) Mariatal ist das letzte Becken vor der Kläranlage Langwiese und das größte im Stadtgebiet von Ravensburg.

Dessen Drosselabfluss zur Kläranlage liegt im Regenwetterfall bei 925 L/s. Das direkte Einzugsgebiet des RÜB (Abb. 36, blauer Bereich) umfasst ca. 21.400 Einwohnerwerte (EW) und eine befestigte Fläche von ca. 220 ha. Aus den oberhalb liegenden Gebieten fließen dem RÜB bei Niederschlagsereignissen bis zu 630 L/s zu, die sich aus den Drosselabflüssen der vorgelagerten Becken ergeben.

#### **Abwassertechnische Randbedingungen**

Aus dem direkten Einzugsgebiet und den Abläufen aus den vorgelagerten Systemen kommen im Bemessungsfall bis zu 20 m<sup>3</sup>/s Abwasser im Zulauf zum ersten Stauraumkanal an (Abb. 37). Davon werden ca. 1 m<sup>3</sup>/s zur Kläranlage Langwiese weitergeleitet. Im Bemessungsfall gelangen die restlichen 19 m<sup>3</sup>/s in das Regenüberlaufbecken, wenn die Stauraumkanäle gefüllt sind. Deren Volumen beträgt ca. 13.000 m<sup>3</sup>. Hinzu kommen die

4.700 m<sup>3</sup> des eigentlichen Regenüberlaufbeckens, so dass im Gesamtsystem 17.700 m<sup>3</sup> Rückhaltevolumen verfügbar sind.

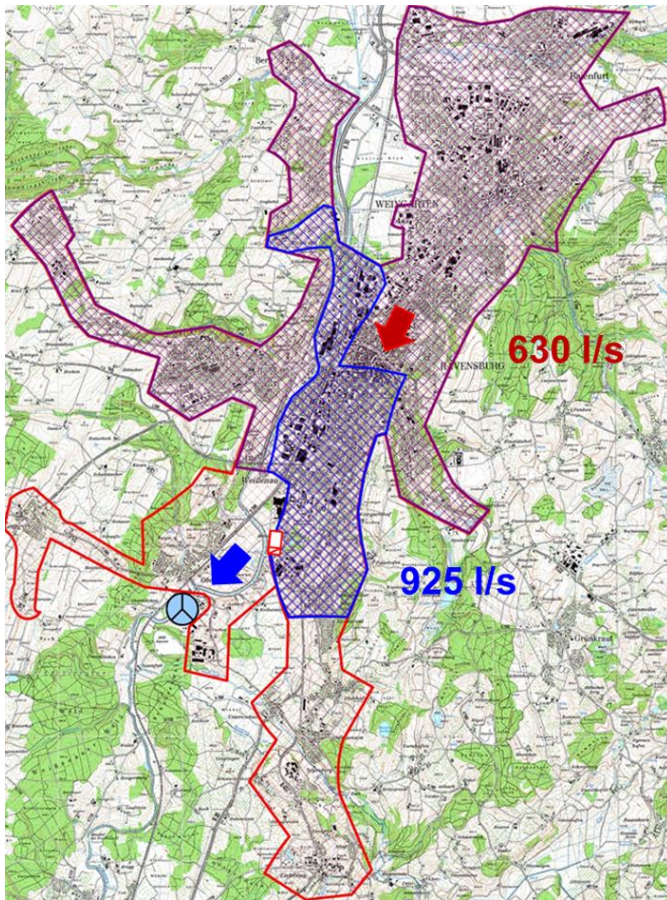


Abb. 36: RÜB Mariatal / Einzugsgebiet und Drosselabflüsse

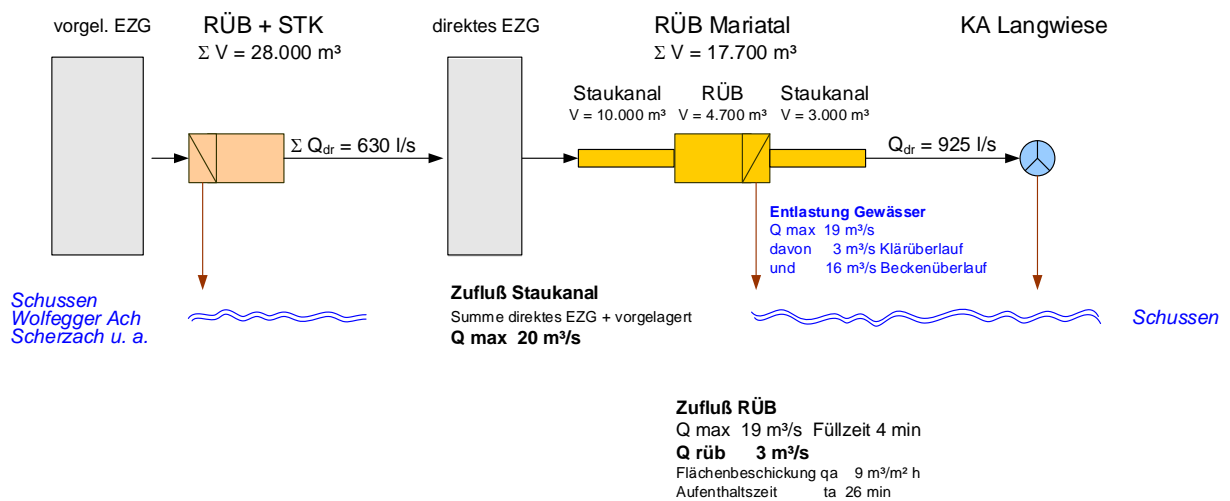


Abb. 37: Abwassertechnische Randbedingungen RÜB Mariatal

Ist das vorhandene Beckenvolumen gefüllt, gelangen im Bemessungsfall maximal 3 m<sup>3</sup>/s durch das Regenüberlaufbecken über den Klärüberlauf in das Gewässer. Dieser Anteil des Abwassers wird mechanisch durch die im Becken sich einstellende Absetzwirkung gereinigt. Die noch verbleibenden 16 m<sup>3</sup>/s werden am Beckenüberlauf direkt in das Gewässer abgeschlagen.

Das RÜB mit einem Inhalt von 4.700 m<sup>3</sup> verfügt über eine Oberfläche von 1.200 m<sup>2</sup> (Abb. 38). Bei der im Bemessungsfall durch das Becken strömenden Abwassermenge von bis zu 3 m<sup>3</sup>/s ergibt sich die hydraulische Oberflächenbelastung zu 9 m/h. Demnach können in dem Becken nur Feststoffe zurückgehalten werden, deren Sinkgeschwindigkeit größer als dieser Wert ist.

Bei Regenereignissen, deren Ergiebigkeit in L/s ha geringer ist als in der Bemessung unterstellt, kommt es auch zu einer geringeren Beaufschlagung des RÜB und damit einer wesentlich besseren Entnahmewirkung. Ein vollständiger Rückhalt ist im Regenwetterfall gegeben, wenn kein Regenwasser entlastet wird, was bei sehr vielen Regenereignissen der Fall ist.

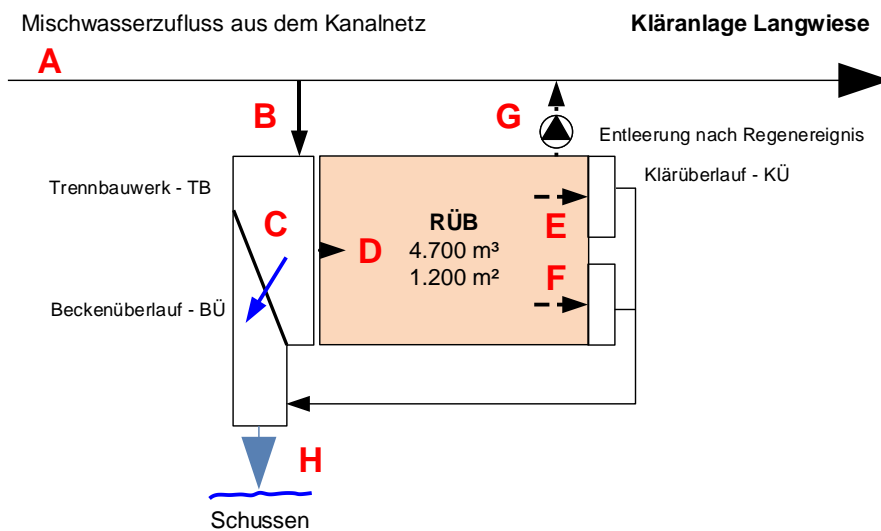


Abb. 38: RÜB Mariatal / Technische Voraussetzungen

Für die in dem Schema dargestellten Punkte A bis H sind nachfolgend die technischen Einrichtungen im Bild dargestellt (Abb. 39 und 40). Aus dem Zulauf (A) fällt das Abwasser über Schwellen (B) in das Trennbauwerk (C) und strömt daraus durch Öffnungen (D) in das RÜB. Über den Klärüberlauf (E) gelangt das mechanisch gereinigte Abwasser in den Auslauf (H) zur Schussen. Dorthin fließt auch das Abwasser, das im Trennbauwerk am Beckenüberlauf abgeschlagen wird, wenn die Maximalmenge zum RÜB überschritten ist. Die Beckenreinigung mittels Spülung (F) und die Entleerung durch das Pumpwerk (G) ergänzen die Darstellungen.

Zulauf / Stauraumkanal



Gerinne zur KA / Überlauf in das RÜB



Trennbauwerk / Beckenüberlauf



Einlauf RÜB



Abb. 39: RÜB Mariatal / Bautechnische Voraussetzungen



Ablauf RÜB / Klärüberlauf



RÜB / Spülung – abschnittsweise



Pumpwerk Entleerung



Auslauf Schussen / Entlastung



Abb. 40: RÜB Mariatal / Bautechnik und Betrieb

### Abwassermengen

In der Kläranlage Langwiese werden ca. 16 Mio. m<sup>3</sup> Abwasser pro Jahr gereinigt. Davon entfallen ca. 5,5 Mio. m<sup>3</sup>/a auf das Schmutzwasser und ca. 4,5 Mio. m<sup>3</sup>/a auf das in der Kanalisation abgeleitete Fremdwasser. Die verbleibenden 6 Mio. m<sup>3</sup>/a werden durch die

Abflüsse von befestigten Flächen bei Niederschlagsereignissen verursacht. Entlastet werden an den Einrichtungen zur Mischwasserbehandlung ca. 2 Mio. m<sup>3</sup>/a, davon am RÜB Mariatal ca. 250.000 m<sup>3</sup>/a.

### Abwasserbeschaffenheit im Zu- und Ablauf des RÜB

Unter den gegebenen Betriebsbedingungen wurden im Untersuchungszeitraum die in der Tab. 8 angegebenen Konzentrationen bei entsprechenden Regenereignissen mit einem Klärüberlauf ermittelt.

Tab. 8: RÜB Mariatal / Messwerte Zu- und Ablauf

Parameter / Jahr 85 % Werte Zulauf RÜB	2012 Aug. - Nov	2013 Mai - Nov
---	--------------------	-------------------

CSB	mg/L	192	339
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	3,6	3,2
P <sub>ges</sub>	mg/L	2,6	2,4
AFS	mg/L	107	138

Parameter / Jahr 85 % Werte Ablauf RÜB	2012 Aug. - Nov.	2013 Mai - Nov
---	---------------------	-------------------

CSB	mg/L	117	136
NH <sub>4</sub> -N	mg/L	3,6	3,4
P <sub>ges</sub>	mg/L	1,8	1,8
AFS	mg/L	54	74

### Umgesetzte Technologie zur möglichen Spurenstoff- und Keimentnahme

Eingesetzt wurde ein Lamellenklärer im halbtechnischen Maßstab (Abb. 41 und 42). Bei Regenereignissen wurde der Lamellenklärer mit Erreichen eines bestimmten Füllstands im RÜB über eine Pumpe mit Abwasser aus dem RÜB beschickt. Zeitgleich starteten die Probenehmer.

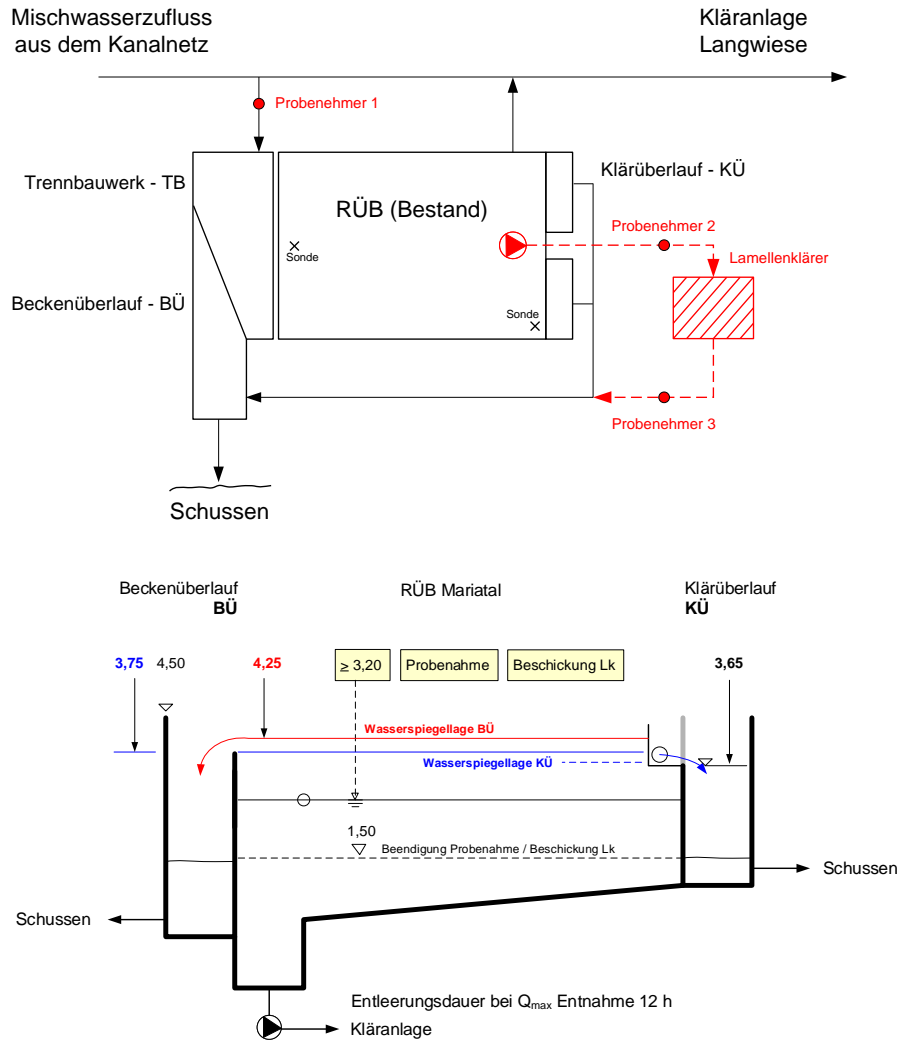


Abb. 41: Verfahrensschema - Anbindung Lamellenklärer

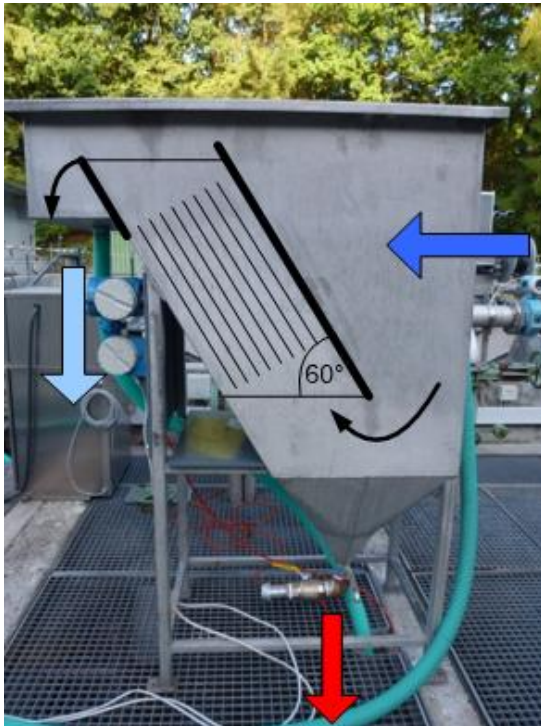
Entnahme für Lamellenklärer



Lamellenklärer und Probenahme



## Lamellenklärer



## Lamellen und Überlauf



Abb. 42: Versuchsanlage / Lamellenklärer am RÜB Mariatal

**Anlagenbetrieb**

Der Lamellenklärer wurde nach Anpassung der EMSR Technik Ende Juni 2012 in Betrieb genommen. Im Juli erfolgten noch Anpassungen bei der maschinentechnischen Anbindung und eine Optimierung der Steuerung über den Füllstand. Anschließend wurde bei Regenereignissen der Betrieb automatisch gestartet und die Proben gezogen. Von Ende November 2012 bis Anfang April 2013 musste die Anlage witterungsbedingt stillgelegt werden, da keine frostsichere Aufstellung der Versuchsanlage möglich war. Auf Grund der ersten Ergebnisse bei den Spurenstoffuntersuchungen beschloss die Projektleitung, den Versuchsbetrieb Ende November 2013 einzustellen.

**Probenahmen**

Die Probenahme erfolgte als Mischprobe mit automatischen, klimatisierten Probenehmern an folgenden Stellen des RÜB Mariatal:

- Zulauf RÜB
- Ablauf RÜB (= Zulauf Lamellenklärer)
- Ablauf Lamellenklärer

Die jeweilige Probe wurde in einem ca. 25 L fassenden Glasgefäß gesammelt und gekühlt aufbewahrt. Im Untersuchungszeitraum fanden insgesamt vier Probenahmen für die Haupt- und Begleitanalytik zur Bestimmung von Spurenstoffen, Keimen etc. statt.

Zur Kontrolle des Anlagenbetriebs wurden bei Regenereignissen kontinuierlich Proben entnommen und im Rahmen der Eigenkontrolle analysiert.

### Voruntersuchungen Lamellenklärer

Im Vorfeld der Untersuchungen wurde die Abscheidewirkung der verwendeten Versuchsanlage bezüglich der abfiltrierbaren Stoffe (AFS) bei der Beschickung mit Mischwasser untersucht (Abb. 43).

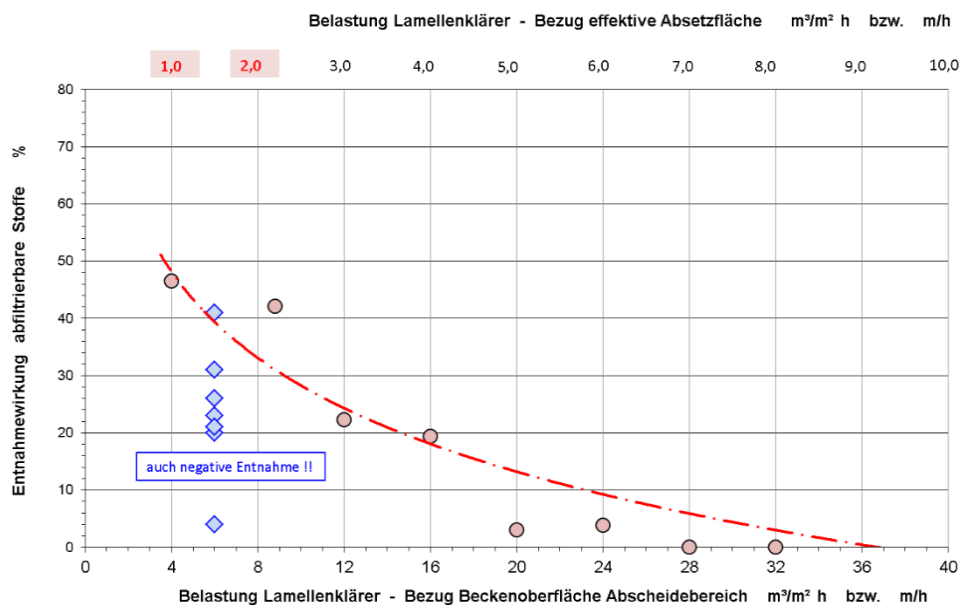


Abb. 43: Hydraulische Beschickung und AFS Entnahme

Die auf Sedimentation beruhende Entnahmewirkung nimmt mit zunehmender hydraulischer Beaufschlagung ab. Ein AFS Rückhalt > 30 % erfordert hydraulische Belastungen unterhalb von 2 m³/m²\*h. Je nach Belegung der Lamellen und simulierten Stoßbelastungen konnten bei einzelnen Versuchen diese Werte nicht immer erreicht werden.

### **3.8.5 Testsystem 5 - Retentionsbodenfilter Tettngang**

*Stadt Tettngang; Verfahrenstechnologie: biologisch a; Erweiterte Entnahmewirkung mittels Retentionsbodenfilter bei Regen- bzw. Mischwasser.*

Die Stadt Tettngang hatte sich bereit erklärt, an dem Projekt SchussenAktiv*plus* zur Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser teilzunehmen und den Retentionsbodenfilter für die Untersuchungen zur Verfügung zu stellen. Durch die Mitgliedschaft der Stadt im AV Unteres Schusental (AUS) hat dieser die Betreuung vor Ort übernommen.

### **Hauptuntersuchungen 2012-2014**

#### **Aufgabenstellung**

In diesem Teilprojekt sollte die Entnahmewirkung des bestehenden Retentionsbodenfilters (RBF) in Tettngang für Spurenstoffe und Keime aus dem Klärüberlauf eines Regenüberlaufbeckens (RÜB) untersucht werden. Der untersuchte Retentionsbodenfilter war zu Versuchsbeginn bereits seit über 10 Jahren in Betrieb. Die abwassertechnischen Randbedingungen waren durch die bau- und betriebstechnischen Bedingungen vorgegeben.

Im Rahmen der vor Ort möglichen Eigenkontrolle (Organik, Nährstoffe) wurde der Versuch analytisch begleitet.

Im Rahmen eines Anschlussprojekts sollten dann noch der Verbleib der Spurenstoffe und die Gründe der Effektivität des RBF untersucht werden. Dies erfolgte durch die Entnahme von Proben aus verschiedenen Tiefen des Filtermaterials und deren Untersuchung sowie ein Datenvergleich zum Aufbau und Betrieb des Filters.

#### **Abwassertechnische Einbindung des Retentionsbodenfilters Tettngang**

Der Retentionsbodenfilter in Tettngang wurde von der Stadt realisiert, um die Restbelastung des Gewässers an den im Nebenschluss angeordneten Regenüberlaufbecken (RÜB) Friedhofstraße und Tobelbach zu minimieren. Die Einbindung des RBF enthält die Abb. 44.

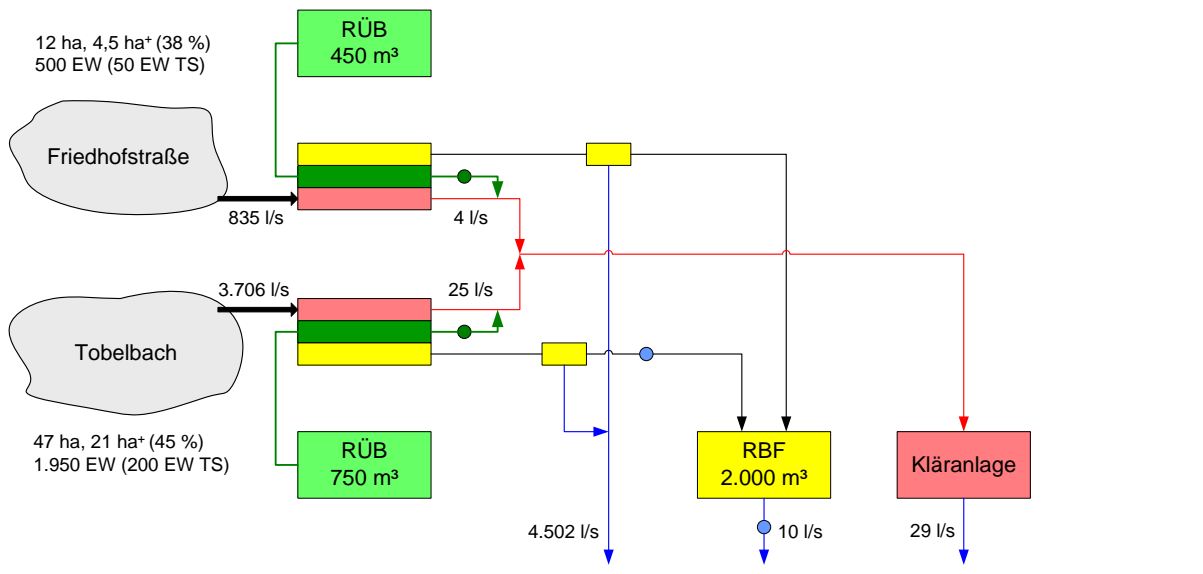


Abb. 44: Verfahrensschema RBF Tettngang; Einbindung in die Mischwasserkanalisation

Bei Regenwetter werden maximal 29 L/s des anfallenden Abwassers zur Kläranlage Eriskirch weitergeleitet. Fließt bei Regenwetter mehr ab, füllen sich die RÜB. Sind diese gefüllt, gelangt das dann noch ankommende Abwasser zum Retentionsbodenfilter, der maximal 10 L/s behandelt und das darüber hinaus zufließende Wasser in dem 2.000 m<sup>3</sup> großen Stauvolumen über der Filterschicht zurückhält. Ist der maximale Füllstand erreicht, wird die Entlastung in das Gewässer aktiviert, die im Bemessungsfall bis zu 4.502 L/s betragen kann.

### Abwassermengen

Aus dem ca. 59 ha großen Einzugsgebiet mit ca. 26 ha befestigtem Anteil werden bei durchschnittlichen Bedingungen bezüglich der Niederschlagsmengen bis zu ca. 380.000 m<sup>3</sup>/a zur Kläranlage abgeleitet. Von den darin lebenden ca. 2.500 Einwohnern kommt ca. ein Viertel davon als Schmutzwasser. Derselbe Anteil entfällt auf das in die Kanalisation eindringende Fremdwasser. Die Hälfte der Gesamtmenge wird durch die Abläufe von befestigten Flächen verursacht. Aus den Messwerten ergibt sich, dass im Mittel ca. 65.000 m<sup>3</sup>/a über den Retentionsbodenfilter geleitet, behandelt und dann in die Schussen abgeleitet werden.

### Betriebsdaten

In der nachfolgenden Tab. 9 sind die wichtigsten Betriebsdaten des Retentionsbodenfilters zusammenfassend dargestellt:

Tab. 9: Betriebsdaten des RBF Tettngang

Parameter		Wert
Einlaufbauwerke	Anzahl	2
Filterfläche	m <sup>2</sup>	2.000
Retentionsvolumen	m <sup>3</sup>	2.000
Filtrationsschicht	m	0,9
Körnung	mm	0/4, 0/2
Filtergeschwindigkeit	m/h	0,018
Drosselabfluss	l/s	10
Mittlere Abwassermenge	m <sup>3</sup> /a	65.000

Der mit Natursand befüllte und mit Schilfrohr bepflanzte RBF wird von zwei Seiten aus punktförmig beschickt und im Bedarfsfall über einen vorgeschalteten Filterüberlauf entlastet. Unter den gegebenen Betriebsbedingungen wurden im Untersuchungszeitraum die in Tab. 10 angegebenen Konzentrationen ermittelt.

Tab. 10: Retentionsbodenfilter / Zu- und Ablauf RBF

Parameter / Jahr 85 % Werte Zulauf RBF		2012 Juni - Dez.	2013 Jan. - Dez.	2014 Jan. - Aug.
CSB	mg/L	147	193	143
P <sub>ges</sub>	mg/L	1,7	3,1	1,8
AFS	mg/L	133	178	86

Parameter / Jahr 85 % Werte Ablauf RBF		2012 Juni - Dez.	2013 Jan. - Dez.	2014 Jan. - Aug.
CSB	mg/L	10,3	7,5	19,8
P <sub>ges</sub>	mg/L	0,6	0,7	0,7
AFS	mg/L	3,5	0,7	2,1



### **Anlagenbetrieb und Probenahme**

Die Beprobung des RBF begann im Juni 2012 und endete im August 2014. Über die Messung von Füllständen mittels Sonden wurden Abschlagsereignisse erfasst. Lag ein entsprechendes Signal an, wurden im Regenwetterfall automatisiert die Probenehmer angesteuert und die Probenahme gestartet. So konnte sichergestellt werden, dass möglichst viele Niederschlagsereignisse beprobt werden konnten.

Die Probenahme erfolgte als Mischprobe mit automatischen, klimatisierten Probenehmern an folgenden Stellen des RBF Tettang:

- Zulauf RBF (= Ablauf RÜB)
- Ablauf RBF

Die jeweilige Probe wurde in einem ca. 25 L fassenden Glasgefäß gesammelt und gekühlt aufbewahrt. Im Untersuchungszeitraum fanden insgesamt fünf Probenahmen für die Haupt- und Begleitanalytik zur Bestimmung von Spurenstoffen, Keimen etc. statt.

Zur Kontrolle des Anlagenbetriebs wurden regelmäßig bei Regenereignissen Proben entnommen und im Rahmen der Eigenkontrolle auf CSB und Nährstoffe untersucht.

### **Technische Umsetzung**

Im Jahr 2000 wurde der Retentionsbodenfilter geplant und im Jahr 2002 fertiggestellt. Im Folgejahr erfolgte die Inbetriebnahme (Abb. 45).

Der RBF weist eine ca. 80 cm starke Filterschicht aus Natursand der Körnung 0,06 mm bis 4 mm auf. Die Filterfläche ist ca. 2.000 m<sup>2</sup> groß und ein Aufstau bis 1 m oder ca. 2.000 m<sup>3</sup> möglich. Bepflanzt ist er mit Schilf oder Schilfrohr (*Phragmites communis*). Einmal jährlich wird im Winter das nachgewachsene Schilf abgemäht.

Die Einlaufstrecken sind jeweils mit Stabrechen für Grobstoffe ausgeführt. Die im Zulauf angeordneten Bodenschwellen verhindern das Auskolken der Filterschicht bei maximaler hydraulischer Beaufschlagung. Die Ausbildung des Filters gibt der Querschnitt in Abb. 46 wieder.

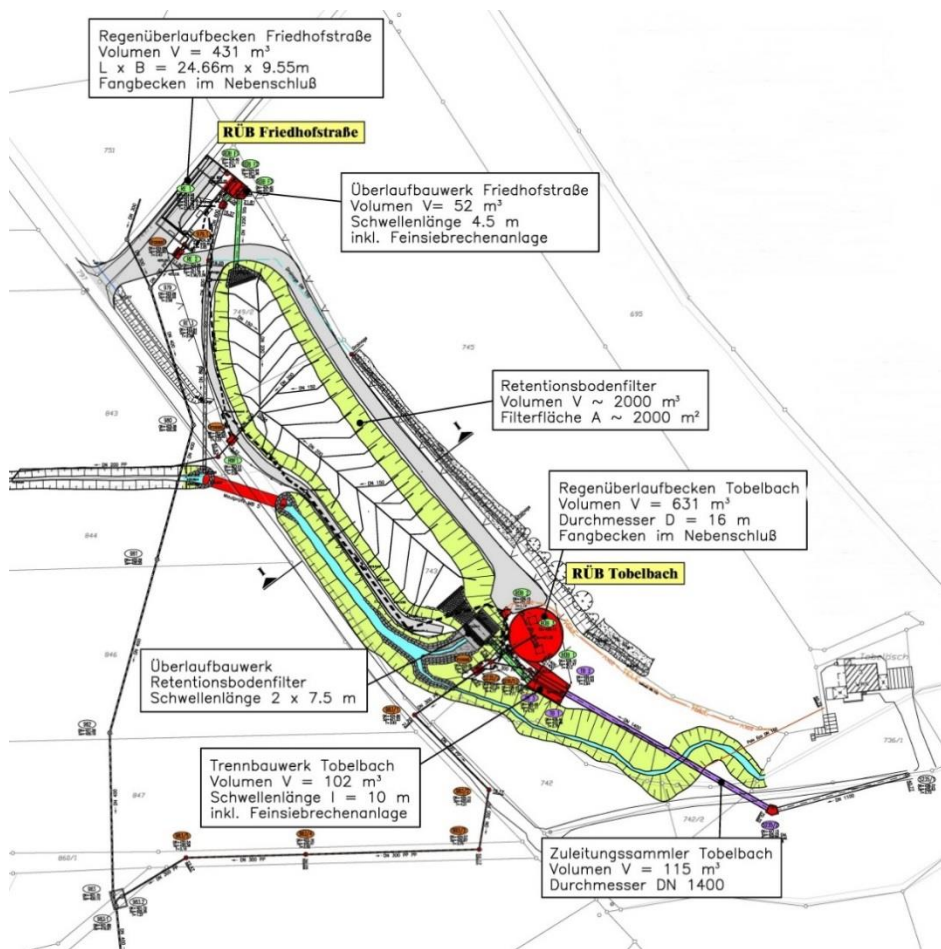


Abb. 45: Anordnung RBF Tettang und zugehörige RÜB

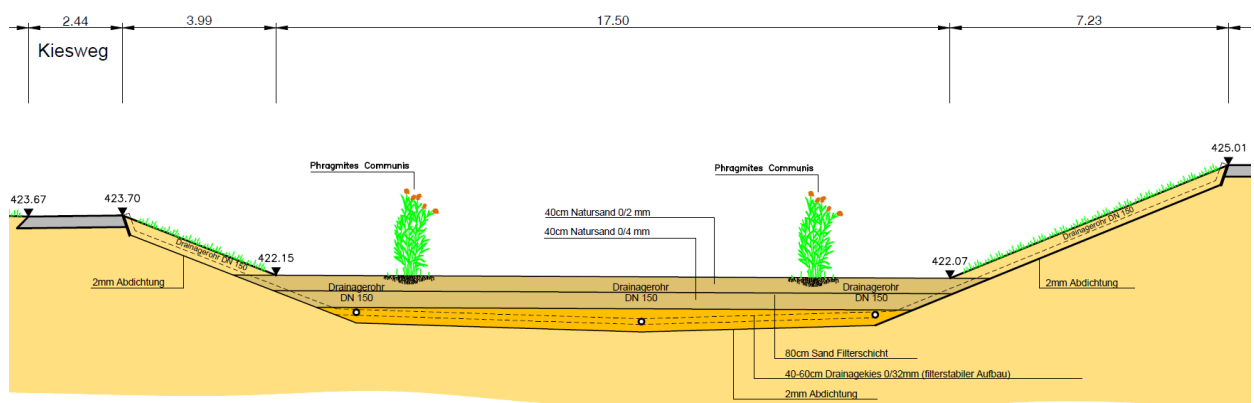


Abb. 46: Ausschnitt Querschnittszeichnung RBF Tettang

Der Auslauf des Retentionsbodenfilters wird in der Drainageschicht gefasst und in einer Rohrleitung zum Gewässer ausgeleitet (Abb. 47 und 48). In der Rohrleitung wird der Durchfluss gemessen und mit diesem der Regelschieber gesteuert, der den Auslauf auf konstant 10 L/s einregelt.

Bei der maximal möglichen Ablaufmenge ( $36 \text{ m}^3/\text{h}$ ) errechnet sich die zugehörige Filtergeschwindigkeit zu  $0,018 \text{ m/h}$  oder ca.  $0,43 \text{ m/d}$ . Je nach Regenereignis variiert der Füllstand im RBF. Bei einer Vollfüllung mit  $2.000 \text{ m}^3$  dauert die Entleerung ca.  $56 \text{ h}$  oder nahezu zweieinhalb Tage.

Ein Trockenlaufen des Filters wird durch die Vorgabe einer Mindestfüllung in der Drainageschicht verhindert.

RBF nach bautechnischer Fertigstellung 2002



RBF nach 10 Jahren Betriebszeit 2013



Abb. 47: Retentionsbodenfilter (RBF) Tettngang 2002 / 2013

Zulauf RBF von RÜB aus



RBF Einlaufschwelle Zulaufseite



RBF Ablaufleitung mit MID



Probenehmer Zulaufleitung



Abb. 48: Retentionsbodenfilter Tettnang / Betrieb 2013

## Zusatzuntersuchung 2015-2016

### Filtermaterial des RBF Tettang

Es wurde festgestellt, dass der RBF bei einigen Spurenstoffen eine hohe Entnahmewirkung aufweist. Zur Untersuchung des Verbleibs der entnommenen Spurenstoffe wurden vom Filtermaterial des RBF Proben entnommen und durch die Projektpartner analysiert.

### Probenahme

Zur Auswahl eines geeigneten Probenahmeverfahrens fand zunächst ein Vorort-Termin statt. Hierbei zeigte sich, dass die Probenentnahme mittels Handbohrer am geeignetsten ist, da sich mit diesem das Filtermaterial leicht entnehmen lässt, eine gute Kontrolle der Bohrtiefe möglich ist, sich die Materialprobe gut abfüllen lässt und kein schweres Bohrgerät erforderlich ist, das auf dem sandigen Filterkörper einsinken oder diesen verdichten könnte.

Die Probenahme erfolgte am 01.10.2015 an sechs Stellen des RBF. An jeder der sechs Probenahmestellen (Abb. 49) wurde die Filterschicht in drei Tiefenzonen eingeteilt und das Filtermaterial je nach Tiefenzone getrennt beprobt. Somit wurden insgesamt 18 Proben abgefüllt. Die nachfolgende Darstellung zeigt die Lage der Probenahmestellen.

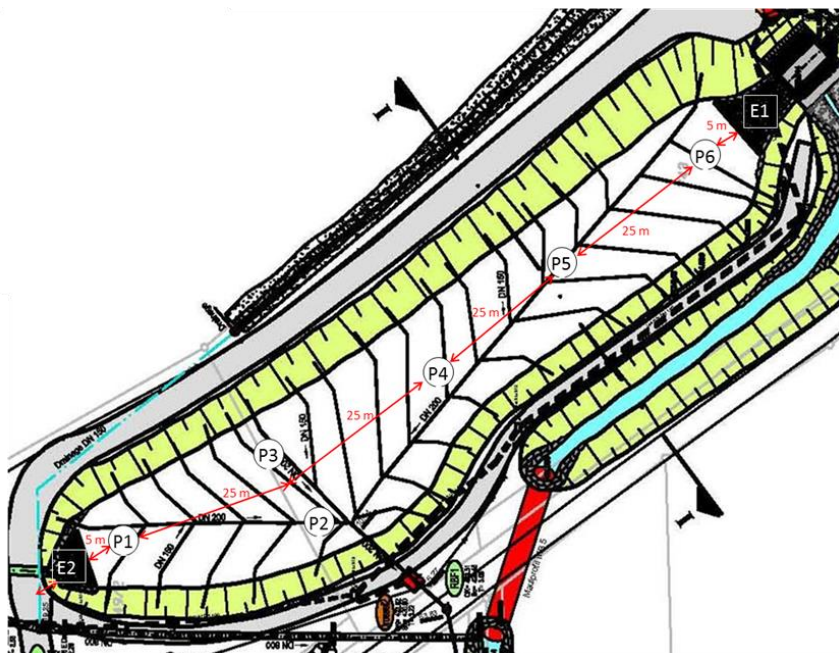


Abb. 49: Planausschnitt des RBF mit Probenahmestellen im Retentionsbodenfilter (P1-6). E1, E2: Einlaufstellen in den RBF aus dem jeweils vorgeschalteten RÜB.

Die Tiefenzonen wurden entsprechend Tab. 11 eingeteilt.

Tab. 11: Probenahmestellen - Einteilung in Tiefenzonen

Tiefenzone	Bereich
1	0 - 30 cm
2	30 - 60 cm
3	60 - 90 cm

Die jeweilige Probe wurde durchmischt und auf zwei Glasgefäße aufgeteilt. Die nachfolgenden Bilder in Abb. 50 zeigen beispielhaft einen Teil der Schritte bei der Durchführung der Probenahme.



Bohrungsbeginn



Bohrtiefe messen



Probe überführen

Abb. 50: Durchführung der Probenahme

Am Ende der Probenahme wurde das jeweilige Bohrloch wieder mit Sand der Körnung 0/2 verfüllt und verschlossen. Die befüllten Glasprobenflaschen wurden noch am Probenahmetag zur Untersuchung in die Labore der Projektpartner (TZW Karlsruhe, Universität Frankfurt) transportiert.

### 3.9 Limnologische Analytik

*Peschke (Universität Tübingen)*

Bei jeder Freilandprobenahme wurden an den beschriebenen Freilandprobestellen folgende limnochemischen und physikochemischen Parameter bestimmt: Wasser- und

Lufttemperatur, Sauerstoffgehalt und Sauerstoffsättigung, pH-Wert, Gesamt- und Karbonathärte sowie die Konzentrationen von Nitrit-N, Nitrat-N, Ammonium-N, Ortho-Phosphat-P und Chlorid. Die Überwachung der Durchflussmenge sowie der elektrischen Leitfähigkeit, Wassertemperatur und Sauerstoffkonzentration erfolgte während der Exposition der Fischeier und Fische an den beiden Bypass-Stationen kontinuierlich über Datenlogger. Diese wurden vom BBW Weyhmüller installiert und gewartet.

### **3.10 Spurenstoffanalytik**

*Scheurer, Richter, Sacher (Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe)*

#### **3.10.1 Hauptuntersuchungen**

Der Umfang der zu analysierenden Parameter orientierte sich an den zu Projektbeginn vorliegenden Ergebnissen zur Belastung der Schussen mit Mikroverunreinigungen, insbesondere an den Resultaten aus dem vorangegangenen SchussenAktiv-Projekt (Triebskorn et al. 2013a). Darüber hinaus wurde aber auch dem Abgleich mit den biologischen Testverfahren Rechnung getragen, indem hormonell wirksamen Verbindungen und Antibiotikawirkstoffen besondere Bedeutung zugemessen wurde. Der Parameterumfang für die sog. Hauptprobenahmen umfasste zunächst 138 organische Spurenstoffe (Tab. 12), wurde jedoch in Absprache mit den Projektpartnern im Projektverlauf leicht modifiziert.

Auf Grund von fehlenden Positivbefunden wurde die Gruppe der Penicilline in der zweiten Projekthälfte nicht mehr analysiert. Dafür wurde der Analysenumfang bei einigen Beprobungen des RBF um apolare Verbindungen wie polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe erweitert. Aus dem gesamten Analysenumfang wurden 17 Leitparameter ausgewählt, die regelmäßig in Abwässern und Oberflächenwässern nachgewiesen werden können und die bei der herkömmlichen Abwasserreinigung nur unzureichend entfernt werden. Der auf die Leitparameter reduzierte Analysenumfang wurde bei den sog. Begleitprobenahmekampagnen angewandt und ermöglichte es, die Auswirkungen der Ertüchtigungsmaßnahmen zeitlich hoch aufgelöst und mit vertretbarem Aufwand zu untersuchen.

Tab. 12: Parameterumfang organischer Spurenstoffe und Metalle, die bei den Hauptprobenahmen untersucht wurden. Blau markiert sind die 17 Leitparameter der Begleitprobenahmen

<u>Arzneimittelrückstände und Metabolite</u>	<u>Pflanzenbehandlungsmittel und Metabolite</u>
Bezafibrat	Atrazin
10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin	Simazin
Atenolol	Terbutryn
Betaxolol	Diuron
Bisoprolol	Isoproturon
Carbamazepin	Propiconazol
Clenbuterol	2,4-DP (Dichlorprop)
Clofibrinsäure	MCPA
Coffein	MCPP (Mecoprop)
Cyclophosphamid	Carbendazim
Diazepam	N,N-Dimethylsulfamid
Diclofenac	
Dimethylaminophenazon	<u>Künstliche Süßstoffe</u>
Etofibrat	Acesulfam
Fenofibrat	Cyclamat
Fenofibrinsäure	Sucralose
Fenoprofen	Saccharin
Gemfibrozil	
Gunaylharnstoff	<u>Synthetische Komplexbildner</u>
Ibuprofen	NTA (Nitrilotriacetat)
Ifosfamid	EDTA (Ethylendinitrilotetraacetat)
Indomethacin	DTPA (Diethylentriaminpentaacetat)
Ketoprofen	



Metformin	<u>Weichmacher</u>
Metoprolol	Di-(2-ethylhexyl)phthalat
N-Acetyl-4-aminoantipyrin	Di-n-butylphthalat
Naproxen	
N-Formyl-4-aminoantipyrin	<u>Perfluorierte Verbindungen</u>
Paracetamol	Perfluorbutanoat (PFBA)
Pentoxifyllin	Perfluoroctanoat (PFOA)
Phenacetin	Perfluoroctansulfonat (PFOS)
Phenazon	
Pindolol	<u>Steroidhormone und Alkylphenole</u>
Primidon	17 $\beta$ -Estradiol
Propranolol	Estriol
Propyphenazon	Estron
Salbutamol	17 $\alpha$ -Ethinylestradiol
Salicylsäure	Mestranol
Simvastatin	Norethisteron
Sotalol	4-iso-Nonylphenol
Terbutalin	4-tert.-Oktylphenol
Venlafaxin	Bisphenol A
Azithromycin	iso-Nonylphenolmonoethoxylat
Clarithromycin	iso-Nonylphenoldiethoxylat
Dehydrato-Erythromycin A	
Oleandomycin	<u>Benzotriazole</u>
Roxithromycin	1H-Benzotriazol
Spiramycin	4-Methylbenzotriazol

Tylosin	5-Methylbenzotriazol
Sulfadiazin	
Sulfadimidin	<u>Trialkylphosphate</u>
Sulfamerazin	2-Ethylhexyldiphenylphosphat
Sulfamethoxazol	Triethylphosphat
Amoxicillin	Trikresylphosphat (o-, m- u. p-Isomer)
Cloxacillin	Tri-n-butylphosphat
Dicloxacillin	Triphenylphosphat
Nafcillin	Tris(2-chlorethyl)phosphat
Oxacillin	Tris(2-chlorpropyl)phosphat
Penicillin G	Tris(2-ethylhexyl)phosphat
Penicillin V	
Chloramphenicol	<u>Röntgenkontrastmittel</u>
Clindamycin	Amidotrizoensäure
Dapson	Iodipamid
Furazolidon	Iohexol
Metronidazol	Iomeprol
Ronidazol	Iopamidol
Trimethoprim	Iopromid
Virginiamycin	Iotalaminsäure
Erythromycin A	Ioxaglinsäure
Chlortetracyclin	Ioxithalaminsäure
Doxycyclin	
Meclocyclin	<u>Metalle</u>
Oxytetracyclin	Arsen

Tetracyclin	Cadmium
Ciprofloxacin	Kalium
Enoxacin	Kupfer
Enrofloxacin	Nickel
Norfloxacin	Quecksilber
Ofloxacin	Zink

<u>Aliphatische Amine</u>
Diethylamin
Ethanolamin
Ethylamin
Methylamin
Morpholin

Auch bei den Leitparametern konnte während der Projektlaufzeit flexibel auf aktuelle Entwicklungen reagiert werden, so dass die Liste um die Verbindungen Ibuprofen, Metoprolol und Amidotrizoesäure erweitert wurde. Diese Substanzen werden zusammen mit Carbamazepin, Diclofenac, Sulfamethoxazol, 1*H*-Benzotriazol und vier weiteren Röntgenkontrastmitteln vom Kompetenzzentrum Spurenstoffe (KOMS) in Baden-Württemberg zur Erfolgskontrolle der Spurenstoffelimination mittels Aktivkohle empfohlen. Sie sind somit auch für die Kläranlage in Ravensburg von besonderer Relevanz, da innerhalb des Projekts eine maximale Anzahl an Analysendaten für diese Verbindungen erhoben werden sollte.

Neben organischen Spurenstoffen und Metallen wurden verschiedene wasserchemische Gruppenparameter wie chemischer Sauerstoffbedarf (CSB), gelöster organischer Kohlenstoff (engl. dissolved organic carbon, DOC), Trübung, etc. bei allen Proben analysiert.

Die analysierten Wasserproben entstammten 31 Hauptprobenahmekampagnen, bei denen der komplette Untersuchungsumfang analysiert wurde und 19 Begleitprobenahmen, bei denen die ausgewählten Leitparameter analysiert wurden (Abb. 51). Der relativ lange Zeitraum ohne Beprobung an der Kläranlage Langwiese zwischen Juli 2012 und Juli 2013

wurde durch Verzögerungen bei den Baumaßnahmen der Aktivkohlestufe notwendig. Durch die Modifizierung des ursprünglichen Probenahmeplans konnten an der Kläranlage Langwiese fünf Beprobungen vor (bis einschl. 09/2013) und acht nach der Ausbaumaßnahme (ab 11/2013) durchgeführt werden.

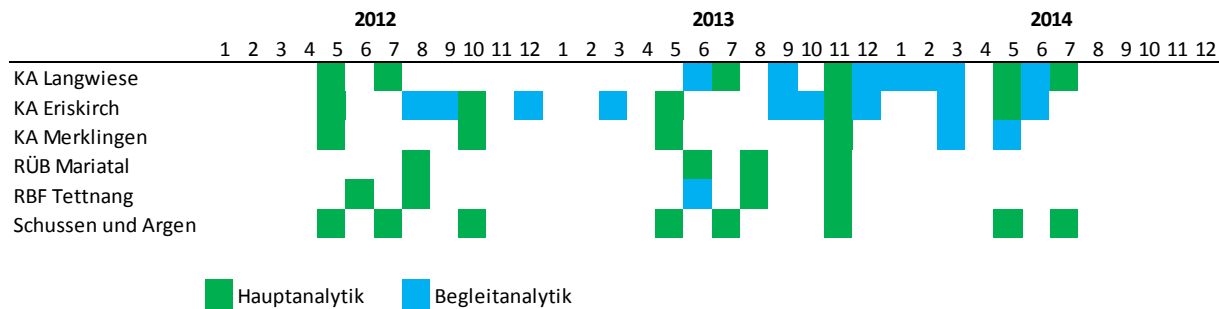


Abb. 51: Übersicht der durchgeführten Probenahmen an den fünf Testsystemen zur Haupt- und Begleitanalytik von Wasserproben

### 3.10.2 Zusatzuntersuchung zum RBF

#### Feststoffprobenahme am Retentionsbodenfilter

Die Probenahme am Retentionsbodenfilter wurde am 01.10.2015 durchgeführt, nachdem vorher anberaumte Termine wegen Niederschlägen und Einstauereignissen im Filter verschoben werden mussten. Eine ausreichende Zeitspanne zwischen letztem Einstauereignis und Probenahme wurde gewährleistet, um die Bodenfeuchte gering zu halten. Es wurden sechs Einzeleinstiche durchgeführt, die jeweils in drei Tiefenzonen (0 cm bis 30 cm, 30 cm bis 60 cm und 60 cm bis 90 cm) aufgeteilt wurden. Die maximale Einstichtiefe wurde auf 90 cm festgelegt, da der Filter eine Füllhöhe von 1 m besitzt und eine Verletzung der abschließenden Dichtungsfolie in jedem Fall vermieden werden sollte. Zwei der Probenahmestellen (P1 und P6) befanden sich in 5 m Entfernung von den beiden sich gegenüberliegenden Einlassbauwerken des Filters. Die restlichen Probenahmestellen befanden sich in einem äquidistanten Abstand von 25 m über die gesamte Länge des Filters verteilt. PS 2 und PS 3 waren an der breitesten Stelle in jeweils dem gleichen Abstand von der Filterböschung gelegen (s. Abb. 49, Kap. 3.8.5).

In einer Vorbegehung erwies sich ein Edlmann-Handbohrer als am geeignetsten, um die Bodenproben ohne Verdichtung zu entnehmen (Abb. 52). Die Probenahme wurde ausführlich in einem Probenahmeprotokoll dokumentiert. Das Bodenmaterial der drei Tiefenzonen wurde getrennt entnommen und nach jedem Einstich wurden die Probenahmegerätschaften intensiv gespült, um Kreuzkontaminationen zwischen den einzelnen Horizonten zu vermeiden. Jede Zonenprobe wurde zunächst in einen Eimer

überführt, mit einer Schaufel durchmischt und gemäß der „Arbeitshilfe Qualitätssicherung – fraktioniertes Schaufeln bei geringen Mengen“ (LABO 2002) durch abwechselndes Befüllen von zwei Probengläsern für die beteiligten Labore zweigeteilt.



Abb. 52: Entnahme der Bodenprobe mittels Edelman-Handbohrer (links) und Durchmischung und Teilung vor Ort (rechts)

### **Probenvorbereitung**

Für die gewonnenen Bodenproben wurde der Wassergehalt bestimmt, indem eine Teilmenge durch Trocknung bei  $105 \pm 5$  °C bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank getrocknet wurde. Die Bestimmung von organischen Spurenstoffen erfolgte zum einen aus wässrigen Eluaten und zum anderen durch bereits etablierte Extraktionsmethoden.

### **Bodenextrakte**

In getrockneten Bodenproben wurden poly- und perfluorierte Verbindungen (PFC), Steroidhormone, Alkylphenole, polychlorierte Biphenyle (PCB), chlorierte Insektizide und polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) bestimmt. Generell wurden die Zielverbindungen mit einem organischen Lösemittel extrahiert und nach methodenspezifischen Aufreinigungsschritten (*clean-up*) mit LC-MS/MS- oder GC-MS/MS-Methoden analysiert.

### **Wässrige Eluate**

Wässrige Eluate wurden in Anlehnung an DIN 19529:2015-12 gewonnen (DIN 2015). Ziel war es, das Freisetzungsvermögen von Bodenproben aus dem Retentionsbodenfilter hinsichtlich organischer Spurenstoffe zu bestimmen. Die Norm beschreibt ein

Schüttelverfahren zur Bestimmung der Eluierbarkeit von anorganischen und organischen Stoffen bei einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2:1. Das Verfahren ist insbesondere für polare Verbindungen geeignet, die nicht sehr leicht biologisch abbaubar sind. Es erfolgte keine Trocknung der Proben, da diese gemäß DIN unverändert im Original zu untersuchen sind.

Die Proben wurden mit demineralisiertem Wasser als Elutionsmittel bei einem Wasser/Feststoff-Verhältnis von 2:1 für 24 h durch Schütteln mit einem Überkopfschüttler bei Raumtemperatur eluiert. Dabei wurde sichergestellt, dass sich die Bodenproben während der Elution nicht im Gefäß absetzen. Nach Extraktionsende wurde nach dem Absetzen von suspendierten Feststoffen die überstehende Flüssigkeit dekantiert. Mit einer Kühlzentrifuge wurde das Eluat in Edelstahlbechern zentrifugiert und anschließend die wässrige Phase mittels etablierten chemischen Analyseverfahren untersucht.

### **3.10.3 Vorversuche zu Lagerung und Stabilisierung von Wasserproben**

Auf einer Sitzung des Lenkungskreises zur Fördermaßnahme RiSKWa im Februar 2012 wurde vereinbart, einen Workshop zur Harmonisierung von Probenahme und Probenvorbereitung in Zusammenhang mit der chemischen und mikrobiologischen Analytik in den verschiedenen Verbundprojekten durchzuführen. Ziel war es, eine einheitliche Vorgehensweise für die Entnahme, Lagerung und Stabilisierung von Wasserproben für die chemische und mikrobiologische Analytik abzustimmen. Es sollten Details wie die Art der Probenahmegefäße, die Stabilisierung der Proben durch Einfrieren oder den Zusatz von Chemikalien oder die Vor- und Nachteile einer Filtration der Proben diskutiert werden. Durch die Harmonisierung der Vorgehensweisen sollten die Ergebnisse aus den einzelnen Verbundprojekten besser vergleichbar werden. Gleichzeitig sollte durch einheitliche Randbedingungen eine bessere Korrelation der Ergebnisse von chemischer Analytik und biologischen Wirktests gewährleistet werden. Im Projekt SchussenAktivplus sollten verschiedene technische Maßnahmen an Kläranlagen und Regenüberlaufbecken zur Reduktion von Spurenstoffen und Keimen auf ihre Wirksamkeit hin untersucht werden. Der Ansatz, chemische und mikrobielle Expositionscharakterisierung sowie die Abschätzung der real und potentiell schädigenden Wirkung durch Bestimmung toxischer und endokriner Potentiale und Effekte mit *in vitro* und *in vivo* Testsystemen parallel sowie vor und nach Ausbau der Testsysteme zu betrachten, machte eine einheitliche Handhabung der Proben in diesem Projekt besonders relevant. Zu diesem Zweck wurden am TZW Stabilisierungsversuche für die im Projekt zu analysierenden Spurenstoffe durchgeführt. Die Ergebnisse wurden den Teilnehmern des Workshops zur Verfügung gestellt und waren eine

wichtige Diskussionsgrundlage für die Entscheidungsfindung zur Lagerung und Stabilisierung innerhalb der gesamten Fördermaßnahme RiSKWa.

Für die Stabilitätsuntersuchungen wurde als Matrix der Ablauf der Kläranlage in Karlsruhe gewählt, um eine erhöhte mikrobielle Aktivität zu simulieren, die auch bei Proben aus den Kläranlagen innerhalb des Projektes zu erwarten war. Untersucht wurden alle Stoffgruppen, die im Parameterumfang für das erste Projektjahr vorgesehen waren. Es wurden nach Probenahme zunächst eine Analyse der Grundbelastung durchgeführt und anschließend die Substanzen aufdotiert. Das aufdotierte Abwasser wurde anschließend in vier Teilproben aufgeteilt, um die Eignung unterschiedlicher Stabilisierungsmöglichkeiten zu untersuchen. Teilprobe 1 wurde sofort aufbereitet und die Extrakte eingefroren. Teilprobe 2 wurde in Braunglasflaschen abgefüllt und bei 4 °C gelagert. Teilprobe 3 wurde zusätzlich auf pH 2 mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Teilprobe 4 wurde in HDPE-Flaschen (engl., High Density Polyethylene) umgefüllt und ebenfalls bei 4 °C gelagert. Nach zwei Wochen wurden die Teilproben aufbereitet und zusammen mit den Proben, die zu Testbeginn genommen wurden, analysiert. Einige der Ergebnisse sollen nachfolgend vorgestellt und diskutiert werden.

Die Gruppe der untersuchten Industriechemikalien (Abb. 53) spiegelt exemplarisch die Ergebnisse des gesamten Stabilitätsversuchs wider. Für einen Großteil der untersuchten Verbindungen sind alle untersuchten Stabilisierungsmaßnahmen, unabhängig vom Flaschentyp, geeignet, und es werden zufriedenstellende Wiederfindungen nach einer zweiwöchigen Lagerungsdauer mit der Matrix Kläranlagenablauf erreicht.

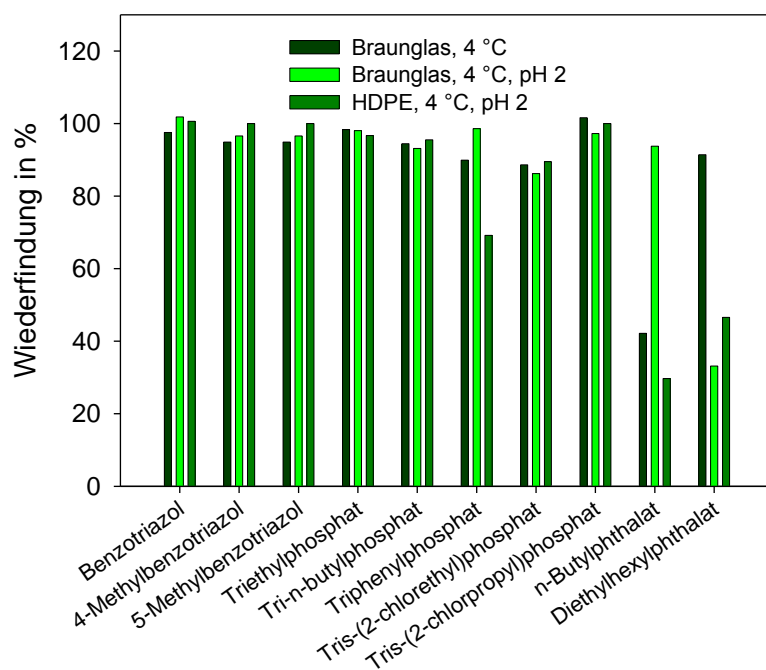


Abb. 53: Wiederfindung untersuchter Industriechemikalien nach 2 Wochen bezogen auf die Startkonzentration zu Testbeginn bei unterschiedlichen Flaschenmaterialien und pH-Werten

Allerdings ist es oftmals für einige wenige Vertreter einer Stoffgruppe der Fall, dass (a) diese an einem der Flaschenmaterialien zu adsorbieren scheinen, (b) bei neutralem pH-Wert biologisch abgebaut werden oder (c) nicht stabil bei pH 2 sind. Bei den untersuchten Industriechemikalien sind beispielsweise sämtliche Vertreter der Benzotriazole und Trialkylphosphate stabil. Aus der Stoffgruppe der Phthalate ist allerdings bei n-Butylphthalat zu beobachten, dass die Verbindung offenbar bei neutralem pH-Wert biologisch abgebaut wird und deshalb eine Stabilisierung bei pH 2 notwendig ist. Dagegen war Diethylhexylphthalat nur in Braunglasflaschen bei neutralem pH-Wert stabil.

Aus diesem Grund wurde bei dem Workshop zur Probenstabilisierung beschlossen, dass die Proben für die chemische Analytik und für biologische Wirktests innerhalb der Fördermaßnahme RiSKWa in Braunglasflaschen beim Original-pH-Wert und bei 4 °C gelagert werden und innerhalb von sieben Tagen analysiert werden sollten. Falls dies in Einzelfällen nicht möglich war, sollten die Proben eingefroren werden. Extrakte oder beladene Festphasen-Kartuschen aus der Probenanreicherung weisen eine höhere Stabilität auf und können im Gefrierschrank über längere Zeiträume (max. 30 Tage) gelagert werden. Dies kommt den durchzuführenden biologischen Wirktest entgegen, da bei der Einstellung eines sauren pH-Wertes zur Probenstabilisierung und anschließender Neutralisation eine zu hohe Salzfracht in der Probe entstehen würde. Müssen Proben zwingend eingefroren werden, kann dies in Kunststoffflaschen erfolgen. In diesem Fall ist allerdings sowohl für die chemische Analytik als auch für biologische Wirktests eine Blindprobe zum Ausschluss falsch-positiver Ergebnisse mitzuführen.

### **3.10.4 Optimierung von Analyseverfahren**

#### **Bestimmung von perfluorierten Chemikalien (PFC) aus Fischproben**

Für die drei perfluorierten Chemikalien Perfluorbutanoat (PFBA), Perfluoroctanoat (PFOA) und Perfluoroctansulfonat (PFOS), die im Rahmen des Projekts analysiert werden sollen, wurden Extraktionsversuche mit und ohne Einsatz von QuEChERS-Salz durchgeführt. Diese Art der Probenvorbereitung und -aufreinigung wurde ursprünglich für die Analyse von Pestiziden in Gemüse und Früchten entwickelt, findet jedoch in letzter Zeit auch vermehrt Anwendung in anderen Bereichen der Lebensmittelanalytik. Die Versuche sind exemplarisch für andere Parametergruppen zu sehen, für die dieser Ansatz im Rahmen der Optimierung ebenfalls durchgeführt wurde.

Als Matrix wurde von der Universität Tübingen gefriergetrocknetes Biota-Material (Fischdarm und -muskelfleisch) zur Verfügung gestellt. Dieses wurde mit Methanol im Ultraschallbad einmal ohne und einmal mit QuEChERS-Salz (engl. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged



and Save) extrahiert (Abb. 54). Diese Methode beruht auf einer Extraktion in einem Gemisch aus Wasser und Acetonitril, einer Phasentrennung durch die Zugabe von Salzen sowie einer dispersiven Festphasenextraktion. Die Wiederfindungen sind in Prozent bezogen auf eine extrahierte Blindprobe ohne Probenmaterial in Abb. 54 dargestellt.

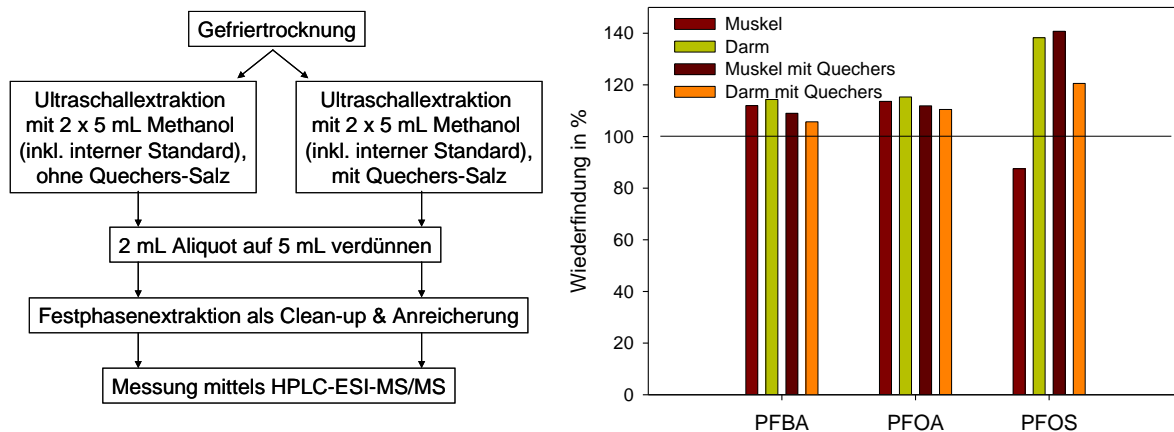


Abb. 54: Aufbereitungsschema (links) und Wiederfindungen (rechts) von drei aus Fischmatrix extrahierten PFC, mit und ohne Einsatz von QuEChERS-Salz

Die Ergebnisse zeigen, dass bei der Extraktion dieser drei perfluorierten Chemikalien auf den Einsatz von QuEChERS-Salz verzichtet werden kann, da bereits mit der bisherigen Probenvorbereitung gute Wiederfindungen für die gewählte Probenmatrix erreicht werden. Die Werte für PFBA und PFOA lagen unabhängig von der angewendeten Methode auf dem gleichen Niveau, bei leicht erhöhter Varianz für PFOS. Eine Wiederfindung >100 % ist dabei nicht einer Signalerhöhung der Substanzen auf Grund von Matrixeffekten zuzuschreiben, da für alle Verbindungen interne Standards zum Ausgleich dieser Effekte verwendet wurden. Vielmehr kann dies mit einer Grundbelastung des Biota-Materials begründet werden, die umgerechnet im  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich lag, was aus der Literatur bekannten Werten entspricht.

### Steigerung der Nachweisempfindlichkeit für Steroidhormone aus Wasserproben

Zur Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit von Steroidhormonen war u. a. die Verwendung eines Triple-Quadrupol-Massenspektrometers anstelle eines konventionellen einfachen Quadrupol-Massenspektrometers vorgesehen. Aus diesem Grund wurden Testmessungen bei verschiedenen Herstellern durchgeführt, um das optimale System für die im Projektzeitraum anfallenden Proben auswählen zu können. Außerdem wurde die Probenvorbereitung optimiert, um die Empfindlichkeit der Analysenmethode zu verbessern.

Wasserproben, die vor Abschluss der Optimierungsmaßnahmen entnommen wurden, wurden extrahiert und die Extrakte tiefgefroren gelagert, um die verbesserte Analytik nachträglich anwenden zu können.

Die bisher genutzte sowie die optimierte Probenvorbereitung sind in Abb. 55 dargestellt. Die Festphasenextraktion zur Anreicherung der Analyten und Aufreinigung der Wasserprobe wurde beibehalten. Durch den Einsatz eines neuen Derivatisierungsreagens wird eine stabilere Derivatisierung erreicht. Nach Zugabe von Dodecan als Keeper kann das Derivatisierungsreagens nun unter einem leichten Stickstoffstrom wieder vollständig entfernt werden. Dabei wirkt sich insbesondere die Entfernung von N-Methyl-N-trimethylsilyltri-fluoracetamid (MSTFA) aus dem Extrakt positiv auf früh eluierende Analyten aus. Da Cyclohexan einen im Vergleich zu MSTFA geringeren Siedepunkt besitzt, kann bei großvolumigen Injektionen das Lösemittel schonender verdampft werden, was zu geringeren Verlusten an Analyten führt.

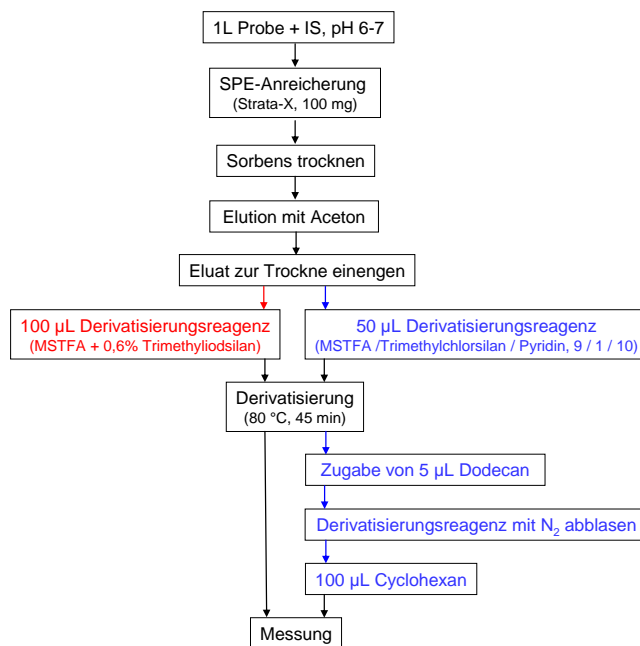


Abb. 55: Aufbereitungsschema von Wasserproben zur Analyse von Steroidhormonen. Geänderte Arbeitsschritte sind in rot, optimierte in blau dargestellt

Die praktischen Auswirkungen der verbesserten Analysenmethode in Kombination mit einem neuen Triple-Quadrupol-Massenspektrometer sind in Abb. 56 am Beispiel eines 0,2 ng/L Standards (links) und einer Realprobe auf gleichem Niveau (rechts) aufgezeigt. Während mit der bisherigen Analysenmethode Proben, die Hormone in dieser Konzentration enthielten, ein unzureichendes Signal/Rausch-Verhältnis aufwiesen, lassen sich diese mit dem optimierten Verfahren noch sicher quantifizieren. Dies ist insbesondere für Proben aus Schussen und Argen von Bedeutung, in denen bisher auf Grund geringerer Konzentrationen

an Steroidhormonen nur Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze von bisher 1 ng/L gemessen worden wären.

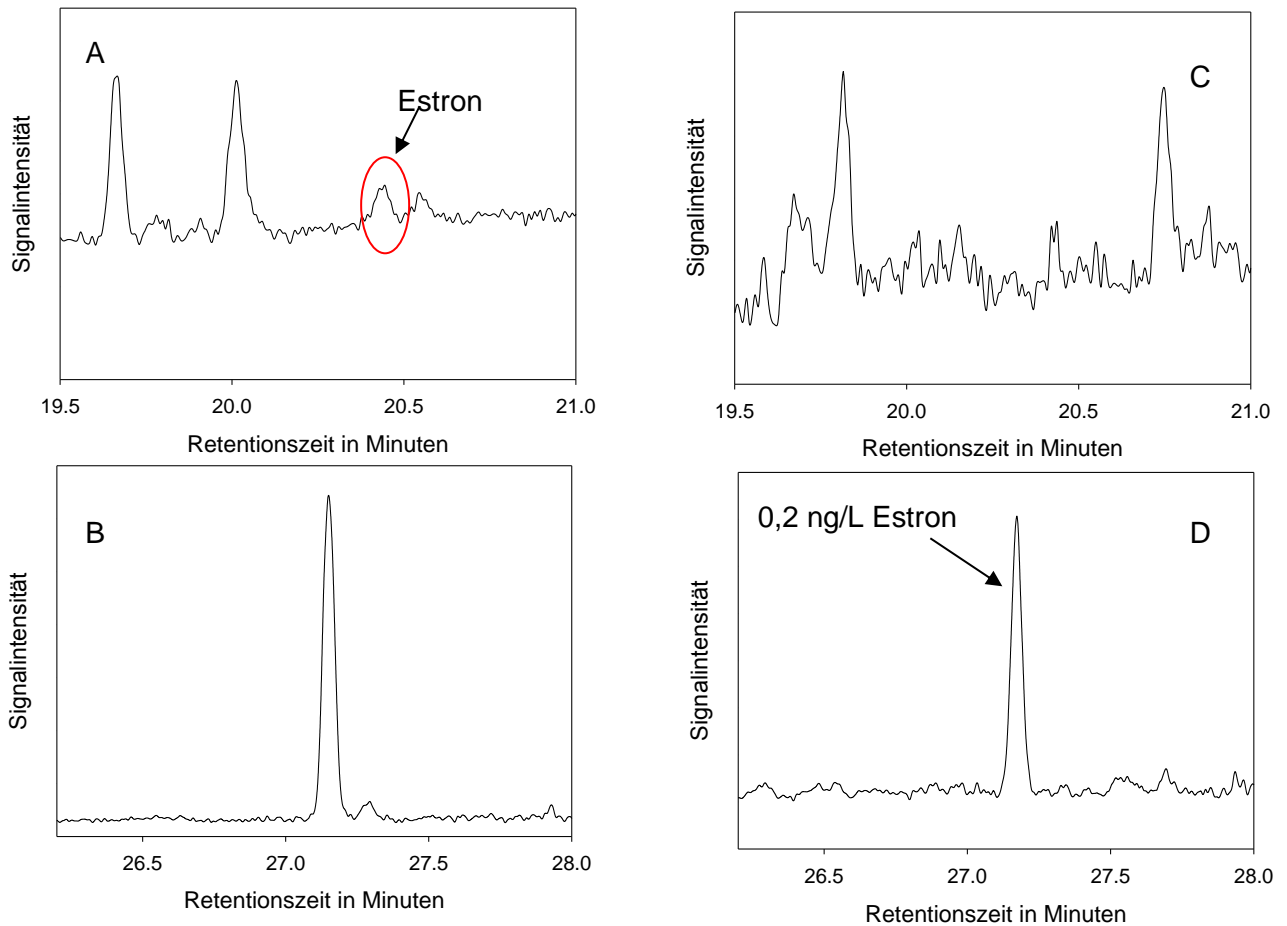


Abb. 56: Chromatogramme eines 0,2 ng/L Standards (links) mit dem bisherigen (A) und dem optimierten (B) Analysenverfahren für Steroidhormone in Wasserproben sowie eine Oberflächenwasserprobe (rechts) auf vergleichbarem Niveau (C bisheriges und D optimiertes Verfahren).

### 3.11 Keimanalytik

#### 3.11.1 Indikatorkeime

*Lüddeke, Güde, Hetzenauer (LUBW, Institut für Seenforschung Langenargen)*

Im Rahmen des Projektes SchussenAktivplus wurden acht Untersuchungskampagnen über drei Jahre verteilt im Freiland an den Probestellen an Schussen und Argen durchgeführt. Fünf Freilandkampagnen fanden vor Inbetriebnahme der PAK-Stufe an der KA Langwiese statt, drei danach.

Für die mikrobiologische Bestimmung der Indikatorkeime *E. coli*, die Gruppe der Enterokokken sowie die Gesamtkeimzahl wurde wie folgt vorgegangen:

- Wasserproben für die bakteriologischen Analysen wurden in autoklavierte Probenflaschen abgefüllt und bis zur Aufarbeitung in Kühltaschen bzw. im Labor-Kühlschrank aufbewahrt. Die Aufarbeitung im Labor erfolgte am folgenden Tag.
- Sedimentproben wurden mit Sedimentstechern aus Plexiglas (4 cm Durchmesser) bzw. Sedimentgreifern entnommen. Im Labor wurde 1 g Feuchtsediment des obersten Zentimeters in 9 ml Verdünnungsmedium gebracht. Geeignete Aliquots der so erhaltenen Suspension wurden auf Agar-Platten ausgestrichen.
- Ereignisorientierte Probenahmen an RÜB und RBF wurden mit Hilfe von automatischen programmierbaren Probenahmegeräten durchgeführt.
- Alle bakteriologischen Proben wurden in Triplikaten bestimmt.
- Vollmedien: Zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl (GKZ) wurde Nähragar (Merck) verwendet und sämtliche Kolonien gezählt.
- Selektivmedien: Zur Erfassung von *E. coli* wurde ECD Agar (Merck) verwendet. Unter UV-Licht blau fluoreszierende Kolonien wurden als *E. coli* bewertet, da sie die Produktion von Glucuronidase anzeigten.
- Enterokokken wurden auf Nährkartonscheiben (Sartorius) mit Azid-Medien bebrütet; als Kriterium für einen positiven Nachweis galt Schwarzfärbung der Kolonien nach Auflegen der Filter auf Kanamycin-Äsculin-Agar.
- Bereitstellung von Isolaten für das Teilprojekt des KIT: Pro Probestelle wurden 15 - 20 typische Kolonien von *E. coli* oder Enterokokken nach dem Zufallsprinzip ausgewählt und weiter vereinzelt. Als weiteres Kontrollkriterium galt eine positive Reaktion von *E. coli*-Isolaten auf Tryptophanase-Aktivität mittels Kovac's Reagenz bzw. die positive Äsculin-Reaktion auf Kanamycin-Äsculin-Agar.
- Fluoreszenzmikroskopische Nachweismethoden: Die Anfärbung mittels DAPI ermöglichte die Zählung aller Bakterienzellen.
- Auswertung der Ergebnisse: Nach Abschluss der Probenahmen im Jahr 2014 wurden die Ergebnisse in Koloniebildende Einheiten (KBE) / 100 ml über Medianbildung zusammengefasst. Aus mikrobiologischer Sichtweise wird dabei häufig die Elimination in log-Stufen angegeben, wobei zu berücksichtigen ist, dass diese auch von der ermittelten Eingangskonzentration abhängig ist.
- Mikrokosmos-Experimente zum Überdauern von *E. coli* bzw. Enterokokken in sterilen bzw. natürlichen Sedimenten bei unterschiedlichen Temperaturen (Bestimmung des

Konzentrationsverlaufs über mehrere Tage). Dabei wurden die Keimzahlen mit einem *most probable number* Verfahren (Colilert® bzw. Enterolert®, Idexx GmbH) ermittelt, das weniger zeitintensiv ist als das Plattenverfahren.

### 3.11.2 Antibiotika-resistente Keime

*Gallert, Hess (Karlsruher Institut für Technologie und Hochschule Emden/Leer)*

#### **Bestimmung der Lebendzellzahl (LZZ) der Staphylokokken und Gewinnung von Isolaten**

Zur Bestimmung der LZZ der Staphylokokken in den jeweiligen Wasserproben wurde entsprechend dem erwarteten Kontaminationsniveau entweder direkt plattiert (Kläranlagenzuläufe) oder entsprechende Volumina (Kläranlagenabläufe und Oberflächenwasser bis zu 400 ml) filtriert. Als Selektivnährmedium wurde Chapman-Stone-Agar, der, um die Begleitflora (insbesondere *Bacillus licheniformis*) zu hemmen, mit 0,05 g/L Natriumazid supplementiert wurde, verwendet. Um die Staphylokokken-LZZ möglichst genau bestimmen zu können, wurden pro Probe jeweils 4 Volumina filtriert/4 Verdünnungsstufen ausplattiert (jeweils Duplikate) und die Kolonien nach 48 stündiger Inkubation bei 37 °C gezählt. Um mikrobiologisch die Speziesdiversität sowie die Antibiotika-Empfindlichkeit bestimmen zu können, wurden anschließend pro Probe 24 Kolonien gepickt und mittels Verdünnungsausstrich auf Mannit-Kochsalz-Agar vereinzelt. Von allen gewonnenen Isolaten wurden Kryokulturen angelegt.

#### **Identifizierung der *Escherichia coli*-, Enterokokken- und Staphylokokken-Isolate**

Die vom ISF in Langenargen im Teilprojekt G gewonnenen *Enterococcus*- und *Staphylococcus*-Isolate wurden zunächst phänotypisch identifiziert. Hierzu wurde mit Biomasse einer Übernachtskultur auf DEV-Nähragar in steriler 0,9 % NaCl-Lösung eine Trübung gemäß McFarland 0,5 (Staphylokokken) bzw. McFarland 1 (Enterokokken) eingestellt. Jeweils 100 µL dieser Suspensionen wurden in 24 Wells einer 96-Well-Mikrotiterplatte (für Staphylokokken: Mikronaut®Staph; für Enterokokken: Mikronaut®Strep2) inokuliert, die vom Hersteller (Merlin Gesellschaft für mikrobielle Diagnostika mbH, Bornheim-Hersel, Deutschland) mit verschiedenen Zuckern und chromogenen Substanzen in lyophilisierter Form beschickt wurden. Nachdem die entsprechenden Wells mit Paraffinöl überschichtet wurden (Test auf anaerobe Verwertung der entsprechenden Substrate) wurde die Platte mit einer Folie zugeklebt (Schutz vor Kontamination) und 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurden mithilfe eines Mikrotiterplatten-Photometers die durch pH-

sensitive chromogene Zusätze sichtbar gemachten biochemischen Reaktionen bei drei Wellenlängen gemessen. Anhand der physiologischen Charakteristika der einzelnen Isolate konnten diese den verschiedenen, im System hinterlegten Spezies, zugeordnet werden. Sofern es sich um eine Spezies handelte, deren physiologische Eigenschaften nicht in der der Auswertung zugrundeliegenden Datenbank eingepflegt sind, konnten diese Isolate nicht identifiziert werden. Um sie dennoch zumindest der jeweiligen Gattung *Enterococcus* bzw. *Staphylococcus* zuordnen zu können, wurde von diesen Isolaten, ebenso wie von den *E. coli*-Isolaten, DNA extrahiert (entweder über eine DNA-Extraktion mit Phenol-Chloroform oder einen Aufschluss mit Lysepuffer) und genotypisch ein spezies- bzw. gattungsspezifisches Genfragment mittels PCR nachgewiesen. Hierfür wurde für *E. coli* und *Staphylococcus* jeweils ein spezifisches *tuf*-Genfragment (Elongationsfaktor) (Maheux et al. 2009; Martineau et al. 2001) und für *Enterococcus* ein spezifisches 16S-Genfragment (Ke et al. 1999) amplifiziert. Die PCR Ansätze wurden in einem Gesamtvolumen von 25 µl durchgeführt: 0,625 units True Start HS Taq DNA Polymerase, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA), 0,25 mM jedes dNTP's, 10 µM der beiden Primer sowie 0,5 µl der Template-DNA. Die positive PCR-Reaktion sowie die Größe des jeweiligen PCR-Produktes wurden anschließend mittels Agarosegelelektrophorese überprüft.

### Resistenzbestimmung

a) Phänotypisch: Agardiffusionstest, Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (E-Test, D-Test)

Jedes der gewonnenen Isolate wurde auf seine Empfindlichkeit gegen Antibiotika, die in der Humanmedizin häufig zur Behandlung von Infektionen mit den jeweiligen Erregern eingesetzt werden, getestet. Hierfür wurde von jedem Isolat ein Antibiogramm nach DIN 58940 (DIN 2011) angesetzt und die Empfindlichkeit der *E. coli*-Isolate gegen Ampicillin, Ertapenem, Cefotaxim, Ciprofloxacin und Cotrimoxazol, die der Enterokokken-Isolate gegen Ampicillin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, Erythromycin und Vancomycin sowie der Staphylokokken-Isolate gegen Ciprofloxacin, Clindamycin, Erythromycin, Oxacillin und Vancomycin getestet. Mit Biomasse einer Übernachtskultur (18 h) auf DEV-Nähragar wurde in 0,9 %iger steriler NaCl-Lösung eine Trübung gemäß McFarland 0,5 eingestellt und diese Suspension bei Enterokokken und Staphylokokken 1:100 und bei *E. coli* 1:1000 verdünnt. Hundert µl der jeweiligen Verdünnung wurden anschließend auf eine frische Müller-Hinton-Agarplatte ausplattiert und die jeweiligen Antibiotikaplättchen aufgelegt. Nachdem die Antibiotika in den Agar diffundiert waren, wurden die inokulierten Agarplatten 18 h bei 36 °C inkubiert und anschließend die Hemmhofdurchmesser gemessen (Abb. 57a). Anhand der in der DIN 58940 (DIN 2011) für die jeweiligen Antibiotika gelisteten Grenzwerte, wurden dann die einzelnen Isolate in, gegen das entsprechende Antibiotikum, „sensibel“, „intermediär“

oder „resistent“ klassifiziert. Alle Ampicillin-resistenten *E. coli*-Isolate wurden zusätzlich mittels Agardiffusionstest auf ihre Empfindlichkeit gegen Cefpodoxim und Ceftazidim sowie Amoxicillin + Clavulansäure getestet, um diese entsprechend der Definition des Robert-Koch-Instituts (RKI 2007) als Extended-Spektrum- $\beta$ -Lactamase produzierende (ESBL) *E. coli* klassifizieren zu können.

Von allen Erythromycin-resistenten *Staphylococcus*-Isolaten wurde die minimale Hemmkonzentration gegen Erythromycin und Clindamycin mittels Etest® bestimmt (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich). Hierfür wurde auf einer frischen Müller-Hinton-Agarplatte 100  $\mu$ l einer Bakteriensuspension mit einer Trübung entsprechend McFarland 1 (Biomasse von einer Übernachtskultur auf einem Medium ohne selektive Zusätze) ausplattiert und der jeweilige Etest®-Streifen aufgelegt. Nachdem durch die Diffusion des auf dem Streifen aufgetragenen Antibiotikums die Agarplatte einen Konzentrationsgradienten aufwies, wurden die so vorbereitete Agarplatte 18 h bei 36°C inkubiert und anschließend die minimale Hemmkonzentration abgelesen (Schnittpunkt der Hemmellipse mit der auf dem Streifen aufgetragenen Antibiotikumskonzentration; Abb. 57b). Alle Erythromycin-resistenten und Clindamycin-sensiblen *Staphylococcus*-Isolate wurden zudem mittels D-Test auf die Induzierbarkeit einer Clindamycin-Resistenz getestet. Hierfür wurde auf eine mit 100  $\mu$ l einer Bakteriensuspension entsprechend McFarland 1 (Biomasse einer Übernachtskultur auf einem Medium ohne selektive Zusätze) ein mit 15  $\mu$ g Erythromycin und ein mit 2  $\mu$ g Clindamycin beschicktes Plättchen im Abstand von 17 mm (Zentrum zu Zentrum) gelegt und nach 18 h Inkubation bei 36 °C die Form des Hemmhofes beurteilt: Zeigte der Hemmhof um das Clindamycin-Plättchen eine Abflachung auf der dem Erythromycin-Plättchen zugewandten Seite, so konnte das getestete Isolat aufgrund der Anwesenheit von Erythromycin trotz der inhibierenden Clindamycin-Konzentration wachsen und zeigte damit eine induzierbare Clindamycin-Resistenz (D-Test-positiv Abb. 57c).

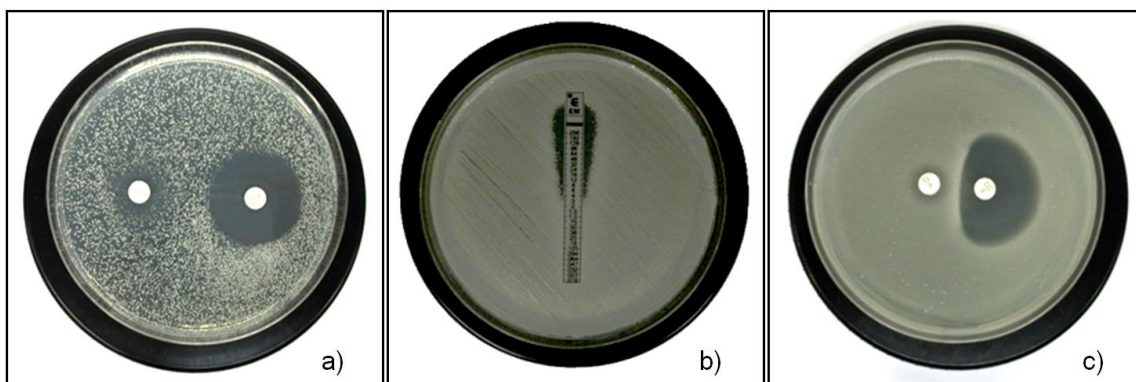


Abb. 57: Phänotypische Resistenzbestimmung: a) Antibiotogramm eines *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, 15  $\mu$ g Erythromycin (linkes Plättchen), 2  $\mu$ g Clindamycin (rechtes Plättchen); b) Erythromycin-Etest® eines *S. sp.*; c) D-Test eines *S. cohnii* ssp. *cohnii*, 15  $\mu$ g Erythromycin (linkes Plättchen), 2  $\mu$ g Clindamycin (rechtes Plättchen)

b) Genotypisch: Nachweis von Resistenzgenen, Gesamtgenom-Sequenzierung zweier induzierbar Clindamycin-resistenter *Staphylococcus*-Isolate

Alle Ampicillin-resistenten *E. coli*-Isolate wurden mithilfe von PCR auf ihre genetische Determination durch *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub> geprüft. Hierfür wurden die Primer und PCR-Bedingungen verwendet, die von Ehlers et al. (2009) beschrieben wurden. Alle Vancomycin-resistenten *E. faecium* und *E. faecalis* Isolate wurden hinsichtlich der genetischen Kodierung der Vancomycin-Resistenz durch *vanA-E,G* mittels PCR auf den Besitz der jeweiligen Gene getestet (Depardieu et al. 2004). Außerdem wurden alle *S. aureus* sowie alle im Antibiogramm Oxacillin-resistenten Koagulase-negativen Staphylokokken-Isolate auf den Besitz von *mecA* überprüft (Predari et al. 1991). Die genetische Kodierung der konstitutiven und induzierbaren Clindamycin-Resistenz wurde mithilfe der bereits beschriebenen Primer getestet (*erm*(A), (B), (C), (F), (G), (Q): Koike et al. (2010); *erm*(T): Feßler et al. (2010); *erm*(43): Schwendener und Perreten (2012); *erm*(45): Wipf et al. (2015)). Zwei der induzierbaren Clindamycin-resistenten *Staphylococcus*-Isolate, die keines der bis dato bekannten *erm*-Gene besaßen, wurden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Schwarz (Friedrich-Löffler-Institut, Mariensee) und einer chinesischen Arbeitsgruppe aus Beijing (Key Laboratory of Detection Technology for Animal-Derived Food Safety, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing, China) mithilfe des HiSeq 2000 (Shotgun-Sequencing) total sequenziert. Die erhaltenen Sequenzen wurden zu Contigs assembliert und nach den Motiven einer Methylase (Resistenzmechanismus) durchsucht. Anhand der Sequenz der gefundenen Methylase (*erm*(44)-Variante (Wendlandt et al. 2015)) wurden Primer für dessen Detektion designt und mit diesen die induzierbar und konstitutiv Clindamycin-resistenten *Staphylococcus*-Isolate, die bisher ebenfalls negativ für alle untersuchten *erm*-Gene waren, getestet.

### 3.12 Biotests

Zum Nachweis von Wirkpotentialen in Umweltproben, die unterschiedliche Wirkmechanismen abbilden, wurden verschiedene Biotestverfahren eingesetzt, die entweder *in vitro*, d.h. ohne lebende Testorganismen, oder aber mit lebenden Tieren oder Pflanzen (*in vivo*) durchgeführt wurden.



## **Biotests *in vitro***

### **3.12.1 Genotoxizität**

#### **Ames-Fluktuationstest**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Die Erfassung der mutagenen Wirkung erfolgte mit dem gentechnisch veränderten Stamm YG7108 des Bakteriums *Salmonella typhimurium* (Yamada et al. 1995) in 4-fach angereicherten SPE-Extrakten unter Einsatz des Ames-Fluktuationstests gemäß ISO-/DIN-Richtlinie 11350. Die Mutagenität wird als prozentuale Anzahl der Revertanten für die untersuchten Proben angegeben.

#### **SOS-Chromotest**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

##### *Verarbeitung der Wasser- und Abwasserproben*

Ein Liter von jeder Probe wurde im Vakuum durch einen Glasfilter (2 µm, Durchmesser 47 mm, Fisher Scientific, CZ) gefiltert und mittels Festphasenextraktion (SPE) extrahiert. Jede Säule wurde durch 6 ml Methanol aktiviert und mit 8 ml destilliertem Wasser equilibriert. Der maximale Druck für die Drainage lag bei -30 kPa und wurde kontrolliert, um die Flussrate unter 10 ml/min zu halten. Wenn die Proben die Festphase passierten, wurden die Säulen für 10 min getrocknet. Danach wurden sie mit 6 ml Methanol ohne Druck eluiert. Schließlich wurden die Eluate mit Stickstoff zu ihrem finalen Volumen konzentriert, welches einem 1200fach konzentrierten Abfluss entsprach. Die extrahierten Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

##### *Verarbeitung der Sedimentproben*

Die gefrorenen Sedimente wurden über Nacht bei Labortemperatur aufgetaut und von Hand in einem Edelstahlbehälter homogenisiert. Etwa 300 g von jeder Probe wurden getrocknet. Die homogenisierten Proben wurden bei -18 °C über Nacht eingefroren und 2 h vor der Gefriertrocknung bei -80 °C gelagert. Proben wurden für 34 h gefriergetrocknet (Christ instrument). Die getrockneten Proben wurden durch Siebe mit einer Größe von 2 mm gesiebt. Etwa 10 g von jeder Probe wurden mittels Dichlormethan (150 ml, 1 h) extrahiert (automatic extractor Büchi System B-811). Die Extrakte wurden mit einem Extraktor zu einem ungefähren Volumen von 5 ml konzentriert und in Fläschchen überführt. Die Proben

wurden mit Hilfe von Stickstoff konzentriert, danach in Methanol gelöst und bis zur weiteren Verarbeitung eingefroren.

Der SOS-Chromotest ist ein auf Bakterien basierender Test. Hierfür kamen *Escherichia coli*-Bakterien (Stamm PQ 37) zur Anwendung (Quillardet et al. 1982; White et al. 1996). Diese wurden in einer 96-Well-Platte gegenüber Proben von Oberflächenwasser, Sediment und Kläranlagenablauf exponiert. Dabei wurde nach 2 h Inkubation die Aktivität der Beta-Galaktosidase gemessen, einem Reporterenzym, welches zusammen mit dem DNA-Reparatursystem induziert wird. Zudem wurde mittels eines chromogenen p-Nitrophenyl-Phosphat-Substrates die Aktivität der alkalischen Phosphatase gemessen, einem Marker für Cytotoxizität. Die Hemmung der alkalischen Phosphatase wurde in Relation zur Negativkontrolle gesetzt. Die Konzentrationen, welche mehr als 50 % Hemmung verursachten, wurden von der Auswertung ausgeschlossen. Der SOS *induction factor* (IF) und die minimale genotoxische Konzentration (MGC – die Konzentration, bei der der IF signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht war) wurden für jede getestete Konzentration berechnet.

### 3.12.2 Dioxinähnliche Toxizität

#### Yeast Dioxin Screen

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Dioxinähnliche Wirkpotentiale wurden mithilfe des Yeast Dioxin Screen (YDS) in nativen Wasser- und Abwasserproben sowie in 2,5-fach angereicherten SPE-Extrakten erfasst (Routledge und Sumpter 1996; Stalter et al. 2011; Wagner et al. 2013). Dabei wurde ein genetisch veränderter Hefestamm verwendet, der die Gensequenz des humanen Arylhydrocarbonrezeptors besitzt. Als Positivkontrolle wurde die Referenzsubstanz  $\beta$ -Naphthoflavon im Konzentrationsbereich von  $3,0 \times 10^{-11}$  bis  $1,0 \times 10^{-7}$  M parallel getestet. Die Ergebnisse sind als prozentuale Aktivierung des Arylhydrocarbongenrezeptors angegeben.

#### Reportergenassay H4IIE-luc-Zellen

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Zusätzlich wurden für die Bestimmung Dioxin-ähnlicher Wirkpotentiale Hepatokarzinom-Zellen eingesetzt, die mit einem Luziferase-Gen transfiziert wurden. Dieses Luziferase-Gen der sogenannten H4IIE-*luc*-Zellen steht unter Kontrolle des Arylhydrocarbon-Rezeptors (AhR) (Garrison et al. 1996; Hilscherova et al. 2002). In 96-Well-Platten wurden die Zellen

gegenüber Proben von Oberflächenwasser, Sediment und Kläranlagenablauf exponiert. Nach der Exposition wurde die Intensität der AhR-abhängigen Lumineszenz gemessen.

### 3.12.3 Östrogenität

#### Hefe-basierter Reporteragenassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Östrogene Wirkpotentiale wurden mithilfe des Yeast Estrogen Screen (YES) in nativen Wasser- und Abwasserproben sowie in 2,5-fach angereicherten SPE-Extrakten erfasst (Routledge und Sumpter 1996; Stalter et al. 2011; Wagner et al. 2013). Der Test nutzt einen genetisch veränderten Hefestamm, der die Gensequenz des humanen Östrogenrezeptors besitzt. Als Positivkontrolle wurde die Referenzsubstanz 17 $\beta$ -Östradiol im Konzentrationsbereich von  $1,0 \times 10^{-12}$  bis  $1,0 \times 10^{-8}$  M parallel getestet. Im Rahmen der zusätzlichen Untersuchungen am Retentionsbodenfilter wurde von jeder Probe ein wässriges Eluat sowie ein erschöpfender 2,5-fach angereicherter Extrakt nach Aceton-Extraktion analysiert. Die Ergebnisse sind als prozentuale Aktivierung des Östrogenrezeptors angegeben.

#### Reporteragenassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa- Zelllinie

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Für diese Tests wurde 2009 die humane Mammakarzinomzelllinie (MVLN) und später die Zelllinie HeLa-9903 verwendet. Beide Zelllinien sind stabil mit einem Luciferasegen unter Kontrolle der Östrogen-Rezeptoren alpha und beta (über Bindung an transgene *estrogen regulated elements* aus dem Krallenfrosch *Xenopus*) transfiziert. Die Aktivität des Reporteragenproduktes Luciferase wird in dem Test luminometrisch gemessen und ist proportional zum östrogenen Potential der Probe, welches als „Östrogenäquivalent“ (EE) in Relation zu 17 $\beta$ -Östradiol angegeben wird. Dieser Test ist als standardisierter, schneller und hochsensitiver Assay anerkannt und detektiert Östrogenäquivalente bis in den ng/L-Bereich. Die Tests mit den HeLa-9903-Zellen wurden angelehnt an das Protokoll der US EPA (2011) durchgeführt.

## **E-Screen-Assay**

*Kuch (Universität Stuttgart)*

Dieser Test basiert auf der Proliferation menschlicher Brustkrebszellen bei Anwesenheit von östrogenaktiven Substanzen. Für den Test wurden die Zellen in 96-Well-Platten gegenüber Oberflächenwasser und Kläranlagenabläufen exponiert. Nach fünf Tagen erfolgte eine Färbung der Zellen mit Sulforhodamin B und eine photometrische Bestimmung des Proteingehalts, durch den das Maß der Zellproliferation bestimmt werden und auf die östrogene Aktivität der Probe geschlossen werden konnte. Diese Aktivität repräsentiert die Summe aller Wirkungen östrogenaktiver Substanzen bezogen auf 17 $\beta$ -Estradiol als Referenz.

### **3.12.4 Anti-Östrogenität**

#### **Hefe-basierter Reporteragenassay**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Anti-östrogene Wirkpotentiale wurden mithilfe des Yeast Anti Estrogen Screen (YAES) in nativen Wasser- und Abwasserproben sowie in 2,5-fach angereicherten SPE-Extrakten erfasst (Routledge und Sumpter 1996; Stalter et al. 2011; Wagner et al. 2013). Der Test nutzt einen genetisch veränderten Hefestamm, der die Gensequenz des humanen Östrogenrezeptors besitzt. Für die Erfassung der antagonistischen Wirkung wurde eine Hintergrund-Konzentration der agonistischen Referenzsubstanz (17 $\beta$ -Östradiol) benötigt. Als Positivkontrolle wurde die Referenzsubstanz 4-Hydroxytamoxifen im Konzentrationsbereich von  $11,25 \times 10^{-6}$  bis  $8,0 \times 10^{-5}$  M parallel getestet. Im Rahmen der zusätzlichen Untersuchungen am Retentionsbodenfilter wurde von jeder Probe ein wässriges Eluat sowie ein erschöpfender 2,5-fach angereicherter Extrakt nach Aceton-Extraktion analysiert. Die Ergebnisse sind als prozentuale Hemmung des Östrogenrezeptors angegeben.

#### **Reporteragenassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa- Zelllinie**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Anti-östrogene Wirkpotentiale wurden mit den gleichen Tests wie die entsprechenden östrogenen Potentiale erfasst, wobei die Probe mit der Standardsubstanz 17 $\beta$ -Östradiol versetzt wurde. Luminometrisch wird die Competition möglicher anti-östrogen wirkender Stoffe mit diesem Standard um die ER $\alpha$ -Bindungsstelle gemessen. Eine Verringerung des Signals quantifiziert die anti-östrogenen Potentiale.

### 3.12.5 Androgenität

#### Hefe-basierter Reporter-genassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Androgene Wirkpotentiale wurden mit Hilfe des Yeast Androgen Screen (YAS) in nativen Wasser- und Abwasserproben sowie in 2,5-fach angereicherten SPE-Extrakten erfasst (Routledge und Sumpter 1996; Stalter et al. 2011; Wagner et al. 2013). Der Test nutzt einen genetisch veränderten Hefestamm, der die Gensequenz des humanen Androgenrezeptors trägt. Als Positivkontrolle wurde die Referenzsubstanz Testosteron im Konzentrationsbereich von  $3,0 \times 10^{-11}$  bis  $1,0 \times 10^{-7}$  M parallel getestet. Im Rahmen der zusätzlichen Untersuchungen am Retentionsbodenfilter wurde von jeder Probe ein wässriges Eluat sowie ein erschöpfender 2,5-fach angereicherter Extrakt nach Aceton-Extraktion analysiert. Die Ergebnisse sind als prozentuale Aktivierung des Androgenrezeptors angegeben.

#### Reporter-genassay mit MDA-kb2-Zellen

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Der Test basiert auf einer stabil mit einem Luciferasegen transfizierten Mammakarzinomzelllinie, hier die Linie MDA-kb2. Das Luciferasegen steht unter Kontrolle des Androgen-Rezeptors (AR). Die Aktivität der AR-abhängigen Luciferase ist als Maß für androgene Potentiale anzusehen, und die Resultate werden als Äquivalente des Modell-Androgens Dehydrotestosteron (DHT) angegeben. Über einen kompetitiven Assay mit Mischungen aus der zu testenden Probe und dem Standard-Induktor DHT wurde die Verringerung des luminometrisch detektierten Luciferase-Signals in Relation zum von DHT alleine ausgehenden Signal quantifiziert. Diese Reduktion ist äquivalent zum anti-androgenen Potential in der Probe.

### 3.12.6 Anti-Androgenität

#### Hefe-basierter Reporter-genassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt /Main)*

Anti-androgene Wirkpotentiale wurden mit Hilfe des Yeast Anti Androgen Screen (YAAS) in nativen Wasser- und Abwasserproben sowie in 2,5-fach angereicherten SPE-Extrakten erfasst (Routledge und Sumpter 1996; Stalter et al. 2011; Wagner et al. 2013). Der Test nutzt einen genetisch veränderten Hefestamm, der die Gensequenz des humanen

Androgenrezeptors besitzt. Für die Erfassung der antagonistischen Wirkung wurde eine Hintergrund-Konzentration der agonistischen Referenzsubstanz (Testosteron) benötigt. Als Positivkontrolle wurde die Referenzsubstanz Flutamid im Konzentrationsbereich von  $7,81 \times 10^{-7}$  bis  $5,0 \times 10^{-5}$  M parallel getestet. Im Rahmen der zusätzlichen Untersuchungen am Retentionsbodenfilter wurde von jeder Probe ein wässriges Eluat sowie ein erschöpfender 2,5-fach angereicherter Extrakt nach Aceton-Extraktion analysiert. Die Ergebnisse sind als prozentuale Hemmung des Androgenrezeptors angegeben.

### **Reportergenassay mit MDA-kb2-Zellen**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Es wird die Methode zur Bestimmung androgener Wirkpotentiale eingesetzt, wobei eine agonistische Referenzsubstanz eingesetzt wird. Die Reduktion des Effekts ist äquivalent zum anti-androgenen Potential in der Probe.

## **Biotests *in vivo***

### **3.12.7 Phytotoxizität**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)*

Zum Nachweis phytotoxischer Wirkpotentiale in Umweltproben wurde der Wachstumsinhibitionstest mit der Wasserlinse *Lemna minor* durchgeführt. Wasserlinsen vermehren sich unter mitteleuropäischen Bedingungen vorwiegend vegetativ, wobei das Wachstum unter optimalen Bedingungen exponentiell verläuft. Schadstoffe können sich negativ auf das Wachstum auswirken.

Der Test erfolgte nach der OECD-Richtlinie 221 (OECD 2006). Hierbei wurden die Proben als Wasser-Sediment-Gemische untersucht. Als Negativkontrolle wurden die Organismen im reinen Hälterungsmedium exponiert. Die Versuchsdauer betrug 7 Tage, und als Endpunkt hierbei die prozentuale Anzahl der gebildeten Fronds (Blätter) im Vergleich zur Negativkontrolle am Ende des Versuchs.

### **3.12.8 Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest mit dem Zebrafisch *Danio rerio*; FET)**

*Theilmann (Universität Tübingen)*

Um embryotoxische Wirkpotentiale in Abwasser, Oberflächenwasser und in Sedimentproben nachzuweisen, wurden Embryotests mit dem Zebrafisch *Danio rerio* durchgeführt. Der Zebrafisch ist als Modellorganismus in ökotoxikologischen Wirkstudien sehr gut etabliert, weil Haltung und Zucht sehr einfach und standardisiert durchgeführt werden können, und zudem aufgrund der hohen Reproduktionsrate und des frühen Fortpflanzungsbeginns viele Eier gewonnen werden können, die man in Tests einsetzen kann. Eier und Embryonen bieten zudem den Vorteil, dass sie transparent sind, so dass eine detaillierte Beobachtung aller Entwicklungsschritte möglich ist.

Der Fischembryotest mit dem Zebrafisch ist eine weltweit angewandte Testmethode, um entwicklungstoxische Potentiale in Umwelt- und Abwasserproben nachzuweisen. Im Gegensatz zu anderen Testsystemen, die Reaktionen auf Zellen oder Enzyme detektieren, werden mit diesem Test mögliche Auswirkungen auf die frühe Larvalentwicklung des Zebrafisches sowie die frühen Larvalstadien (nach Verlassen der Eihülle) untersucht. Der Test wurde ursprünglich für wässrige Proben von Nagel (2001) als DarT entwickelt und unter DIN 38415-T 6 (Ausgabe 2003, gültig ab 01.01.2005) standardisiert. Der im Rahmen des vorliegenden Projekts durchgeführte Fisch Embryo Test erfolgte in Anlehnung an den „Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test“ (OECD 2013) sowie an den von Nagel (2001) entwickelten Embryotest (DarT). Die Anwendung des Tests auf Sedimentproben erfolgte in Anlehnung an die Modifikation von Hollert et al. (2003). Der hier angewandte Test wird als sogenannter „verlängerter Embryotest“ bezeichnet, da er, anders als der DarT nach Nagel (2001), eine 96-stündige Expositionszeit der Embryonen vorsieht. Durch diese verlängerte Expositionszeit lassen sich auch Reaktionen erfassen, welche erst nach dem Schlupf der Tiere, also ohne den protektiven Schutz der Eihülle (Chorion), stattfinden. Ein bedeutender Vorteil dieses Tests ist, dass embryonale Stadien sehr sensibel auf Einwirkungen von Umweltproben und Schadstoffen reagieren können (Luckenbach et al. 2001a; Scheil et al. 2010), wodurch Aussagen zum Gefährdungspotential einzelner Schadstoffe beziehungsweise, wie im vorliegenden Fall, Aussagen zum entwicklungstoxischen Potential von Abwasser- und Umweltproben gemacht werden können.

Für die im Rahmen von SchussenAktivplus durchgeführten Embryotests wurden die Zebrafischeier unmittelbar nach der Befruchtung gegenüber Wasser- und Sedimentproben von den Freilandprobstellen sowie gegenüber Proben der untersuchten Anlagen exponiert. Als Negativkontrolle diente Kunstwasser nach ISO 7346/3. Während des Untersuchungszeitraums von 96 Stunden wurden zu definierten Zeitpunkten subletale und

letale Endpunkte sowie die Schlupfrate bestimmt (siehe Tab. 13). Zu den letalen Endpunkten werden z. B. die Koagulation des Embryos und ein fehlender Herzschlag gezählt. Als subletale Endpunkte werden beispielsweise die Verformung des Kopfes, des Schwanzes und des Herzens, Dottersackdeformationen sowie die Retardierung des Wachstums bestimmt. Die beobachteten Endpunkte geben Hinweise auf embryotoxische Wirkungen der untersuchten Proben.

Tab. 13: Endpunkte im Embryotest mit dem Zebrafisch (*Danio rerio*)

Endpunkte	Stunden nach Befruchtung							
	8 h	12 h	24 h	48 h	60 h	72 h	84 h	96 h
Koagulation (Mortalität)	X	X	X	X	X	X	X	X
Schlupfrate					X	X	X	X
Entwicklungsverzögerungen								
Epibolie	X							
Gastrulation		X						
Somitenbildung			X					
Schwanzablösung			X					
Augenbildung			X					
Herzschlagrate (Schläge/min)				X				
Otolithenbildung					X			
Melanozytenbildung					X			
Spontane Kontraktionen			X					
Fehlbildungen								
Ödeme (an Herz/Dottersack)					X			
Fehlbildung der Augen					X	X	X	X



Schwanzdeformationen					X	X	X	X
Deformation der Wirbelsäule					X	X	X	X
schwache/fehlerhafte Pigmentierung					X	X	X	X

### 3.12.9 Entwicklungstoxizität beim Glanzwurm *Lumbriculus variegatus*

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)

Zur Ermittlung entwicklungstoxischer Wirkpotentiale wurde neben dem Test mit dem Zebraäbrbling noch ein Test mit dem Glanzwurm *Lumbriculus variegatus* durchgeführt. Hierbei macht man sich eine besondere Art der Vermehrung dieses Ringelwurms zu Nutze: Außerhalb ihrer sexuellen Reproduktionsphase (April – August), in der sie Kokons abgeben, vermehren sich die Tiere nämlich asexuell. Dabei zerfallen sie in anteriore und posteriore Teilstücke (Morphallaxis), die anschließend die fehlenden Körperabschnitte regenerieren. Die Tiere sind leicht und in großer Dichte zu halten und gut im Labor zu vermehren. Aufgrund ihrer Lebensweise ist die Art besonders gut zur Untersuchung von Sedimentproben geeignet.

Der Entwicklungstoxizitätstest mit *Lumbriculus variegatus* erfolgte nach OECD-Richtlinie 225 (OECD 2007). Die Proben wurden als Wasser-Sediment-Gemische untersucht. Es wurde zusätzlich eine Laborkontrolle als Negativkontrolle mit reinem Hälterungsmedium des Organismus berücksichtigt. Die Versuchsdauer betrug 28 Tage, und als Endpunkt wurde die prozentuale Anzahl der Würmer im Vergleich zur Negativkontrolle am Ende des Versuchs bestimmt.

### 3.12.10 Reproduktionstoxizität und generelle Toxizität bei der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum*

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt/Main)

Die Tests wurden mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* durchgeführt, die Ende des 19. Jahrhunderts von Neuseeland nach Europa eingeschleppt wurde und heute bei uns in Süß- und Brackwasser weit verbreitet ist. Die Tiere pflanzen sich vorwiegend als Weibchen parthenogenetisch fort und sind ovovivipar, was bedeutet, dass keine Eier abgelegt werden, sondern dass die sich entwickelnden Eier im mütterlichen

Organismus verbleiben, bis die Eihülle aufreißt. Dieser Fortpflanzungsmodus erlaubt eine relativ einfache, zuverlässige und schnelle Ermittlung der Reproduktionsleistung und ist damit ein aussagekräftiger Parameter für den Nachweis von Schadstoffwirkungen.

Die Abwasserproben der Versuchsanlagen wurden im Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum* nach OECD-Richtlinie 242 (OECD 2016) untersucht. Dieser Test dient dem Nachweis reproduktionstoxischer Wirkpotentiale in den Proben. Hierfür wurden die Schnecken über 28 Tage in den nativen Abwasserproben exponiert. Da die Zulaufproben einen hoch toxischen Effekt auf die Schnecken hatten, wurden diese im Verhältnis 1:8 und 1:16 mit Hälterungsmedium verdünnt getestet. Zusätzlich wurde eine Laborkontrolle als Negativkontrolle mit reinem Hälterungsmedium der Schnecken berücksichtigt. Als Endpunkte wurden bei diesem Test neben der Mortalität insbesondere die durchschnittliche Reproduktionsleistung der Tiere nach 28 Tagen ermittelt und als prozentuale Anzahl der Nachkommen im Vergleich zur Negativkontrolle angegeben.

### **3.13 Biomarker zur Wirkanalytik in Fischen und Flohkrebse**

Um zu überprüfen, inwiefern sich in Biotests nachgewiesene Wirkpotentiale tatsächlich bei Freilandorganismen manifestieren, wurden an aus Schussen und Argen entnommenen Fischen und Flohkrebse sowie an dort im aktiven Monitoring exponierten Tieren Biomarkeruntersuchungen durchgeführt. Mit Hilfe dieser Gesundheitsmarker ist eine Aussage sowohl zum allgemeinen Gesundheitszustand der Tiere als auch zu Reaktionen auf Chemikalien mit spezifischen Wirkmechanismen, wie z. B. hormonell aktiven Substanzen, möglich.

#### **3.13.1 Histopathologische Untersuchungen**

*Maier, Wilhelm, Tribskorn (Universität Tübingen)*

Für die histopathologische Gewebsdiagnostik wurden die vor Ort entnommenen Organe (Leber, Kieme und Niere) sofort in 2 % Glutardialdehyd (in 0,1 M Cacodylatpuffer, pH 7,6) fixiert. Im Labor wurden die Proben in Cacodylatpuffer gewaschen, nach Bedarf in einem Gemisch aus Ameisensäure und Ethanol entkalkt, über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und in Histowachs eingebettet. 3 µm dicke Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin und Alcianblau-PAS (*periodic acid Schiff*) gefärbt. Die Auswertung von Leber, Kieme und Niere erfolgte qualitativ und semi-quantitativ, wobei ein etabliertes, fünfstufiges Bewertungssystem zu Grunde gelegt wurde (Tab. 14). Klasse 1 steht hierbei für den

Kontrollzustand, Klasse 2 für eine leichte Reaktion, Klasse 3 für eine Reaktion, Klasse 4 für eine beginnende Destruktion und Klasse 5 für eine Destruktion (Abb. 58 bis 66).

Tab. 14: Klassifikationskriterien für Kieme, Leber und Niere

Klasse	Kieme	Leber	Niere
1	Sekundärlamellen intakt, Pfeilerzellen & Pflasterzellen gut zu unterscheiden, Chloridzellen an der Basis der Sekundärlamellen, Wenige Schleimzellen	Sehr helles Cytoplasma bei Männchen & jungen Weibchen (bedingt durch hohen Glykogengehalt),  Leer erscheinende Cytoplasma-areale um basophile Cytoplasmabereiche bei reiferen Weibchen (Stadium 2)	Proximale Tubuli mit basophilem Cytoplasma und baso-median liegenden Zellkernen,  Distale Tubuli mit sehr hellem Cytoplasma und basal liegenden runden Zellkernen,  Gut strukturierte Glomeruli und hämatopoetisches Gewebe kompakt
2	< 20 % Epithelablösung, Gering ausgeprägte Hypertrophie von Chloridzellen und/oder Pflasterzellen	Leicht dilatierte Kapillaren bei Männchen,  Kleine Entzündungsherde (z.T. um Gallencanaliculi)	Wenige Makrophagen v.a. zwischen Zellen der distalen Tubuli,  Erweiterte Interzellularen
3	20-50 % Epithelablösung mit entzündlich-zelligen Infiltrationen, Starke Hypertrophie von Chloridzellen und/oder Pflasterzellen, Fusion von Sekundärlamellen	Bei reifen Weibchen: Zellen mit sehr basophilem Cytoplasma, Zellkerne mit hypertrophen Nukleoli,  Bei Männchen dunklere Zellen (reduzierter Glykogengehalt),  Dilatierte Kapillaren & Interzellularen,  Vakuolisierung des Cytoplasmas	Viele Makrophagen, Hyalintropfige Proteinspeicherung in proximalen Tubuli,  Hämatopoetisches Gewebe reduziert,  Dilatierte Tubuli
4	< 20 % Nekrosen	< 5 % Nekrosen, Zahlreiche Entzündungsherde, Sehr dunkle Zellen mit großen Interzellularen und stark erweiterten Kapillaren	< 20 % Nekrosen, sehr viele Makrophagen
5	> 20 % Nekrosen	> 5 % Nekrosen, Karyolyse, starke Entzündungen, Gewebestruktur aufgelöst	20 % Nekrosen, starke Lumendilatation

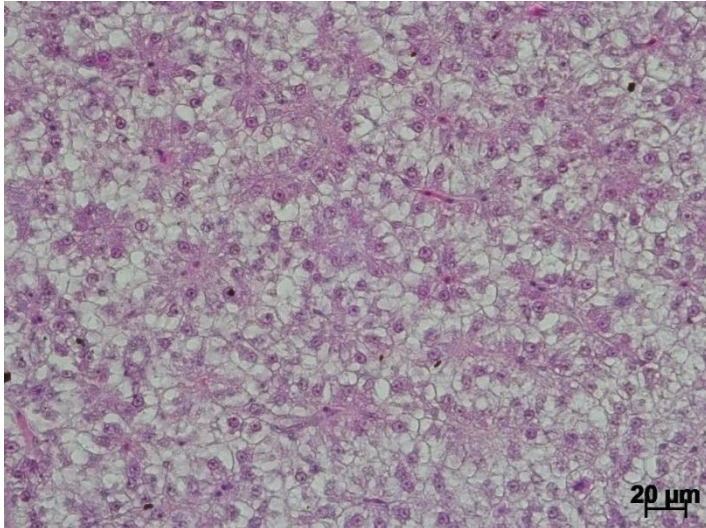


Abb. 58: Leber mit regelmäßig geformten Hepatozyten, Kontrollzustand

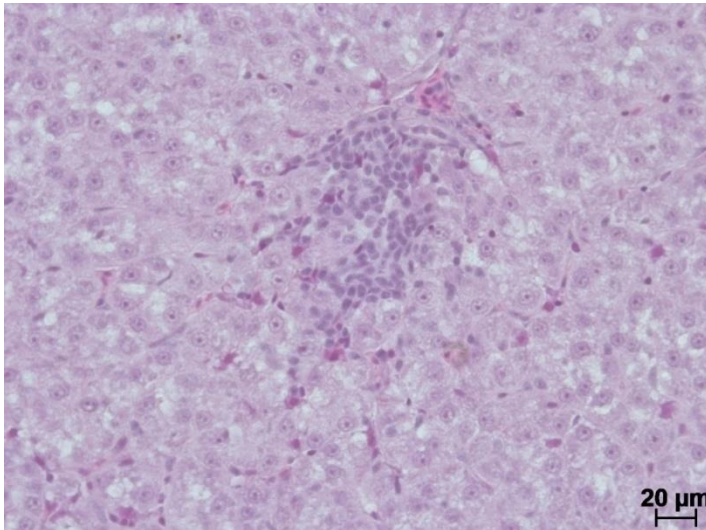


Abb. 59: Leber mit reduziertem Glykogen und Entzündungsherd, Reaktionszustand

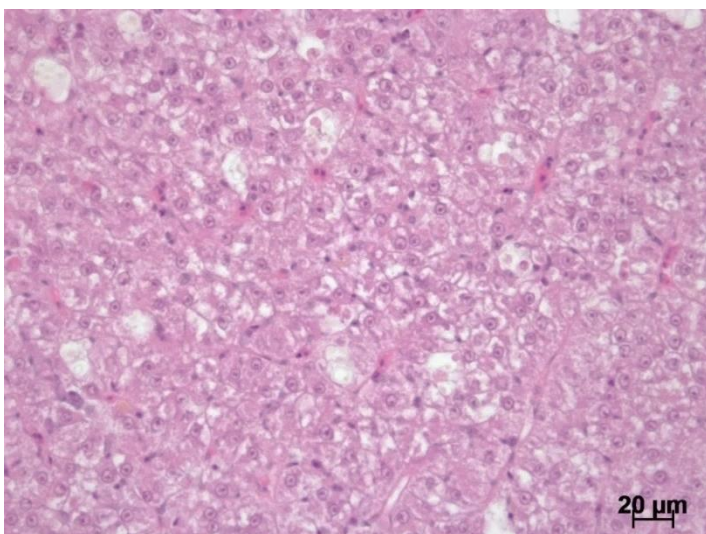


Abb. 60: Leber nekrotischen Arealen, Destruktionszustand

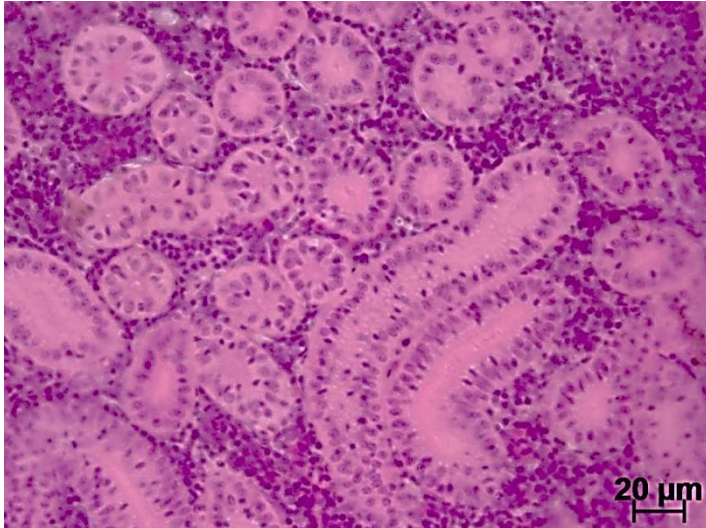


Abb. 61: Niere mit intakten Tubuli und kompaktem hämatopoetischem Gewebe, Kontrollzustand

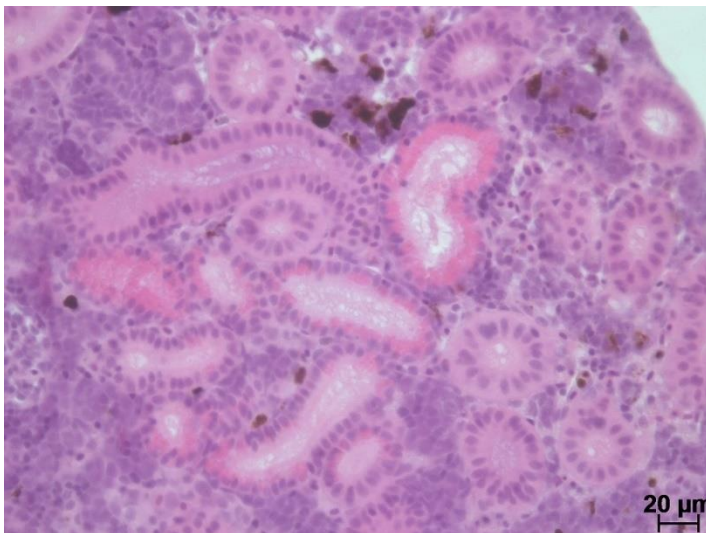


Abb. 62: Niere mit mittelmäßiger bis starker hyalintropfiger Degeneration in einzelnen Tubuli, Reaktionszustand

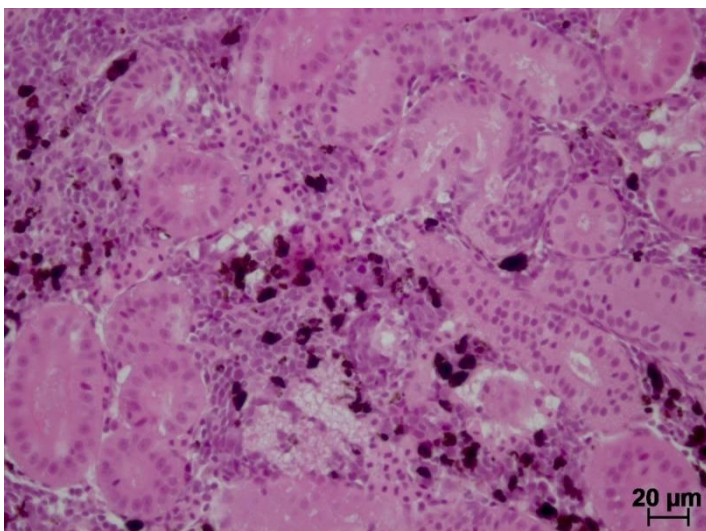


Abb. 63: Niere mit sich auflösenden Tubuli, Destruktionszustand



Abb. 64: Kieme mit intakten Sekundärlamellen, Kontrollzustand

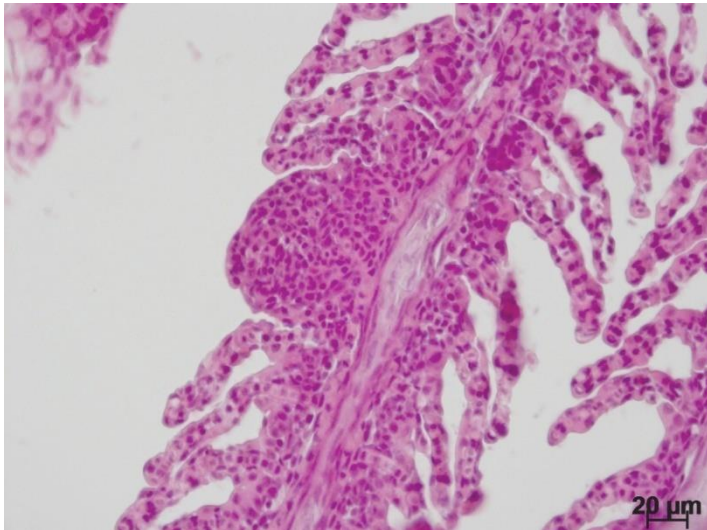


Abb. 65: Kieme mit beginnender Fusion der Sekundärlamellen, Reaktionszustand



Abb. 66: Kieme mit sich auflösenden Sekundärlamellen, Destruktionszustand

### 3.13.2 Glykogenanalysen

*Rault, Suchail (Universität Avignon)*

Da Stress bei Organismen in der Regel mit einer Abnahme oder sogar einem völligen Aufbrauchen von Energiereserven einhergeht, wurde in Testfischen der Gehalt an Glykogen als Kohlenhydratspeicher in der Leber bestimmt.

Das Lebergewebe wurde hierzu zunächst gewogen und auf Eis in 20 % (w/v) salzarmem Puffer bestehend aus 10 mM Tris-HCl, pH 7,3 und 10 mM NaCl sowie einem Proteasehemmer homogenisiert. Danach wurden die Proben bei 5000 g und 4 °C für 10 min. zentrifugiert. Der Überstand wurde bei –20 °C mit 10 % Glycerol bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

In den Proben wurde Glykogen mit Ethanol ausgefällt und mit einer Methode basierend auf enzymatischer Hydrolyse mittels Amyloglucosidase nach Parrou und François (1997) quantifiziert. Die Menge an Glucose, die aus dem Glykogen erzeugt wurde, wurde mit der Glucose RTU™ Methode bei 505 nm, angepasst an ein 96-well Mikroplattenformat, bestimmt.

### 3.13.3 Stressproteinanalysen

*Henneberg, Köhler, Peschke, Wilhelm, Triebskorn (Universität Tübingen)*

Zum Nachweis proteotoxischer Effekte in **Fischen** wurde das Stressprotein Hsp70 in Leber, Niere und Kieme bestimmt. Die Gewebe wurden bei der Beprobung vor Ort direkt in flüssigem Stickstoff eingefroren. Im Labor erfolgte die Homogenisation und Zentrifugation der Proben. Anschließend wurden konstante Mengen nicht membrangebundenen Proteins (Bestimmung nach Bradford (Bradford 1976)) über SDS-PAGE elektrophoretisch getrennt und in einem Semi-dry-Verfahren auf Nitrocellulose geblottet. Über ein immunologisches Verfahren konnten die Hsp70-Banden detektiert werden. Die Quantifikation des Signals erfolgte über die Bestimmung des „optischen Volumens“ (Intensität x Fläche) in Relation zu einem internen Hsp70-Standard. Diese Methodik ist bei einer Reihe von Fischarten etabliert (Eder et al. 2007; Köhler et al. 2001; Köhler et al. 2007; Scheil et al. 2010).

Zur Ermittlung des Stressproteinlevels bei **Flohkrebsen** wurden an jeder Probestelle 20 Gammariden-Paare im Präkopulastadium gesammelt. Hierdurch wurde sichergestellt, dass sich alle zu untersuchenden Individuen im gleichen Entwicklungsstadium befanden und sich dadurch nicht in ihrem entwicklungsbedingten Stressprotein-Grundlevel voneinander unterschieden. Vor Ort wurde jedes Individuum einzeln in flüssigem Stickstoff (-183 °C) schockgefroren. Zur quantitativen Bestimmung der Stressproteinlevel wurde nach der in

Peschke et al. (2014) beschriebenen Methode vorgegangen. Durch den Vergleich mit einem bei jedem Assay parallel analysierten Standard konnte der Hsp70-Gehalt der einzelnen Proben bestimmt werden.

### **3.13.4 Nachweis des Biotransformationsenzym CyP1A1**

*Maier, Wilhelm, Triebkorn (Universität Tübingen)*

An der Entgiftung bzw. Biotransformation zahlreicher organischer (Schad)stoffe ist bei Fischen das Enzym Cytochrom P4501A1 beteiligt. Dieses kann unter Chemikalienstress induziert und dadurch vermehrt nachgewiesen werden. Der Nachweis erfolgt über den EROD-Assay, in dem die Aktivität dieses Enzyms im Zusammenhang mit der Umsetzung des Substrats Ethoxyresorufin bestimmt wird.

Direkt nach der Präparation der Gewebeprobe wurde diese in eiskaltem Kaliumchlorid gespült und in flüssigem Stickstoff gefroren. Im Labor wurden die Proben homogenisiert, bei 9 000 RCF und 4 °C für 20 Minuten zentrifugiert und bis zur weiteren Bearbeitung bei -80 °C gelagert. Der Gehalt an Protein wurde nach Bradford (1976) bestimmt. Die Bestimmung der EROD-Aktivität erfolgte mit Hilfe einer fluorometrischen Messung nach Binelli et al. (2005), wobei für die Vergleichbarkeit der Proben ein Resorufin-Standard aufgetragen wurde. Anschließend wurde aus den erhaltenen Daten die Aktivität berechnet.

### **3.13.5 Nachweis gentoxischer Effekte mit dem Mikrokerntest**

*Maier, Wilhelm, Triebkorn (Universität Tübingen)*

Mittels Mikrokern-Test kann das gentoxische Potenzial von chemischen Substanzen oder Umweltproben ermittelt werden. Mikrokern sind DNA-Reste, die während der Zellteilung nicht in die Tochterzellen übertragen werden und deshalb im Zytoplasma der Mutterzelle zurückbleiben. Da rote Blutzellen von Fischen über Zellkerne verfügen, sind sie sehr gut für den Mikrokern-Test geeignet.

Das vor Ort entnommene Fischblut wurde auf einen Objektträger aufgetragen und sofort in Methanol fixiert. Im Labor wurden die Objektträger mit Giemsa gefärbt und unter dem Mikroskop ausgewertet, wobei pro Objektträger 2000 Erythrozyten ausgezählt wurden.



### **3.13.6 Nachweis neurotoxischer Wirkungen über Messungen der Acetylcholinesterase und Carboxylesterase**

*Rault, Suchail (Universität Avignon)*

Umweltproben, in denen bestimmte neuroaktive Stoffe, wie Pflanzenschutzmittel auf Carbamat- oder Phosphatesterbasis, enthalten sind, führen zu einer Hemmung von Cholinesterase bei exponierten Organismen. Die Aktivität dieses Enzyms wurde im Gehirn der Testfische nachgewiesen.

Hirnproben wurden gewogen und auf Eis in 20 % (w/v) salzarmem Puffer bestehend aus 10 mM Tris-HCl, pH 7,3 und 10 mM NaCl sowie einem Proteasehemmer homogenisiert und bei 5000 g und 4°C für 10 min. zentrifugiert. Der Überstand wurde bei -20 °C mit 10 % Glycerol bis zur weiteren Verarbeitung gelagert. Die Extrakte wurden für die Messung des Proteingehaltes, der Acetylcholinesterase (AChE) und der Carboxylesterase (CaE) verwendet.

Der Proteingehalt wurde nach der Lowry-Methode, modifiziert nach Markwell et al. (1978), mit bovinem Serumalbumin bestimmt. Die Aktivität der Acetylcholinesterase (AChE) wurde spektrophotometrisch bei 412 nm und 25°C nach Ellman et al. (1961), modifiziert nach Rault et al. (2008), gemessen. Die Aktivität der Carboxylesterase (CaE) wurde bei 405 nm und 25°C mit 4-Nitrophenyl-Acetat (4-NPA) als Substrat nachgewiesen (Chanda et al. 1997).

### **3.13.7 Vitellogenin-Nachweise**

*Henneberg, Wilhelm, Triebkorn (Universität Tübingen)*

Um den Einfluss östrogenartig wirkender Chemikalien auf Fische nachzuweisen, hat sich die Messung von Vitellogenin, einem Eidotter-Vorläuferprotein, das normalerweise in der Leber weiblicher Fische gebildet und von dort ins Blut abgegeben wird, als sensitiver Biomarker erwiesen. Eine Modulation des Vitellogeninlevels bei Weibchen, aber auch die Bildung des Proteins bei männlichen Fischen und in Fischlarven lässt sich als Biomarker für Östrogenität in einer Umweltprobe nutzen.

Den 1-jährigen Forellen wurde vor Ort Blut entnommen. Nach Zugabe des Trypsin-Inhibitors Aprotinin wurden die festen Blutbestandteile abzentrifugiert (4°C, 10 min, 2500 rpm). Der Überstand wurde in flüssigem Stickstoff schockgefroren und für die weiteren Analysen verwendet. Für die Vitellogeninanalysen an Forellenlarven wurde der Teil zwischen Kopf und Rückenflosse entnommen und ebenfalls in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Im Labor erfolgte die Homogenisation der Proben mit Extraktionspuffer (4fache Menge des

Probengewichts + 2 TIU Aprotinin) und einem anschließenden Zentrifugationsschritt (10 min, 4°C, 20000 x g). Der Überstand wurde für die weiteren Analysen verwendet.

Die Vitellogeninbestimmung erfolgte durch zwei spezifische ELISAs (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) der Firma Biosense aus Norwegen. Diese antikörperbasierten Nachweisverfahren nutzen einen Erst-Antikörper, der das nachzuweisende Antigen (Vitellogenin) bindet. Über einen Enzym-gekoppelten-Zweit-Antikörper, der an einer anderen Stelle (Epitop) an das Antigen bindet, wird enzymatisch ein Farbstoffsubstrat umgesetzt. Dieser Farbumschlag kann photometrisch bestimmt werden. Durch eine gleichzeitig aufgetragene Serie von bestimmten Vitellogeninkonzentrationen kann der Vitellogeningehalt in den untersuchten Proben auch quantitativ bestimmt werden.

Die Regenbogenforellenproben wurden mittels des quantitativen Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Vitellogenin ELISA Kit und die Bachforellenproben mittels des semi-quantitativen Vitellogenin Salmonid (Salmoniformes) biomarker ELISA Kit analysiert.

### **3.13.8 Gonadosomatischer Index und Gonadenhistologie**

*Maier (Universität Tübingen)*

Um mögliche Einflüsse auf die Gonadenreifung der Fische zu erfassen, wurde der gonadosomatische Index (GSI) bestimmt, der das Gonadengewicht zum Gesamtkörpergewicht des Fisches in Relation setzt.

Bei der Probenahme wurde der gesamte Fisch vor Organentnahme sowie die entnommenen Gonaden gewogen. Die Berechnung des GSI erfolgte mit folgender Formel:

$$(\text{Gonadengewicht} \times 100) / \text{Gesamtgewicht} = \text{GSI}$$

Die Gonaden für die Gonadenhistologie wurden wie die Leberproben behandelt. Die Bestimmung des Reifestadiums erfolgte in 3 Stufen. Stadium 1 stand für einen jungen Reifezustand und Stadium 3 für einen fortgeschrittenen Reifezustand (Abb. 67 und 68).

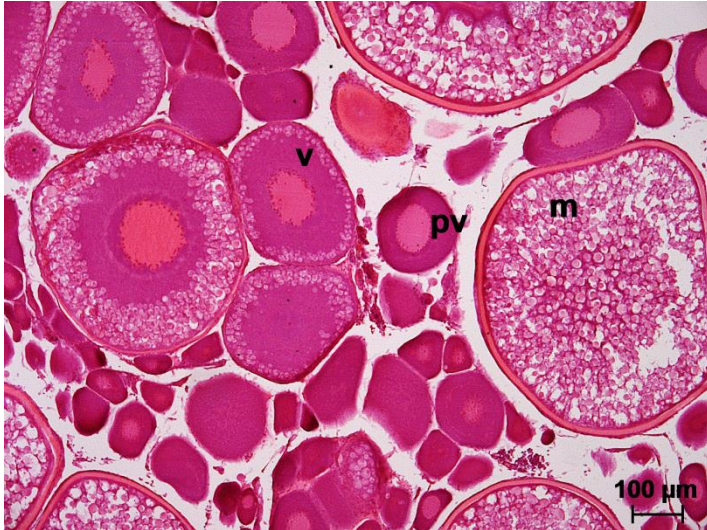


Abb. 67: Weibliche Gonade mit prävitellogenen (p), vitellogenen (v) und reifen (m) Oozyten

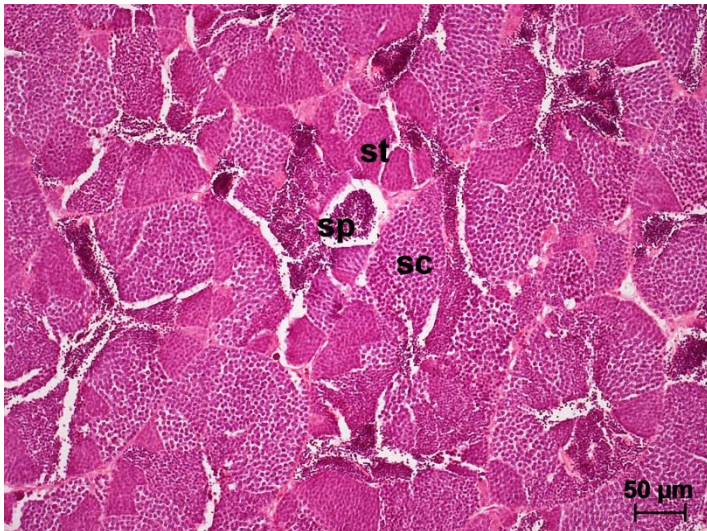


Abb. 68: Männliche Gonade mit Spermatozyten (sc), Spermatiden (st) und Spermien (sp)

### 3.14 Fischentwicklung im Freiland

*Henneberg, Wilhelm, Tribskorn (Universität Tübingen)*

Zur Bestimmung entwicklungstoxischer Effekte im Halbfreiland wurden Embryotests mit Bach- und Regenbogenforelleneiern in den Bypass-Systemen durchgeführt. Hierdurch konnte überprüft werden, ob die Aussagen zur Entwicklungstoxizität der Umweltproben, die man aus den Ergebnissen der Labortests mit dem Zebraäbrbling ableiten kann, für die Freilandsituation von Relevanz sind.

Der Test wurde in Anlehnung an den „*Fish Early-Life Stage Toxicity Test*“ nach OECD-Guideline 210 durchgeführt. Frisch befruchtete Eier wurden innerhalb von 4 Stunden nach

dem Abstreifen in die Expositionssiebe in den Aquarien der Bypass-Stationen an Argen bzw. Schussen und im Labor eingesetzt. Pro Becken wurden 300 Eier, aufgeteilt auf sechs Siebeinrichtungen, exponiert. Frisches, temperiertes ( $7\pm 1^\circ\text{C}$ ) Flusswasser wurde kontinuierlich durch die Aquarien der Bypässe geleitet, um optimale Bedingungen für die Eier zu gewährleisten. Im Labor wurden die Eier in aufbereitetem Leitungswasser bei ebenfalls gleichen Wassertemperaturen gehältert. Ein Versuch zur Bestimmung der Befruchtungsrate wurde zusätzlich mit 200 Eiern je Forellenart im Labor durchgeführt. Die Eier wurden alle 2-3 Tage kontrolliert und tote Eier/Tiere wurden sofort entfernt, um eine Ausbreitung von Pilzbefall/Krankheiten zu minimieren. Die beobachteten Endpunkte waren Mortalität, Augenpunktbildung, Schlupf und Herzschlagrate (eine Woche nach dem Schlupf).

### 3.15 Geschlechterverhältnis bei Gammariden

*Peschke, Tribskorn (Universität Tübingen)*

Unter dem Einfluss von  $17\alpha$ -Ethinylöstradiol kann sich das Geschlechterverhältnis in Flohkrebpopulationen zugunsten der Weibchen verschieben. Dies wurde im Laborexperiment von Watts et al. (2002) nachgewiesen. Die Bestimmung des Geschlechterverhältnisses ist aus diesem Grunde eine geeignete Methode, um mögliche östrogene Potentiale in der Umwelt nachzuweisen (Peschke et al. 2014; Tribskorn et al. 2013a; Tribskorn et al. 2013b). Jedoch kann das Geschlechterverhältnis in Gammaridenpopulationen auch in eher unbelasteten Flüssen von einer 1:1 Verteilung der Männchen zu Weibchen abweichen. Untersuchungen von Ladewig et al. (2006) zeigten, dass das Verhältnis von Männchen zu Weibchen bei Gammariden in einem geringfügig belasteten Fluss 1:1,5 betrug. Eine signifikante Abweichung von diesem Verhältnis kann auf hormonelle Einflüsse in der Umwelt hinweisen.

Zur Bestimmung des Geschlechterverhältnisses wurden an jeder Probestelle 100 Gammariden randomisiert gesammelt, in 2 % Glutardialdehyd (gelöst in 0,005 M Cacodylatpuffer, pH 7,4) fixiert und bis zur weiteren Verwendung gekühlt aufbewahrt. Im Labor wurden nach der Vermessung der einzelnen Individuen die Art und das Geschlecht bestimmt. Anschließend wurde das Verhältnis zwischen Männchen und Weibchen ermittelt. Männchen sind an zwei Penisapillen am siebten Peraeon-Segment erkennbar. Weibliche Flohkrebse weisen am ersten bis vierten Peraeon-Segment vier Paar Brutlamellen (Oostegite) auf (Abb. 69). Intersex-Individuen sind durch das Auftreten beider äußerer Geschlechtsmerkmale bestimmbar. Erst nach etwa 9-10 Häutungen (bei einer Körperlänge zwischen 6 und 9 mm) erreichen die Gammariden ihre Geschlechtsreife (Pockl 1993). Davor

können die Flohkrebse nur als juvenil bestimmt werden, da die äußeren Geschlechtsorgane für eine Geschlechtsbestimmung noch nicht ausgeprägt sind.

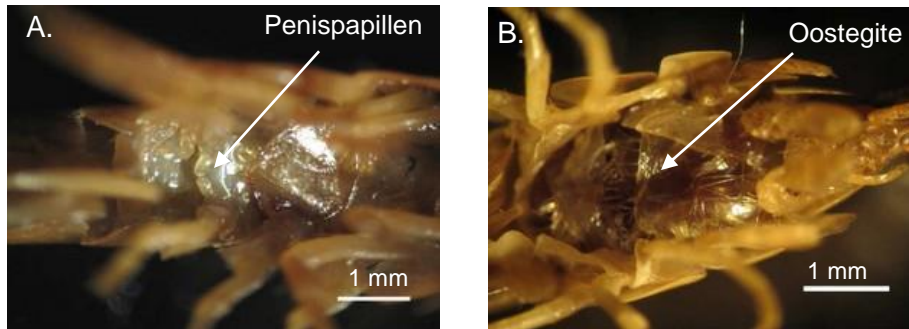


Abb. 69: Äußere Geschlechtsmerkmale von *Gammarus pulex*. A: Männchen mit Penispapillen. B: Weibchen mit Oostegiten (Brutlamellen)

### 3.16 Fekunditätsindex bei Gammariden

*Peschke, Triebskorn (Universität Tübingen)*

Auch der Fekunditätsindex kann Hinweise auf hormonelle Einflüsse geben, wenn z. B. vermehrt Nachkommen produziert werden. Er kann allerdings auch auf generell toxische Substanzen in der Umwelt hinweisen, wenn die Nachkommenzahl drastisch sinkt.

Zur Bestimmung der Fekundität wurden an jeder Probestelle 20 brütende Weibchen dem Gewässer entnommen und einzeln in 2 % Glutardialdehyd (gelöst in 0,005 M Cacodylatpuffer, pH 7,4) fixiert. Im Labor wurde die Länge und Art eines jeden Weibchens ermittelt. Als Maß für die Fekundität wurde die Anzahl der im Brutraum (Marsupium) eines brütenden Weibchens vorhandenen Eier und/oder Jungtiere verwendet. Unter einem Stereomikroskop wurde das Marsupium der brütenden Weibchen vorsichtig mit einer Federstahlpinzette geöffnet. Eier und Jungtiere wurden herauspräpariert und gezählt. Anschließend wurde der Fekunditätsindex (FI) berechnet (FI = Anzahl Eier bzw. Juvenile / Körperlänge des jeweiligen Weibchens).

### 3.17 Effekte in der Biozönose

*Wurm (Gewässerökologisches Labor Starzach)*

Um die Auswirkungen der Spurenstoffelimination durch die Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese auf die Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos<sup>1</sup> (im Folgenden mit MZB abgekürzt) zu untersuchen, wurden vier Aufnahmen vor Inbetriebnahme der PAK-Stufe und sechs Aufnahmen danach durchgeführt. Als Referenzstelle in der Schussen dient auch hier die Stelle PS 0, unterhalb von Weissenau. Als Referenzgewässer wurde die Untere Argen an der Probestelle PS 4 parallel zur Schussen mit untersucht. Die Lage der fünf Untersuchungsstellen ist in Abb. 4 in Kapitel 3.2 dargestellt.

#### Charakterisierung der Untersuchungsstellen

Die Lage der Untersuchungsstellen wurde nach dem Aspekt der größtmöglichen Übereinstimmung bei den morphologischen Parametern (Substratzusammensetzung, Strömungsdiversität, u. a. m.) festgelegt.

Die Referenzstelle PS 0 und die Untersuchungsstelle PS 1 wiesen dabei die größte Übereinstimmung bei den abiotischen Parametern auf. Aufgrund der hohen Eigendynamik der Schussen hatte sich in diesem Fließabschnitt eine hohe Substrat- und Strömungsdiversität ausgebildet (s. Abb. 70 und 71).

Im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 zeichnete sich die Schussen zu Beginn der Untersuchungen noch durch eine geringere Strukturdiversität aus (s. Abb. 72). Im Laufe der biologischen Aufnahmen - ab den Jahren 2013/14 - kam es aber auch hier aufgrund der Erosion am linken, unbefestigten Ufer zu einer leichten Verbreiterung des Flussbettes, worauf sich rechtsufrig eine Kiesanlandung bilden konnte, was wiederum zu einer deutlichen Erhöhung der Strömungs- und Substratdiversität führte (s. Abb. 73).

An der Untersuchungsstelle PS 3 liegen naturnahe Substrat- und Strömungsverhältnisse vor (s. Abb. 74). Im Gegensatz zu den drei oberstromigen Untersuchungsstellen PS 0 bis PS 2 weist PS 3 einen höheren Anteil größerer, stabil gelagerter Gerölle und damit bessere Besiedlungsbedingungen für das Makrozoobenthos auf.

---

<sup>1</sup> Das Makrozoobenthos beinhaltet alle aquatischen Lebewesen mit einer Größe über 1 mm, die in und auf der Gewässersohle leben - mit Ausnahme der Fische. Hierzu zählen Stein-, Eintags- und Köcherfliegenlarven, Krebse, Würmer, Käfer, Egel etc.

Die Untere Argen weist im Bereich der Untersuchungsstelle PS 4 voralpinen Fließcharakter mit einem Wechsel von Stillen und Schnellen mit hoher Substratdiversität von Sand bis zu kopfgroßen Geröllen auf. (Abb. 75).



Abb. 70: Die Schussen im Bereich der Referenzstelle PS 0 (Aufnahme: 11.06.2015)



Abb. 71: Die Schussen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 1, unterhalb des RÜB Mariatal (Aufnahme: 8.10.2016)



Abb. 72: Die Schussen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2, unterhalb der KA Langwiese, zu Beginn der Untersuchungen im Jahr 2012 mit einem monoton ausgebauten Gewässerbett



Abb. 73: Die Schussen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 am Ende der Untersuchungen im Jahr 2016 mit einem wesentlich strukturreicheren Gewässerbett (Aufnahme: 8.10.2016)



Abb. 74: Die Schussen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 3 bei Oberbaumgarten (Aufnahme am 6.10.2012)





Abb. 75: Die Untere Argen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 4, unterhalb der Neumühle (Aufnahme am 5.10.2016). Die Argen weist noch einen stärkeren „Wildflusscharakter“ auf im Vergleich zur Schussen

### **Untersuchungsmethodik**

Die Untersuchung des Makrozoobenthos erfolgte gemäß der Methodik der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL). Die quantitative Aufnahme des Makrozoobenthos wurde flächen- und substratbezogen nach den Vorgaben des Multi-Habitat-Sampling-Verfahrens (Aquem-Star) durchgeführt - incl. Anlage einer Belegsammlung. Bei diesem Verfahren werden 20 Teilproben (à 25 x 25 cm) paritätisch zu den vorhandenen Substraten mit Hilfe eines Surber-Samplers (500 µm Maschenweite) (ISO 8265) entnommen und zu einer Gesamtprobe vereinigt (=1,25 m<sup>2</sup>). Voraussetzung hierfür ist eine Kartierung der verschiedenen Substrate in 5 %-Stufen. Es wurde die Lebendsortierung angewendet.

Die Auswertung des biologischen Befundes und die Ermittlung der Gewässergüte sowie weiterer ökologischer und statistischer Indices erfolgte nach dem Bewertungssystem Perlores mit der Software ASTERICS (AQEM/STAR Ecological River Classification System 4.04) (s. <http://www.fliess-gewaesserbewertung.de>).

Von jeder Probestelle wurde eine repräsentative Anzahl aus den verschiedenen Organismengruppen zur Nachbestimmung im Labor in 80 %igem Ethanol fixiert und anschließend in die Belegsammlung überführt.

Zusätzlich wurden Adultfänge mittels Kescherung der Ufervegetation und Lichtfallenfängen durchgeführt, um das maximal mögliche Arteninventar der Schussen und Argen zu erfassen und um larval schwierig zu bestimmende Taxa determinieren zu können.

Der jeweilige Beprobungszeitpunkt wurde maßgeblich durch den Abflussverlauf der Schussen in den einzelnen Jahren bestimmt. Oberhalb der Mittelwasserführung (MQ) von 9

m<sup>3</sup>/s am Pegel Ravensburg ist keine sinnvolle biologische Untersuchung in der Schussen möglich.

### **3.18 Zusammenfassende statistische Datenauswertung**

*Schwarz, Köhler, Seifan, Tribskorn (Universität Tübingen)*

Die multivariate Datenauswertung erfolgte mit Hilfe des Programms Canoco 4.5. Als erster Schritt wurden mit Hilfe einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) vorhandene Korrelationen zwischen den erfassten Endpunkten identifiziert. Der Datensatz wurde darauf basierend soweit eingeschränkt, dass nur möglichst geringe Korrelationen zwischen den in das zweite Modell eingespeisten Variablen vorhanden waren. Als zweiter Schritt wurde eine Redundanzanalyse (RDA) durchgeführt, um die gemessenen Endpunkte mit Umweltvariablen in Beziehung zu setzen. Als Umweltvariablen wurden für die Anlagen die unterschiedlichen Reinigungsstufen, sowie das Jahr der Probenahme eingesetzt. Im Freiland wurde neben Jahr und Probestelle auch der Wasserstand als potentiell wichtiger Einflussfaktor eingeschlossen. Falls erforderlich, wurde das Modell um spezifische Reinigungsstufen bzw. Probestellen reduziert, um genauere Details zwischen den verbliebenen Parametern herauszuarbeiten. Die Analyse von Spurenstoffen an der Anlage Langwiese und im Freiland wurde schon anfänglich auf die Palette an Stoffen eingeschränkt, die auch in den Jahren 2015 und 2016 gemessen wurden – Stoffe, die in der Regel unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen, wurden ebenfalls nicht mit einbezogen.

## 4 RESULTATE UND DISKUSSIONEN

### I. TECHNOLOGIEBEWERTUNG

#### 4.1 Ingenieurtechnische Begleituntersuchungen und zusammenfassende Auswertungen

Jedele, Müller (Jedele & Partner, Stuttgart)

##### 4.1.1 Testsystem 1 - Kläranlage Langwiese

###### Betriebsdaten

Nach dem zügigen Anstieg des Feststoffgehalts (TS) bis Ende 2013 wurde in 2014 im Mittel ein PAK-Gehalt im Reaktionsbecken von ca. 3,3 g/L erreicht (Abb. 76). Die Abwassermenge lag im Mittel bei ca. 40.000 m<sup>3</sup>/d. Die PAK-Kreislaufmenge bewegte sich bei ca. 50 % und erreichte ca. 20.000 m<sup>3</sup>/d.

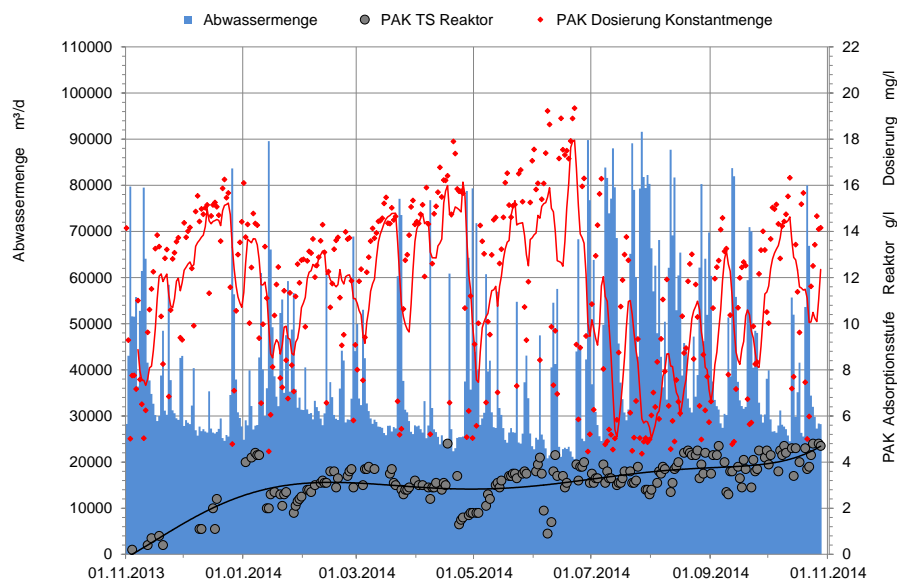


Abb. 76: Betriebsdaten PAK-Stufe / Menge, TS, Konzentration

Bezogen auf die zulaufende Abwassermenge ergibt sich in den Reaktionsbecken bei einem Volumen von  $3 \times 1.250 = 3.750 \text{ m}^3$  eine mittlere Kontaktzeit des Abwassers mit der Aktivkohle von etwas mehr als 2 h. Aus der insgesamt zugegebenen PAK-Menge errechnet sich eine mittlere PAK-Dosierung von ca. 11,5 mg/L.

### Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der CSB ist als Summenparameter ein Maß für die organische Belastung des Abwassers. Organische Stoffe werden an PAK adsorbiert und somit dem Abwasserstrom entzogen. Nachfolgend ist der CSB im Ablauf des Nachklärbeckens (NKB) sowie im Ablauf des Flockungsfilters vor und nach Inbetriebnahme der PAK-Anlage dargestellt (Abb.77).

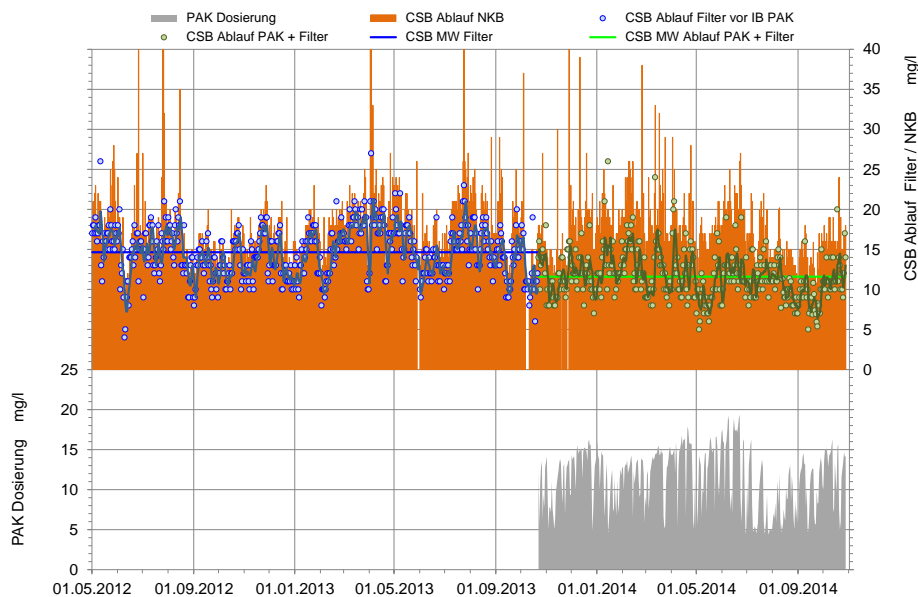


Abb. 77: CSB vor und nach Inbetriebnahme der PAK-Anlage

Nach der Inbetriebnahme der PAK-Stufe wurde der CSB im Ablauf des Filters im Mittel von 14,7 mg/L auf 11,6 mg/L verringert. Damit wurde der Rest-CSB im Anlagenablauf durch die adsorptive Wirkung der Pulverkohle (Dosierung 11,5 mg/L) um ca. 21 % vermindert.

### Spektraler Absorptionskoeffizient ( $SAK_{254}$ )

Der  $SAK_{254}$  erfasst ebenfalls im Abwasser enthaltene gelöste organische Stoffe und wird somit durch PAK beeinflusst. Abb. 78 zeigt den  $SAK_{254}$  im Ablauf des Nachklärbeckens (NKB) sowie im Ablauf des Flockungsfilters während des Betriebs der PAK-Anlage.

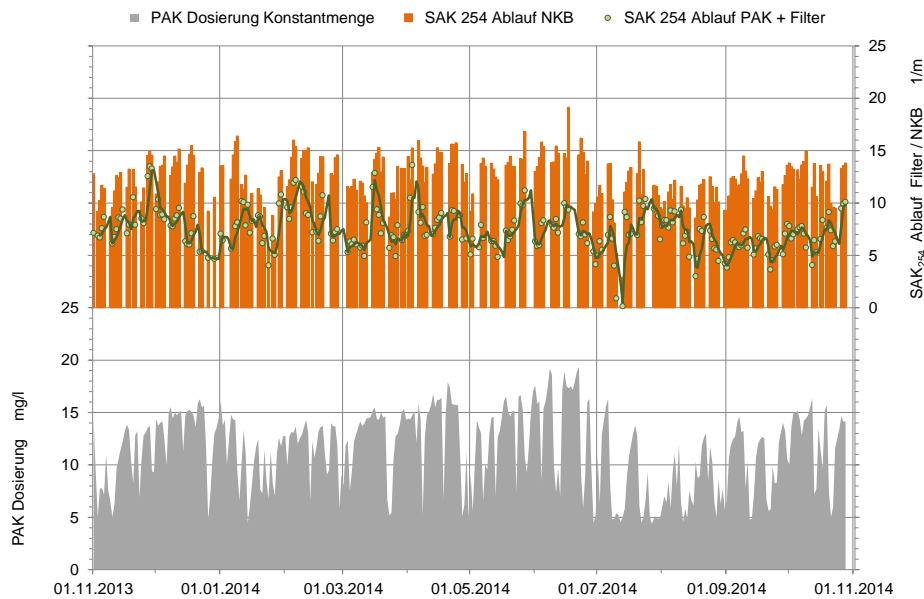


Abb. 78: PAK Dosierung und SAK<sub>254</sub> unter Betriebsbedingungen

Unter den gegebenen Betriebsbedingungen wurde der SAK<sub>254</sub> von 12,5 m<sup>-1</sup> im Ablauf des Nachklärbeckens (= Zulauf PAK-Anlage) in der PAK Stufe (Ablauf Filter) bei einer mittleren Dosierung von 11,5 mg/L auf 7,5 m<sup>-1</sup> verringert, was einer Reduzierung von ca. 40 % entspricht.

## Spurenstoffe

Die nachfolgenden Resultate basieren auf den Messergebnissen des TZW (Technologiezentrum Wasser des DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.), die im Rahmen der Probenahme für die Haupt- und Begleitanalytik durchgeführt wurden. In Abb. 79 ist die Entnahmewirkung exemplarisch dargestellt.

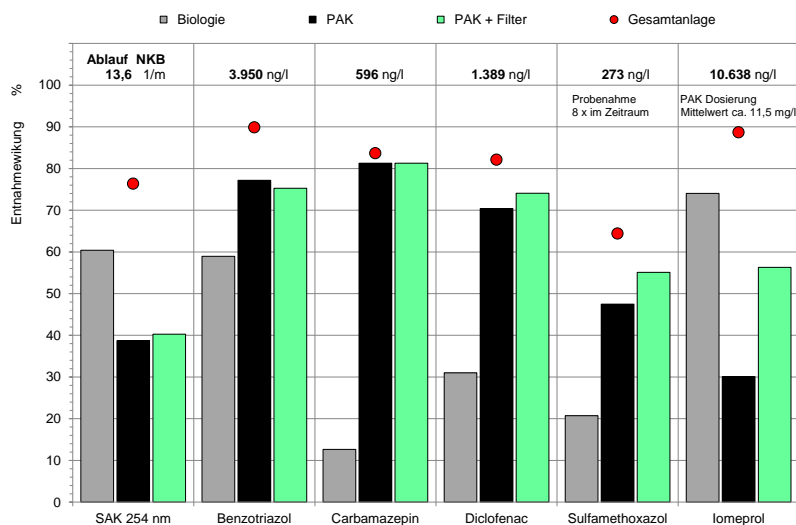


Abb. 79: Entnahmewirkung Spurenstoffe / Biologie und PAK Stufe

Die aufgeführten Spurenstoffe werden in der Biologie und auch in der Adsorptionsstufe unterschiedlich stark vermindert. Die Entnahme schwankt in der Biologie zwischen ca. 13 % und ca. 74 %. Durch die Adsorption und Filtration werden zusätzlich nochmals zwischen ca. 55 % und ca. 81 % entnommen, sodass mit einer Ausnahme in der gesamten Kläranlage Entnahmewirkungen im Bereich über 80 % möglich sind. Der SAK<sub>254</sub> nahm durch die biologische Behandlung um ca. 60 % ab und um weitere 40 % in der PAK Stufe, was in der Summe eine Entnahme von 76 % zwischen Ablauf Vorklärung und Ablauf Filter ergibt.

## Keime

Das Abwasser enthält eine Vielzahl von Keimen, darunter sind auch diverse pathogener Art. Im Gewässer und auch im Trinkwasser werden als Indikator für fäkale Verunreinigungen Keime der Gattung *Escherichia coli* (*E. coli*) untersucht. Sie können zur Bewertung der Reinigungswirkung kommunaler Kläranlagen verwendet werden.

Im Ablauf der Vorklärung (= Zulauf Biologie) sind *E. coli* im Umfang von ca. 3 Mio./100 mL enthalten, im Ablauf der Nachklärung um 120.000/100 mL und nach dem Flockungsfilter noch ca. 6.500/100 mL.

Nach der Inbetriebnahme der PAK Stufe verringerte sich die *E. coli*-Zahl im Ablauf des Flockungsfilters auf unter 3.500/100 mL.

Durch den Einsatz der Pulverkohle sowie deren Fällung und Flockung mit Abscheidung der Feststoffe im Sedimentationsbecken wurde in Kombination mit der nachfolgenden Filtration im Vergleich zur alleinigen Filtration der Anlagenablauf mit Blick auf die *E. coli*-Zahl somit um über 50 % verbessert.

## Zusammenfassung

In der Kläranlage Langwiese des AZV Mariatal wurde die Entnahmewirkung von pulverisierter Aktivkohle (PAK) unter realen Bedingungen im kommunalen Abwasser untersucht. Die Abwasserreinigung erfolgt mechanisch, biologisch und chemisch. Die PAK Anlage wurde zwischen der Nachklärung und der vorhandenen Flockungsfilterstufe angeordnet.

Im Jahresmittel werden in der Kläranlage ca. 40.000 m<sup>3</sup>/d Abwasser behandelt. Der maximale Zufluss beträgt bei Regenereignissen 1.100 L/s. Dieser Abfluss wird auch durch die PAK Stufe geleitet. Es handelt sich damit um ein Vollstromverfahren.

Während der Untersuchungen wurden durchschnittlich 11,5 mg/L Pulverkohle dem aus der Nachklärung ablaufenden Abwasser zugegeben. Bei dieser Dosierung konnte der CSB im

Ablauf der Nachklärung durch die PAK Anlage einschließlich der Flockungsfiltration um nahezu 6 mg/L oder ca. 35 % vermindert werden und der  $SAK_{254}$  um ca.  $5 \text{ m}^{-1}$  oder ca. 40 %. Bei den exemplarisch ausgewählten Spurenstoffen ergaben sich Entnahmewirkungen zwischen 60 % und 80 %.

Im Vergleich zu der *E. coli*-Belastung im Ablauf des Flockungsfilters ohne PAK Anlage wurde nach deren Inbetriebnahme die bereits geringe Keimbelastung bei *E. coli* nochmals um über 50 % verringert.

## 4.1.2 Testsystem 2 - Kläranlage Eriskirch

### Anlagenbetrieb

Die Versuchsanlage wurde während der gesamten Laufzeit des Vorhabens kontinuierlich und hydraulisch konstant beaufschlagt. Daraus ergeben sich immer gleichbleibende Verweilzeiten und Filtergeschwindigkeiten. Während der gesamten Versuchszeit wurden in der Versuchsanlage ca. 27.000 m<sup>3</sup> Abwasser behandelt.

Die Ozonanlage wurde mit einer konstanten Ozonerzeugung von 6 g O<sub>3</sub>/h betrieben. Hieraus errechnet sich ein Ozongehalt von ca. 4,3 mg/L. Bei einer CSB Konzentration von 21 mg/L im Ablauf der Nachklärung (85 % Wert) errechnet sich dafür eine spezifische Dosierung von 0,2 g O<sub>3</sub>/g CSB. Wird der DOC mit 7 mg/L angenommen, ergibt sich, bezogen auf diesen Wert, eine spezifische Zugabe von 0,6 g O<sub>3</sub>/g DOC. Je nach vorliegender Konzentration im Ablauf der Nachklärung sind geringere oder höhere Werte zu verzeichnen. Wird ein Bereich von einer Standardabweichung ( $s_x = 5 \text{ mg/L}$ ) berücksichtigt, schwanken die spezifischen Dosiermengen zwischen 80 % und 130 % des angegebenen Wertes (0,16 – 0,26 g O<sub>3</sub>/g CSB oder 0,48 – 0,78 g O<sub>3</sub>/g DOC). Die Verweilzeit in dem 500 L großen Reaktionsbehälter der Ozonanlage betrug bei einer mit ca. 1,4 m<sup>3</sup>/h konstanten Beschickung ca. 20 Minuten.

Alle Filter wurden durchgehend mit ca. 0,7 m<sup>3</sup>/h beaufschlagt und wiesen dadurch eine konstante Filtergeschwindigkeit von 10 m/h auf. Über die gesamte Laufzeit der Untersuchungen waren der Zweischichtfilter und ein GAK-Filter in Betrieb. Bei Adsorptionsfiltern wird als Vergleichsgröße die durchgesetzte Menge in m<sup>3</sup> Abwasser je m<sup>3</sup> Filterbett verwendet, das sogenannte Bettvolumen (BV). Aus der Betriebszeit errechnet sich dieser Wert für den GAK-Filter, der immer ohne Vorfiltration betrieben wurde, zu ca. 60.000 BV.

Der nach Versuchsumstellung neu befüllte GAK-Filter, der direkt den Ablauf der Nachklärung erhalten hat, ohne dass eine Ozonzugabe erfolgte, wies insgesamt eine Laufzeit auf, die in der Summe ca. 30.000 BV ergab.

## Spezifische Ozondosierung

In dem Diagramm (Abb. 80) ist dargestellt, wie sich die spezifische Dosierung in Abhängigkeit der Eingangsbedingungen verändert. Mit zunehmender organischer Belastung des Abwassers verringert sich bei einer konstanten Ozonkonzentration im Abwasser die spezifische Zugabe. Durch eine Veränderung der Ozonkonzentration kann der spezifische Wert beeinflusst werden. In der Versuchsanlage war keine automatische Anpassung der Dosierung an die Abwasserbeschaffenheit möglich. Ozon wurde konstant dosiert.

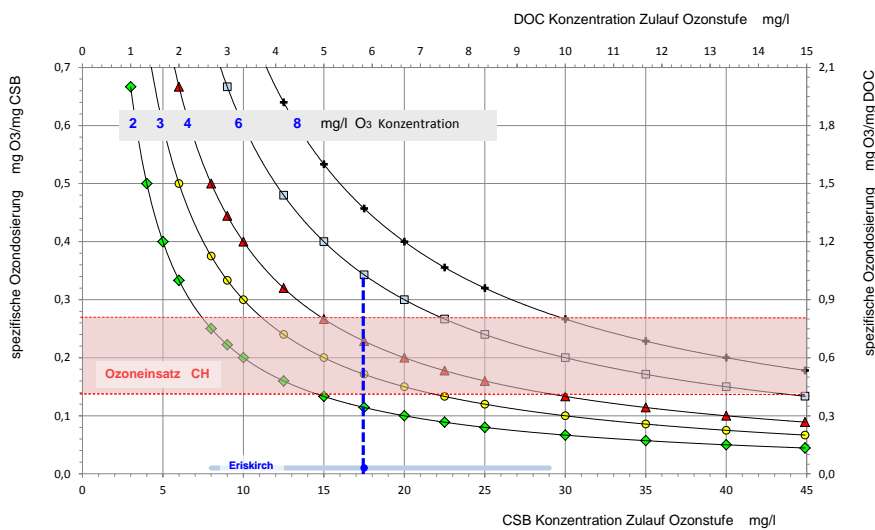


Abb. 80: Spezifische Ozondosierung in Abhängigkeit der Eingangsbedingungen Ozonkonzentration, CSB und DOC im Abwasser

Bei dem im Ablauf der Nachklärung relevanten CSB von im Mittel 17,5 mg/L ergeben sich bei einer Ozonkonzentration von 4 mg/L spezifische Werte, die innerhalb des in der Schweiz als relevant erachteten Anwendungsbereiches liegen.

## Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der CSB ist als Summenparameter ein Maß für die organische Belastung des Abwassers. Organische Stoffe werden durch Ozon zerstört bzw. an GAK adsorbiert und somit dem Abwasserstrom entzogen. Nachfolgend sind die mittleren CSB-Entnahmewirkungen in Bezug auf den Ablauf des Nachklärbeckens (NKB) angegeben (Abb. 81).



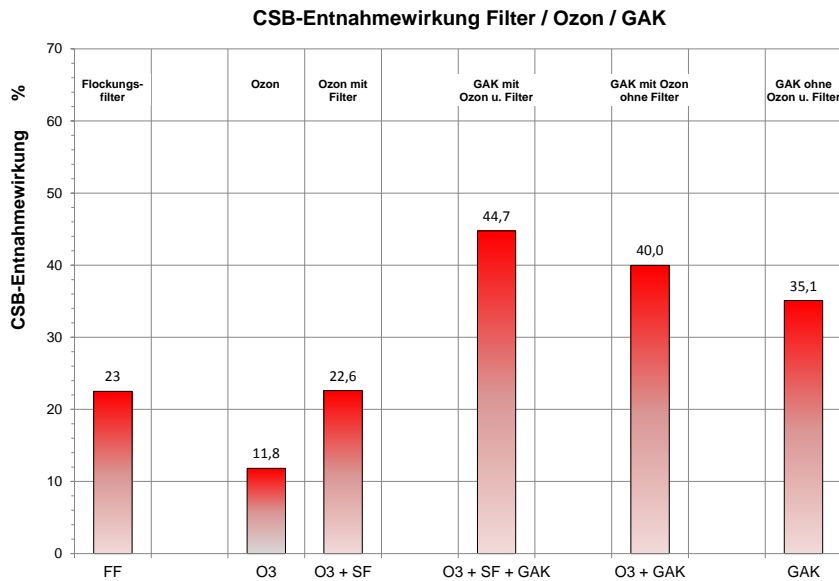


Abb. 81: CSB-Entnahme - Vergleich Verfahrensvarianten

Der CSB im Ablauf der Nachklärung kann durch eine oxidative und adsorptive Behandlung einschließlich der Filterwirkung um ca. 40 % bis ca. 45 % verringert werden. Ohne den Einsatz von Ozon sind adsorptiv bis zu ca. 35 % möglich. Wird nur Ozon eingesetzt und danach filtriert, ist die Entnahmewirkung mit ca. 23 % nicht größer, als in der Flockungsfiltration in der großtechnischen Anlage. Ein Hinweis darauf, dass durch die Fällung und Flockung in Verbindung mit dem biologisch aktiven Filter eine gute Nachreinigung erreichbar ist. Möglich wäre indes auch, dass die Oxidation partikulär vorliegende Belastungen verändert.

### Spektraler Absorptionskoeffizient $SAK_{254}$

Der  $SAK_{254}$  erfasst ebenfalls im Abwasser enthaltene gelöste organische Stoffe. Die Abb. 82 zeigt den Verlauf des  $SAK_{254}$  an den verschiedenen Probenahmestellen.

Die Hüllkurve entspricht dem  $SAK_{254}$ -Wert im Ablauf der Nachklärung. Die in der hellroten Fläche zum Ausdruck kommende Verminderung wird durch Ozon erreicht. Der schwarze Bereich beruht auf der Wirkung der noch nachgeschalteten granulierten Aktivkohle. Die verbleibende hellblaue Fläche dokumentiert die verbleibende Restbelastung. Die rot eingetragenen  $SAK_{254}$ -Werte sind im Ablauf des GAK-Filters erreicht worden, der ohne Ozonzugabe direkt mit dem Ablauf der Nachklärung beaufschlagt wurde. Erkennbar ist, dass beide GAK-Filter sukzessive schlechter werden, wobei der GAK-Filter nach Ozonzugabe am Ende des Betrachtungszeitraumes mit ca. 45.000 BV nahezu doppelt so viele Bettvolumina aufweist.

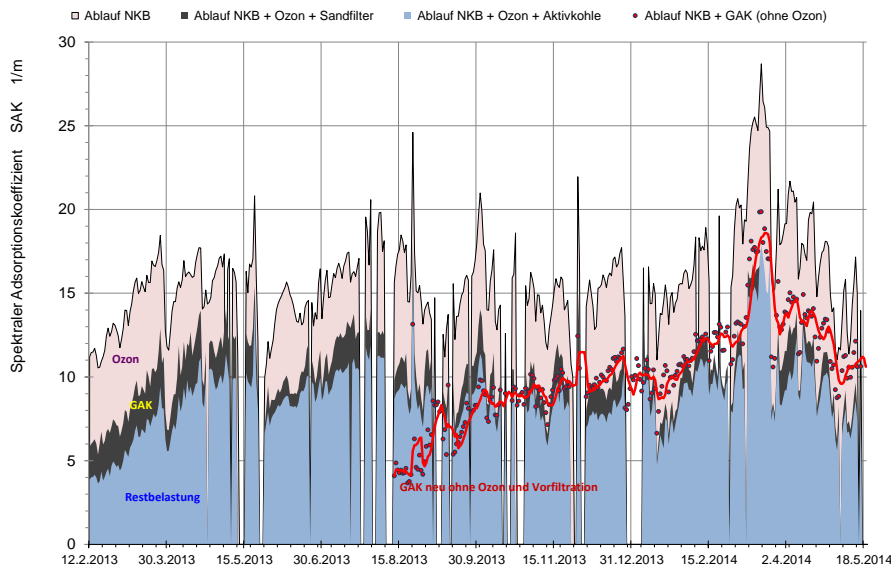


Abb. 82: Online Messung  $SAK_{254}$  / Versuchsanlage Eriskirch

In der Abb. 83 sind die mittleren  $SAK_{254}$ -Entnahmewirkungen in Bezug auf den im Ablauf des Nachklärbeckens (NKB) ermittelten Wert aufgetragen. Erkennbar ist, dass die Wirkung des Ozons sich in einem Bereich zwischen 30 % und 40 % stabilisiert. Der Abstand zwischen den lila und blau gezeichneten Ausgleichskurven entspricht der zusätzlichen Wirkung des nachgeschalteten GAK-Filters. Dessen Wirkung nimmt mit zunehmender Laufzeit ab, ist aber am Ende des Betrachtungszeitraumes immer noch deutlich vorhanden.

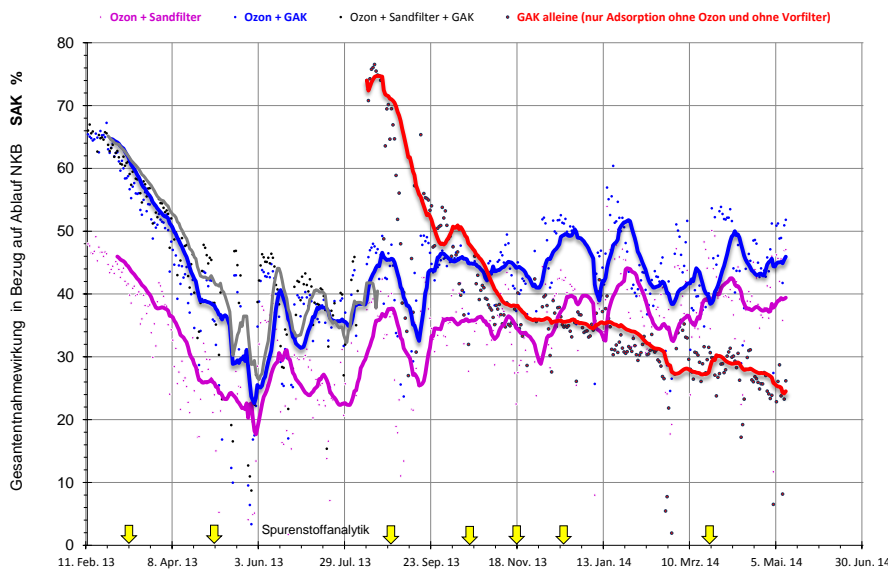


Abb. 83:  $SAK_{254}$ -Entnahmewirkung / Verfahrensvarianten

Im Vergleich dazu ist bei dem direkt mit dem Ablauf der Nachklärung beschickten GAK-Filter eine hohe Anfangswirkung feststellbar. Diese nimmt danach sehr schnell ab und nähert sich nach ca. einem Jahr einem Bereich zwischen 20 % und 30 %. Im weiteren Verlauf des Versuchsbetriebs näherte sich die SAK<sub>254</sub>-Entnahmewirkung asymptotisch im Oktober der 20 % Marke. Die kombinierte Anwendung von Ozon und GAK hielt das Niveau zwischen 30 % und 40 % auch weiterhin. Der Anteil des GAK-Filters veränderte sich dabei nicht.

## Spurenstoffe

Aus der Spurenstoffanalytik sind nachfolgend exemplarisch fünf Stoffe und der zugehörige im Labor ermittelte SAK<sub>254</sub> angegeben (Abb. 84). Die Entnahmewirkung der biologischen Stufe ist mit aufgeführt. Bezugspunkt für die Entnahmewirkung der nachgeschalteten Verfahren ist der Ablauf der Nachklärung. Die dort gemessenen mittleren Konzentrationen sind eingetragen.

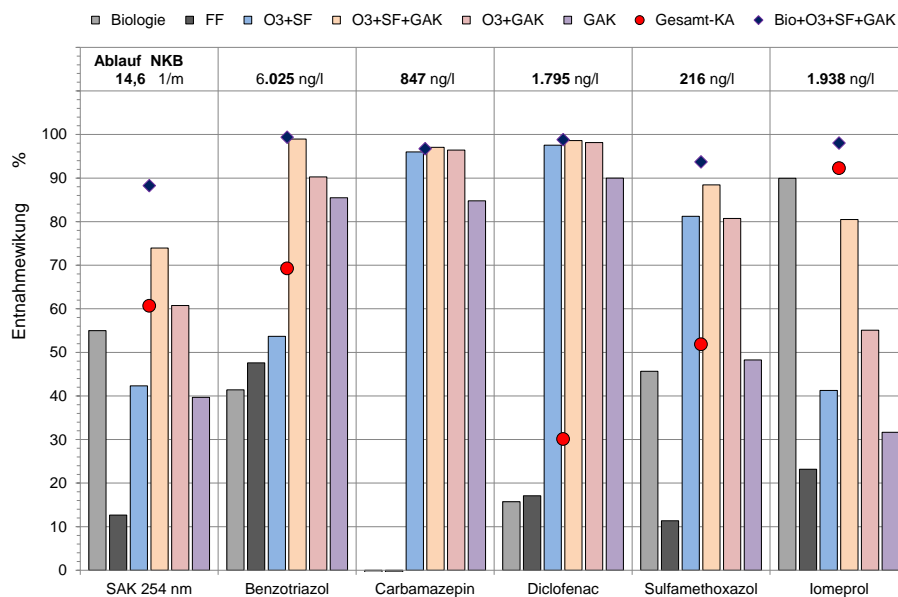


Abb. 84: Entnahmewirkung Spurenstoffe / Verfahrenskombination

Die ausgewählten Spurenstoffe werden in der vorhandenen Biologie, in der nachgeschalteten Flockungsfilterstufe wie auch durch die betrachteten Verfahren der vierten Stufe unterschiedlich stark vermindert. In der vierten Stufe sind Entnahmen von über 80 % möglich und über 90 % in Bezug auf den Ablauf der Vorklärung. Die Wirkung der vierten Stufe kommt in besonderer Weise bei Carbamazepin und Diclofenac zur Geltung.

## Keime

Das Abwasser enthält eine Vielzahl von Keimen, darunter sind auch diverse pathogene. Im Gewässer und auch im Trinkwasser werden als Indikator für fäkale Verunreinigungen Keime der Gattung *Escherichia coli* (*E. coli*) untersucht. Sie können zur Bewertung der Wirkung kommunaler Kläranlagen verwendet werden.

Im Zulauf zur Biologie (Abl. VKB) der kommunalen Kläranlage sind *E. coli* im Umfang von ca. 3 Millionen/100 mL enthalten (Abb. 85). Im Ablauf der Nachklärung (Abl. NKB) sind es noch etwa 100.000/100 mL und im Ablauf eines Flockungsfilters (FF) noch ca. 10.000/100 mL. Der Flockungsfiler vermindert demnach die Keimzahl noch um eine Zehnerpotenz oder ca. 90 %.

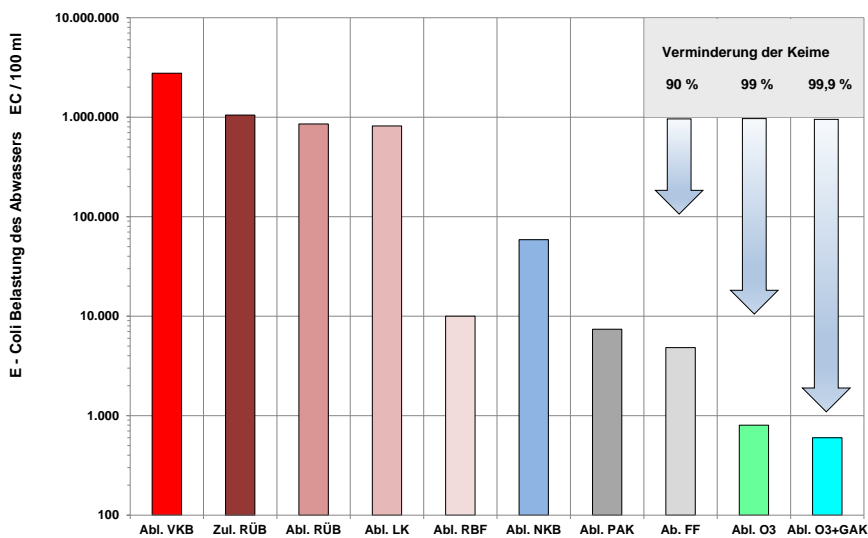


Abb. 85: Entnahmewirkung Keime / Verfahrenskombination

Durch Ozon könnte die Keimzahl um nochmals über 90 % auf < 1.000 / 100 mL und damit auf nahezu Badewasserqualität verringert werden. Vergleichbare Verminderungen sind mit Aktivkohle wegen der fehlenden desinfizierenden Wirkung nicht erreichbar.

## Zusammenfassung

In der Kläranlage Eriskirch des Abwasserverbandes Unteres Schussental wurde im halbtechnischen Maßstab untersucht, welche Entnahmewirkung bezüglich der Spurenstoffe in einer vierten Reinigungsstufe erreichbar ist. Parallel dazu ist auch deren Wirkung auf die Keime betrachtet worden. Untersucht wurden die Technologien der Oxidation und der Adsorption sowie auch die Kombination beider Verfahren.

Die Oxidation erfolgte durch Zugabe von durchschnittlich 0,2 g O<sub>3</sub>/g CSB, das gasförmig in das Abwasser eingetragen wurde und ca. zwanzig Minuten einwirken konnte. Der Ozonstufe folgt ein biologisch aktiver Filter, damit entstehende biologisch abbaubare Stoffe in diesem entfernt werden können. Der Filter kann als klassischer abwärts durchströmter Zweischichtfilter mit einer Hydroanthrazitschicht über Quarzsand ausgeführt werden, wie er in Eriskirch bereits vorhanden ist.

Die Alternative wäre ein Filter, dessen Füllung aus granulierter Aktivkohle (GAK) besteht. Die Aktivkohle kann Spurenstoffe adsorbieren und ist als Filtereinheit auch biologisch aktiv. Die hydraulische Belastung der Einheit wurde mit 10 m/h gewählt. Sie entspricht der Belastung, die im Regenwetterfall auch bei den vorhandenen Flockungsfilteranlagen im Bodensee-Einzugsgebiet anzutreffen ist.

Die Versuche haben gezeigt, dass im kommunalen Abwasser enthaltene Spurenstoffe mit der Kombination aus Oxidation und Adsorption sehr gut entfernt werden können und in dieser vierten Behandlungsstufe Entnahmewirkungen von über 80 % erreichbar sind. Wird bei der Entnahmewirkung auch die biologische Stufe mitberücksichtigt, sind bezogen auf den Ablauf der Vorklärung Verminderungen von über 90 % möglich.

Insbesondere das in der kommunalen Kläranlage praktisch nicht entfernbare Antiepileptikum Carbamazepin und das nur mäßig verminderbare Schmerzmittel Diclofenac werden durch die Oxidation zu über 90 % und bei einer alleinigen Adsorption zu über 80 % vermindert. Durch die kombinierte Anwendung beider Verfahren kommen deren spezifische Vorteile in Bezug auf einzelne Spurenstoffe zur Geltung.

Bei den Untersuchungen hat sich gezeigt, dass die verwendete granuliert Aktivkohle mit zunehmender Standzeit eine geringere Entnahmewirkung aufweist, aber diese nach über 60.000 Bettvolumina noch nicht erschöpft war. Es war immer noch eine Wirkung bezüglich der organischen Restbelastung messbar. Offen ist, ob dies ausschließlich durch adsorptive Prozesse oder eine Kombination aus Adsorption und biologischer Aktivität auf und in der Kohle sich bildender Biomasse verursacht wird.

In der kommunalen Kläranlage vermindert ein Flockungsfilter in der in Eriskirch vorliegenden Form die im Ablauf eines Nachklärbeckens vorhandenen Keimzahlen bei den als Indikator verwendeten *E. coli* um ca. 90 %. Durch die Anwendung der Oxidation mittels Ozon kann diese Restbelastung nochmals um ca. 90 % verringert und damit nahezu Badewasserqualität erreicht werden.

### 4.1.3 Testsystem 3 - Kläranlage Merklingen

#### Anlagenbetrieb

Während der gesamten Untersuchungsdauer wurde die Ozonanlage mit einer nahezu konstanten Menge von 3 m<sup>3</sup>/h beaufschlagt. Infolge der hydraulischen Randbedingungen konnte die Maximalmenge auf bis zu 3,6 m<sup>3</sup>/h ansteigen.

In der Ozonanlage wurde konstant eine Ozonmenge von ca. 24 g O<sub>3</sub>/h erzeugt. Hieraus errechnet sich bei der Beschickungsmenge von 3 m<sup>3</sup>/h eine Ozonkonzentration von ca. 8 mg/L. Bei einer CSB Konzentration von ca. 40 mg/L im Ablauf der Nachklärung (85 % Wert) errechnet sich die spezifische Dosierung zu 0,20 g O<sub>3</sub>/g CSB. Wird der DOC mit 12 mg/L angenommen, ergibt sich bezogen auf diesen Wert eine spezifische Zugabe von 0,67 g O<sub>3</sub>/g DOC. Je nach vorliegender Konzentration im Ablauf der Nachklärung sind geringere oder höhere Werte zu verzeichnen. Wird ein Bereich von einer Standardabweichung ( $s_x = 10$  mg/L) berücksichtigt, schwanken die spezifischen Dosiermengen zwischen 75 % und 125 % des angegebenen Wertes (0,15 – 0,25 g O<sub>3</sub>/g CSB oder 0,50 – 0,84 g O<sub>3</sub>/g DOC). Die Verweilzeit in dem 500 L großen Reaktionsbehälter der Ozonanlage betrug ca. 10 Minuten. Im Vergleich zu der Anlage in Eriskirch wurde in Merklingen die Verweilzeit im Ozonreaktor halbiert.

Der Langsandsandfilter erhielt den kompletten Ablauf des Ozonreaktors und damit einen maximalen Zufluss von höchstens 3,6 m<sup>3</sup>/h. Damit konnte sichergestellt werden, dass der Filter auch bei Trockenwetter immer dieselbe Wassermenge erhält.

Unter diesen Randbedingungen und einem nahezu konstanten Füllstand von ca. 0,4 m oberhalb der Filterschicht errechnet sich eine Verweilzeit von ca. 4 Tagen. Die Filtergeschwindigkeit war nahezu konstant und betrug nicht mehr als 0,01 m/h oder 0,24 m/d.

#### Spezifische Ozondosierung

Aus dem in Abb. 86 dargestellten Diagramm wird ersichtlich, wie sich die spezifische Dosierung in Abhängigkeit der Eingangsbedingungen verändert. Mit zunehmender organischer Belastung des Abwassers verringert sich bei einer konstanten Ozonkonzentration im Abwasser die spezifische Zugabe. Durch eine Veränderung der Ozonkonzentration kann der spezifische Wert beeinflusst werden. In der Versuchsanlage war keine automatische Anpassung der Dosierung an die Abwasserbeschaffenheit möglich. Ozon wurde konstant dosiert.

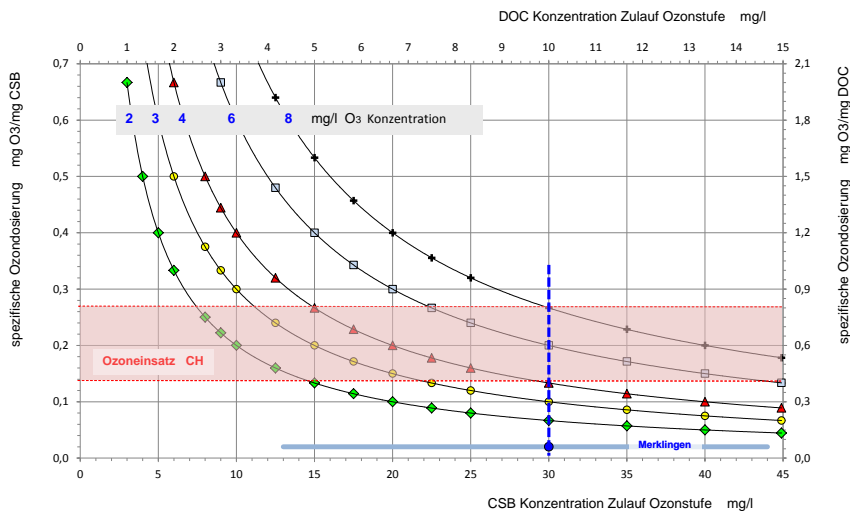


Abb. 86: Spezifische Ozondosierung in Abhängigkeit der Eingangsbedingungen Ozonkonzentration, CSB und DOC im Abwasser

Im Ablauf der Nachklärung waren im Mittel CSB-Konzentrationen um 30 mg/L zu verzeichnen. Bei einer Ozonkonzentration von 8 mg/L ergeben sich spezifische Werte, die im oberen Bereich des in der Schweiz als relevant erachteten Anwendungsbereiches liegen.

### Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der CSB ist als Summenparameter ein Maß für die organische Belastung des Abwassers. Organische Stoffe werden durch Ozon zerstört und somit der CSB verringert. Nachfolgend sind vergleichend die mittleren CSB-Konzentrationen sowie CSB-Entnahmewirkungen ( $\eta$ ) vor und nach der Inbetriebnahme (IB) der Ozon-Anlage eingetragen (Abb. 87).

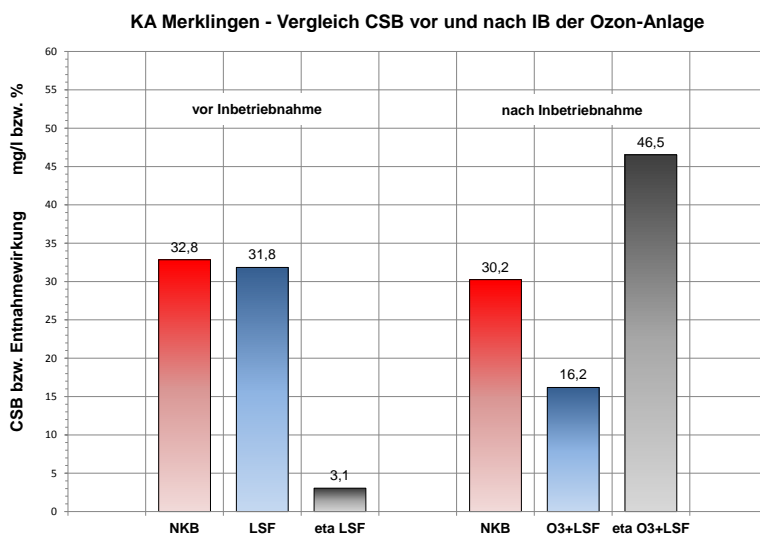


Abb. 87: CSB Konzentration und Entnahmewirkung vor und nach Inbetriebnahme der Ozonanlage

Durch die Inbetriebnahme der Ozon-Anlage wurde der im Ablauf der Nachklärung feststellbare CSB um nahezu 50 % verringert. Ohne Ozoneinsatz konnte keine nennenswerte Abnahme festgestellt werden.

### SAK<sub>254</sub> und Spurenstoffe

Die nachfolgenden Resultate basieren auf den Messergebnissen des TZW (Technologiezentrum Wasser des DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.) die im Rahmen der Probenahme für die Haupt- und Begleitanalytik durchgeführt wurden. In Abb. 88 sind die Entnahmewirkungen exemplarisch dargestellt.

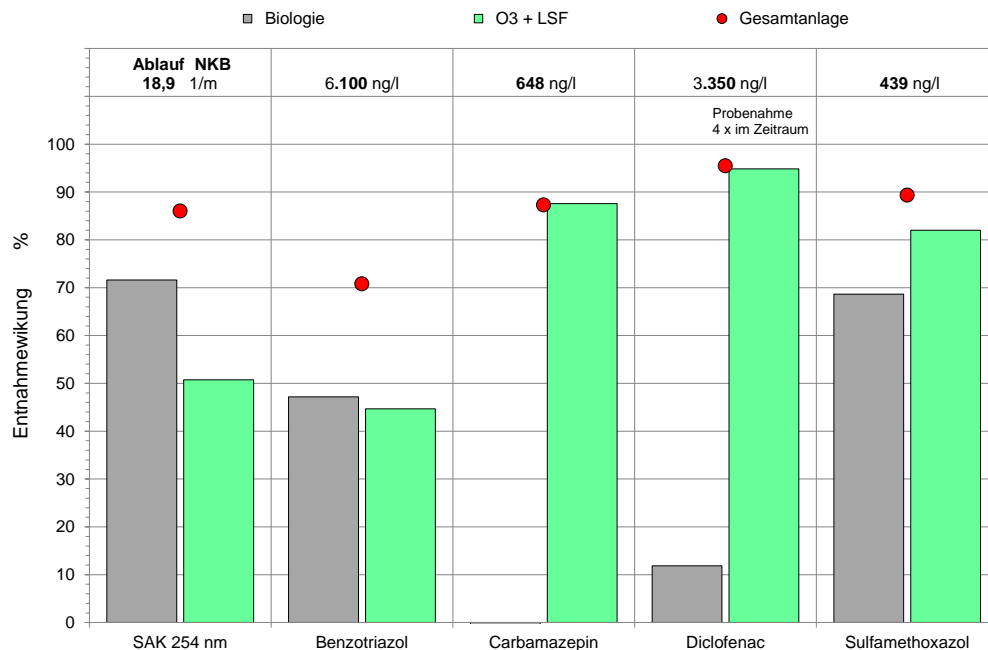


Abb. 88: SAK<sub>254</sub> und Spurenstoffe vor und nach Inbetriebnahme der Ozonanlage

Der spektrale Absorptionskoeffizient SAK<sub>254</sub> erfasst bei 254 nm im Abwasser enthaltene gelöste organische Stoffe und ist dadurch ein Maß, um die Wirkung einer weitergehenden Reinigung zu erfassen. Die im Labor ermittelten Werte sind angegeben. Sie ergeben in der biologischen Stufe eine Verminderung um etwa 70 %. Da die Kläranlage in Merklingen als aerobe Stabilisierungsanlage konzipiert ist, fehlt eine Vorklärung. Die angegebene Entnahmewirkung in der Biologie bezieht sich deshalb auf den im Rohabwasser gemessenen Bezugswert. Im Ablauf der Nachklärung noch messbare Anteile nehmen durch die Anwendung von Ozon in Verbindung mit der nachgeschalteten Filtration nochmals um weitere ca. 50 % ab.



Die ausgewählten Spurenstoffe werden in der vorhandenen Biologie und in der nachgeschalteten Kombination aus Oxidation und Langsamsandfiltration unterschiedlich stark vermindert.

Bei 1*H*-Benzotriazol wirkt sich Ozon nicht so deutlich aus, während dies bei Sulfamethoxazol stärker der Fall ist und bei Carbamazepin und Diclofenac sehr deutlich wird. Die drei Arzneimittel werden mit deutlich über 80 % durch die oxidative Wirkung vermindert. Bezogen auf den Anlagenzulauf könnten in der Kläranlage Merklingen durch den Einsatz von Ozon die Arzneimittel zu ca. 90 % entfernt werden.

### **Keime**

Im Zulauf zur Biologie (Rohabwasser) waren *E. coli* im Umfang von ca. 7 Millionen/100 mL enthalten. Im Ablauf der Nachklärung um 300.000/100 mL und nach dem Langsamsandfilter noch ca. 10.000/100 mL. Nachdem Ozon zugegeben wurde, verringerte sich die *E. coli*-Zahl im Ablauf auf unter 1.000/100 mL, so dass im gereinigten Abwasser bezüglich der *E. coli* nahezu Badewasserqualität erreicht wurde. Die Oxidation wirkt entkeimend und verbessert den Anlagenablauf im Vergleich zum heutigen Zustand um 90 %.

### **Zusammenfassung**

In der Kläranlage der Gemeinde Merklingen wurde Ozon zur oxidativen Verminderung von Spurenstoffen im kommunalen Abwasser eingesetzt. Untersucht wurde dessen Wirkung bei einer Zugabe vor dem vorhandenen Langsamsandfilter (LSF) in das aus der Nachklärung ablaufende, mechanisch, biologisch und chemisch gereinigte Abwasser.

Das mit Ozon behandelte Abwasser wurde auf den ca. 360 m<sup>2</sup> großen Langsamsandfilter mit konstanter Fördermenge gepumpt. Die Filtergeschwindigkeit betrug ca. 0,01 m/h. Die Verweilzeit des Abwassers in der 85 cm hohen Filterschicht bewegte sich unter Beachtung des Wasserüberstandes im Bereich von 4 Tagen.

Bei der gewählten spezifischen Ozondosierung von durchschnittlich ca. 0,2 g O<sub>3</sub>/g CSB und einer Verweilzeit des Abwassers im Ozonreaktor von ca. 10 Minuten konnten die Arzneimittel in Kombination mit dem Langsamsandfilter um über 80 % vermindert werden. Der CSB im Ablauf des Filters wird im Vergleich zum Betrieb ohne Ozon nahezu halbiert.

Die bereits geringe Keimbelastung bei den *E. coli* im gefilterten Abwasser wird durch die entkeimende Wirkung des Ozons nochmals verbessert und somit nahezu Badewasserqualität erreicht.

### 4.1.4 Testsystem 4 - Regenüberlaufbecken Mariatal

#### Betriebsdaten

Bei Regenereignissen wurde der Lamellenklärer aufgrund der durchgeführten Voruntersuchungen mit einer konstanten Menge von 1,5 m<sup>3</sup>/h beaufschlagt, was einer Klärflächenbeschickung von 1,5 m/h entspricht.

Die Regenereignisse, die Zulaufmenge zur Kläranlage Langwiese (KA), die Betriebszustände des RÜB Mariatal und die Zeitpunkte der Probenahme sind in der nachfolgenden Abb. 89 dargestellt.

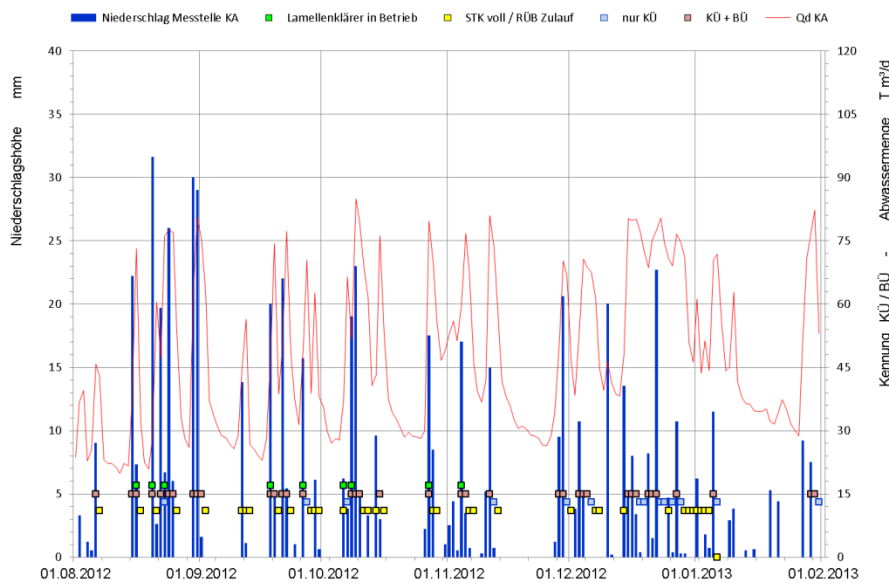


Abb. 89: Niederschlag / Abwassermenge KA Langwiese Betriebsdaten RÜB und Probenahmen

#### Chemischer Sauerstoffbedarf

Der CSB erfasst als Summenparameter die organische Belastung des Abwassers. Wird die Originalprobe analysiert, sind in der gemessenen Konzentration auch die an Feststoffe gebundenen Belastungen enthalten. Nimmt der Gehalt an abfiltrierbaren Stoffen ab, weil diese durch die Sedimentationswirkung in der Abscheideeinrichtung zurückgehalten werden, muss sich dies auch in einem geringeren CSB zeigen. Nachfolgend sind die ermittelten CSB-Konzentrationen sowie die zugehörigen CSB-Entnahmewirkungen ( $\eta$ ) dargestellt (Abb. 90).

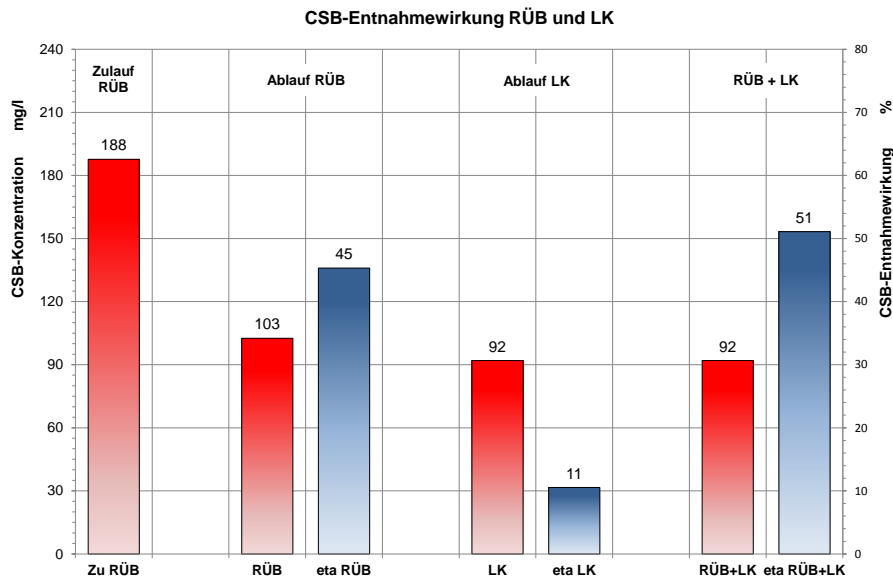


Abb. 90: CSB – Veränderung durch RÜB und Lamellenklärer

Durch die Inbetriebnahme des Lamellenklärsers konnte der CSB in dem in das Gewässer ablaufende Mischwasser von im Mittel ca. 103 mg/L auf ca. 92 mg/L verringert werden. Damit wurde der CSB im Anlagenablauf durch den Lamellenklärer um zusätzlich ca. 11 % vermindert. Die Entnahmewirkung (eta) erhöhte sich durch die Kombination von RÜB und Lamellenklärer von ca. 45 % auf ca. 51 %.

### Abfiltrierbare Stoffe

Die abfiltrierbaren Stoffe (AFS) erfassen sowohl organische als auch anorganische Feststoffe. Setzen sich mehr Feststoffe ab, verringert sich auch der Gehalt an abfiltrierbaren Stoffen. In Abb. 91 ist die ermittelte Entnahme bei den abfiltrierbaren Stoffen angegeben und der Unterschied zwischen RÜB und der kombinierten Anwendung erkennbar.

Die abfiltrierbaren Stoffe wurden im Mittel im RÜB von ca. 109 mg/L auf ca. 57 mg/L verringert. Wird die zugehörige CSB-Entnahme berücksichtigt, verursacht 1 g AFS ca. 1,5 g CSB. Durch den Lamellenklärer konnten zusätzlich nochmals ca. 15 mg/L entnommen werden, was einer Leistungssteigerung von ca. 28 % entspricht. Wird der zusätzlichen Entnahme auch der CSB zugerechnet, enthielten diese Feststoffe ca. 0,7 g CSB pro g AFS. Demnach entnimmt der Lamellenklärer vorwiegend Stoffe, die organisch geringer belastet sind.

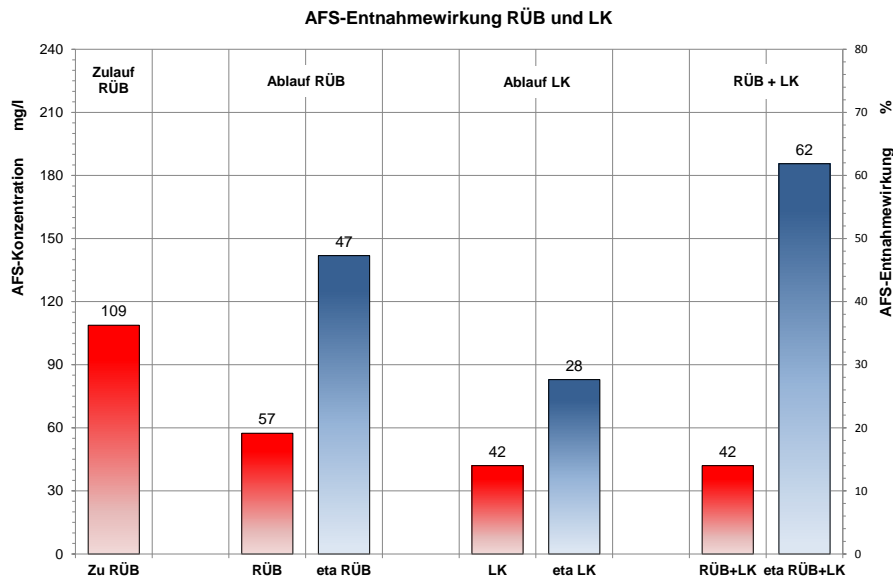


Abb. 91: Entnahme abfiltrierbare Stoffe in RÜB und Lamellenklärer

### Spurenstoffe

Die nachfolgenden Resultate basieren auf den Messergebnissen des TZW (Technologiezentrum Wasser des DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.), die im Rahmen der Probenahme für die Haupt- und Begleitanalytik durchgeführt wurden (Tab. 15).

Auf Grund der zum Teil schwierig interpretierbaren Ergebnisse, bedingt z. B. durch zu geringe Konzentrationen unter oder nahe an der Bestimmungsgrenze, wurde hier auf eine grafische Darstellung verzichtet. Werden die Ergebnisse ohne Wertung tabellarisch zusammengefasst, zeigt sich ein sehr uneinheitliches Bild. Da die ausgewählten Spurenstoffe nicht oder nur in sehr geringem Umfang Partikel gebunden auftreten, hätten sich analytisch zwischen den einzelnen Proben keine Unterschiede ergeben dürfen. Die Analytik dürfte in dem vorliegenden Konzentrationsbereich an Grenzen stoßen.

Im Rahmen der Spurenstoffanalytik wurden auch Parameter erfasst, deren Vorkommen eindeutig Partikelbezogenen Veränderungen unterliegt. Die ermittelten Ergebnisse sind in den Berichten der jeweiligen Projektpartner enthalten.

Tab. 15: Entnahmewirkungen Spurenstoffe

Parameter		RÜB	LK	RÜB + LK
SAK <sub>254</sub>	%	- 8	10	3
1H-Benzotriazol	%	- 6	18	12
Carbamazepin	%	- 97	22	- 47
Diclofenac	%	- 20	11	-6
Sulfamethoxazol	%	*	*	*
lomeprol	%	- 34	5	- 25

\* Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze

### Keime

Die Ergebnisse der *E. coli*-Bestimmungen liefern ein insgesamt inhomogenes Bild. So lag deren Anzahl im Mittel im Zulauf zum RÜB niedriger als in dessen Ablauf. Probenahmebedingte Einflussfaktoren können nicht ausgeschlossen werden.

Im Ablauf des Lamellenklärsers lagen die Werte geringfügig (ca. 5 %) unter den Werten, die im Ablauf des RÜB festgestellt wurden. Insgesamt kann davon ausgegangen werden, dass durch den Lamellenklärer keine relevante Verminderung der Keime stattgefunden hat.

### Zusammenfassung

Am RÜB Mariatal der Stadt Ravensburg wurde untersucht, wie sich durch die Einbindung eines Lamellenklärsers die auf Schwerkraft beruhende Abscheidewirkung bei den abfiltrierbaren Stoffen im Rahmen der Mischwasserbehandlung verbessern lässt.

Bei hydraulischen Belastungen im Bereich von 1,5 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>\*h konnte eine bessere Rückhaltewirkung erreicht werden. Die abfiltrierbaren Stoffe werden durch die Behandlung im Lamellenklärer in dem in das Gewässer abgeleiteten Klärüberlauf um ca. 15 mg/L oder ca. 28 % verringert. Parallel dazu reduziert sich auch der CSB, soweit dieser an die partikulären Stoffe gebunden ist. Bei der verminderten Oberflächenbeschickung nahm der CSB um ca. 11 mg/L oder ca. 11 % ab.

Bei den überwiegend gelöst vorliegenden Spurenstoffen kann keine Verbesserung erzielt werden. Die zusätzliche Entnahmewirkung beschränkt sich ausschließlich auf partikelgebundene Stoffe.

Auch bei den Keimen konnte keine relevante Entnahmewirkung festgestellt werden.

Technologisch könnten bei einer Realisierung der geringeren Oberflächenbeschickung entweder die Becken vergrößert oder diese komplett mit Lamellen bestückt werden. Ersteres schließt sich an einer Vielzahl von Standorten aufgrund der örtlichen Gegebenheiten (Platzbedarf) aus. Bei den Lamellen sind neben baulichen auch betriebliche Gesichtspunkte zu beachten, die eine Umsetzung nur bei ausgewählten Standorten zulassen. Der beste Gewässerschutz dürfte bei der Mischwasserbehandlung dann erreicht sein, wenn das bemessungstechnisch notwendige Volumen erstellt und dieses optimal genutzt und betrieben wird.

#### 4.1.5 Testsystem 5 - Retentionsbodenfilter Tettngang

##### Abwassermengen

Zur Kläranlage Eriskirch werden bei Trockenwetter ca. 600 m<sup>3</sup>/d und im Regenwetterfall bis zu 2.500 m<sup>3</sup>/d abgeleitet (siehe Abb. 92). Wenn der RBF die Maximalmenge behandelt, entlässt er bis zu ca. 900 m<sup>3</sup>/d. Ist der RBF gefüllt und es kommt zu größeren Regenereignissen, wurden an dem vorgeschalteten Trennbauwerk im Untersuchungszeitraum täglich bis zu 3.500 m<sup>3</sup> entlastet.

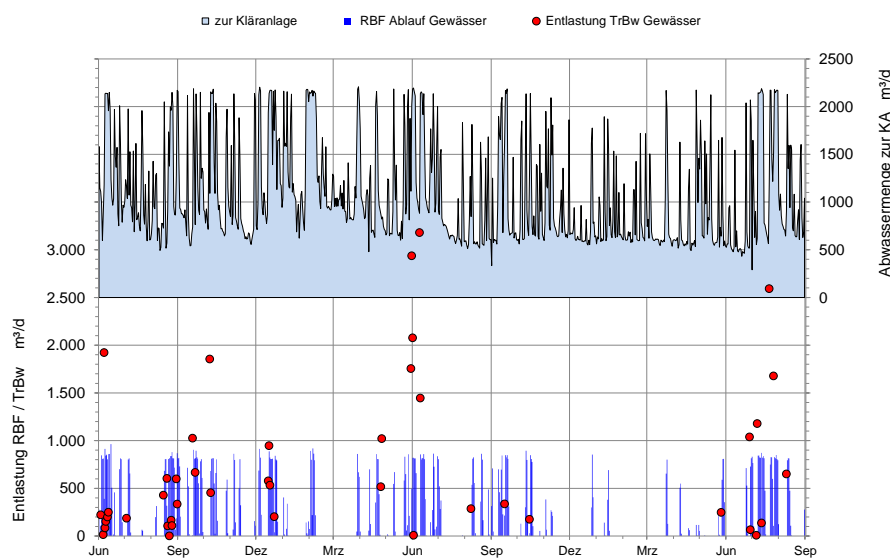


Abb. 92: RBF Tettngang / Abwassermengen am RBF und RÜB

##### Chemischer Sauerstoffbedarf

Der CSB ist als Summenparameter ein Maß für die organische Belastung des Abwassers. Im RBF werden organische Stoffe durch Filtration und biologischen Abbau entnommen und

verringern somit den CSB. Nachfolgend sind die CSB-Konzentrationen sowie die zugehörigen Entnahmewirkungen im RBF Tettngang zusammengestellt (Abb. 93).

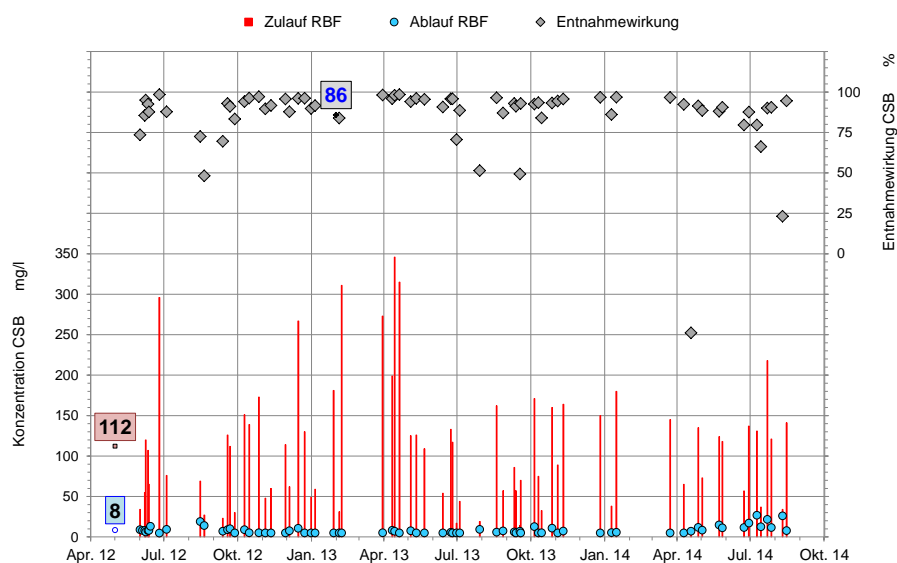


Abb. 93: RBF Tettngang / CSB Konzentration und Entnahmewirkung

Das zum RBF Tettngang gelangende Abwasser weist im Durchschnitt einen CSB von ca. 112 mg/L auf. Diese Belastung verringert der RBF auf Konzentrationen von ca. 8 mg/L und erreicht damit eine mittlere Entnahmewirkung von ca. 86 %.

### Abfiltrierbare Stoffe

Die messtechnisch summarisch erfassten abfiltrierbaren Stoffe (AFS) können mineralischen und organischen Ursprungs sein. Die gemessenen Konzentrationen und deren Verminderung im RBF sind aus Abb. 94 ersichtlich.

Im Zulauf zum RBF sind im Mittel ca. 90 mg/L abfiltrierbare Stoffe enthalten. Diese Konzentration hält der RBF nahezu vollständig zurück und entlässt nur noch ca. 1,5 mg/L. Das ablaufende Abwasser ist glasklar. Die mittlere Entnahmewirkung liegt bei ca. 97 %. Wird die CSB-Entnahme ausschließlich durch den Rückhalt der abfiltrierbaren Stoffe verursacht, würden diese eine spezifische Belastung von ca. 1,2 g CSB/g AFS aufweisen.

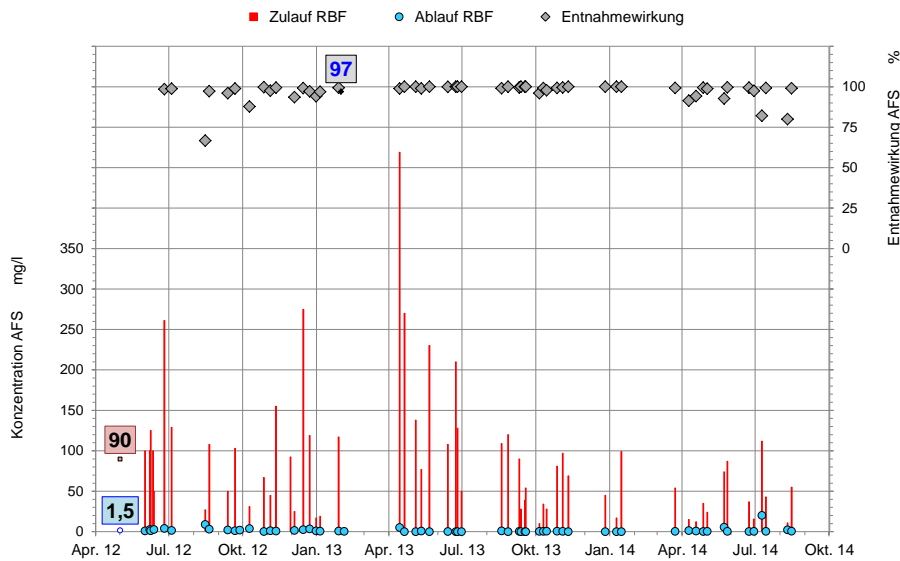


Abb. 94: RBF Tettang / AFS Konzentration und Entnahmewirkung

### Spurenstoffe

Die nachfolgend in Abb. 95 dargestellten Resultate für die Spurenstoffentnahme im RBF basieren auf den Messergebnissen des TZW (Technologiezentrum Wasser des DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.), die im Rahmen der Probenahme für die Haupt- und Begleitanalytik durchgeführt wurden.

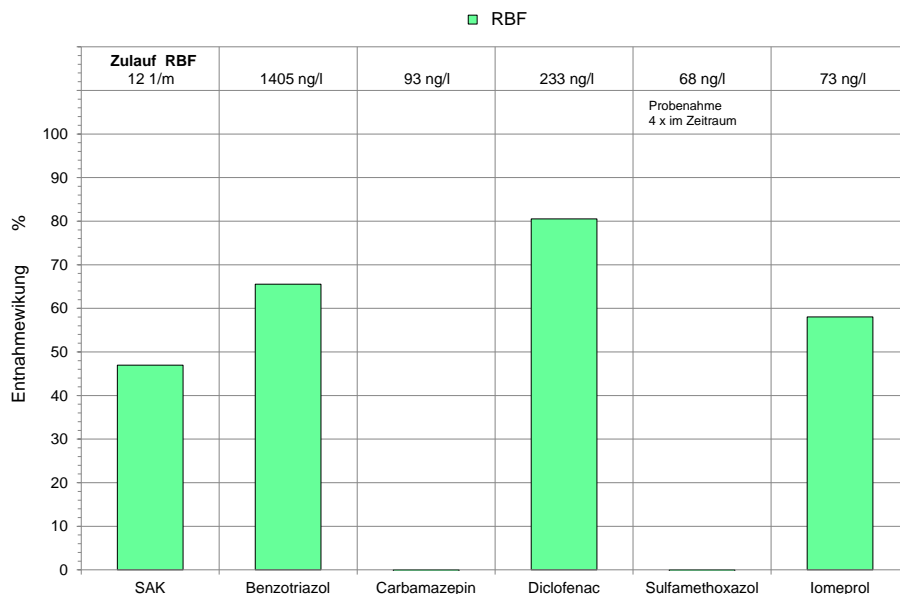


Abb. 95: RBF Tettang / Entnahmewirkung Spurenstoffe

Die exemplarisch dargestellten Spurenstoffe werden im Retentionsbodenfilter unterschiedlich stark entnommen. 1H-Benzotriazoltriazol, Diclofenac und Iomeprol werden gut vermindert.



Bei Carbamazepin und Sulfamethoxazol ist zwischen Zu- und Ablauf kein Unterschied feststellbar, wobei hierbei zu beachten ist, dass deren Konzentrationen im Bereich der Nachweisgrenze liegen. Im Vergleich dazu wird der Summenparameter  $SAK_{254}$  nahezu halbiert.

## Keime

In Abb. 96 sind die Keimbelastungen im Rohabwasser und im Ablauf verschiedener abwassertechnischer Einrichtungen dargestellt. Im kommunalen Mischwasser sind bei Regen *E. coli* im Umfang von ca. 1 Million/100 mL enthalten (Zul. RÜB). Sie werden durch die im RÜB stattfindende Sedimentation kaum vermindert (Abl. RÜB). Die nachfolgende Behandlung im Retentionsbodenfilter verringert die Keimbelastung deutlich (Abl. RBF). Sie erreicht Werte, die deutlich besser sind als der Ablauf aus dem Nachklärbecken einer Kläranlage (Abl. NKB) und bereits in den Bereich eines Flockungsfilters kommen (Ab. FF). Darüberhinausgehende Entnahmewirkungen erfordern desinfizierende Verfahren (z. B. Ozon  $O_3$ ).

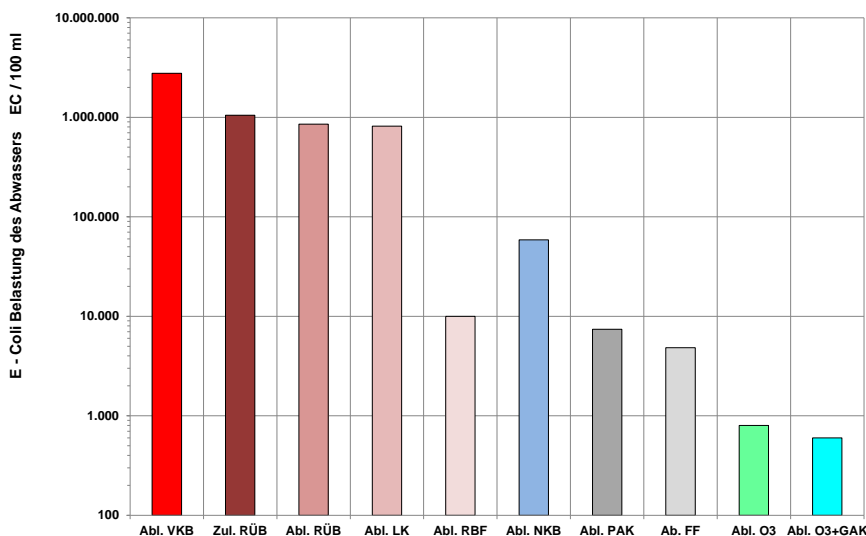


Abb. 96: RBF Tettang / Zuordnung Keimbelastung

## Ergebnisse Feststoffeluate (Zusatzuntersuchungen)

Bei diesem Analyseverfahren werden die Spurenstoffe zunächst mit Wasser aus den Feststoffproben ausgewaschen (eluiert). Anschließend werden die dann in der Wasserphase vorliegenden Spurenstoffe bestimmt. Die angegebene Konzentration bezieht sich somit auf einen Liter des erhaltenen wässrigen Eluats. Die nachfolgenden Abbildungen 97 und 98 zeigen die Analysenergebnisse für fünf ausgewählte Spurenstoffe an den sechs

Probenahmestellen im RBF Tettngang. Die Analysen wurden vom TZW (Technologiezentrum Wasser des DVGW - Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.) durchgeführt.

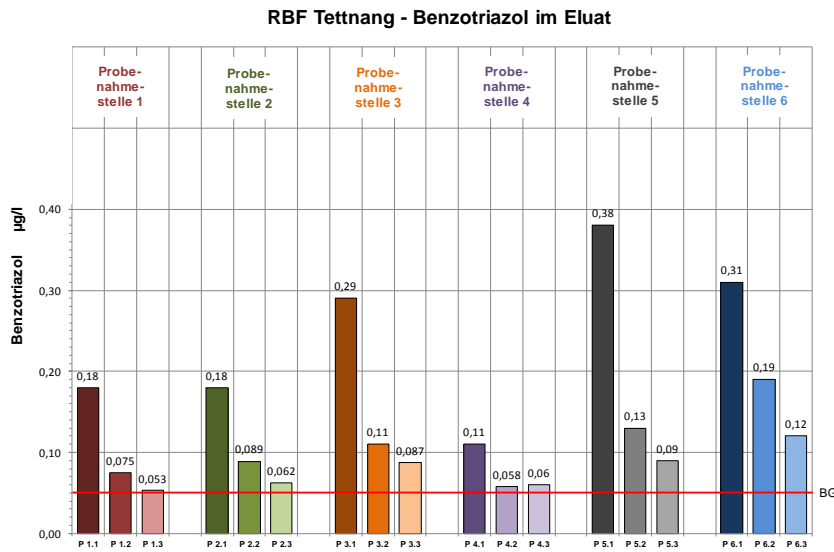


Abb. 97: RBF Tettngang / 1H-Benzotriazoltriazol im Eluat

Die Analysenergebnisse zeigen, dass an allen Probenahmestellen eine Abnahme der Konzentration mit zunehmender Tiefe der Filterschicht festgestellt werden konnte. Dieser Effekt ist typisch für Sorptionsvorgänge in vertikal durchströmten Filtern. Insgesamt wurden auf der Seite des Einlaufs aus dem RÜB Tobelbach (Probenahmestelle 6) höhere Konzentrationen gemessen als auf der Einlaufseite des RÜB Friedhofstraße (Probenahmestelle 1). Dies ist vor allem damit erklärbar, dass über das RÜB Tobelbach ca. 90 % der Abwassermenge dem RBF zufließen. Carbamazepin ist nur auf der Einlaufseite RÜB Tobelbach nachweisbar.

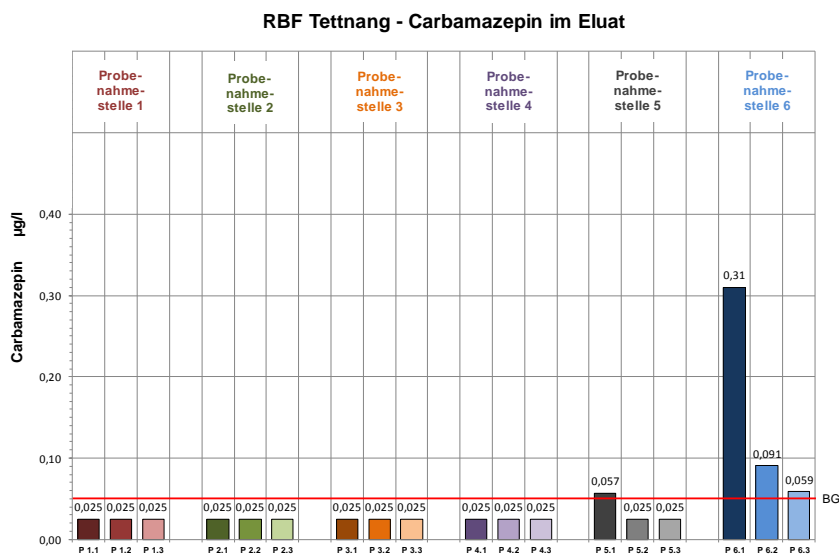


Abb. 98: RBF Tettngang / Carbamazepin im Eluat

Bei Diclofenac, Sulfamethoxazol und Iomeprol lagen die Konzentrationen im Eluat an allen Probenahmestellen unter der Bestimmungsgrenze, weshalb auf eine grafische Darstellung dieser Parameter verzichtet wurde. Insgesamt zeigten nur ca. 12 % aller Analysen der Feststoffeluat Positivbefunde.

### **Ergebnisse Feststoffextraktionen (Zusatzuntersuchungen)**

Bei diesem Analyseverfahren werden die Spurenstoffe mit einem organischen Lösemittel von den Feststoffproben abgelöst (extrahiert) und anschließend bestimmt. Die ermittelte Konzentration wird je Kilogramm Feststoff angegeben.

Da nur ca. 3,5 % aller Extraktionsanalysen einen Positivbefund lieferten, wird auf eine Darstellung der einzelnen Analysenergebnisse verzichtet. Die meisten Positivbefunde (ca. 46 %) wurden an der Probenahmestelle 6 ermittelt. An Probenahmestelle 1 ergaben sich ca. 20 % der Positivbefunde. Alle Positivbefunde wurden in der obersten Schicht der jeweiligen Probenahmestelle festgestellt. Dies bestätigt die Tendenz der Spurenstoffverteilung aus den o. g. Analysen der Feststoffeluat.

### **Bewertung der Ergebnisse für den Retentionsbodenfilter Tettngang**

Die Analysenergebnisse zeigen ein jeweils abfallendes Konzentrationsprofil der Spurenstoffe von den Einlaufstellen hin zur Ablaufstelle und von der Filteroberfläche zum Filterboden, in dem die Drainagerohre das filtrierte Abwasser sammeln und ableiten. Beide Effekte begünstigen somit eine gute Ablaufqualität des aus dem Retentionsbodenfilter abfließenden und in den Vorfluter abgeleiteten Abwassers.

Die Analysen der Feststoffproben aus dem RBF Tettngang lieferten nur sehr wenige Positivbefunde. Insbesondere die Extraktionsanalysen konnten auf Grund der sehr niedrigen Rate von ca. 3,5 % Positivbefunden in nur sehr beschränktem Umfang zur Informationsgewinnung beitragen. Da es sich bei den eingesetzten Analyseverfahren um noch nicht zertifizierte und in Normen fixierte Verfahren handelt, sollten zur Verbesserung der Aussagekraft diese Verfahren weiterentwickelt und standardisiert werden.

Auf Grund der geringen Anzahl an Positivbefunden stehen nur wenige verarbeitbare Daten zur Verfügung, um eine Bilanz erstellen zu können, welche die im Retentionsbodenfilter verbliebenen Spurenstoffmengen ins Verhältnis zu den zu- und abgelaufenen Spurenstofffrachten setzt. Mit Hilfe dieser Bilanz sollte berechnet werden, ob und in welchem Ausmaß die verschiedenen Spurenstoffe z. B. durch adaptierte Mikroorganismen biologisch abgebaut werden. Für 1*H*-Benzotriazol wurde versucht, eine überschlägige Bilanz zu erstellen.

Der RBF Tettang ist seit 2004 in Betrieb. Pro Jahr fließen durchschnittlich rd. 65.000 m<sup>3</sup>/a Mischwasser über den Filter. Die mittlere Entnahme an 1*H*-Benzotriazol betrug bei den Beprobungen 2012/2013 rd. 1 µg/L. Bei einer Betriebszeit bis zur Beprobung im Jahr 2015 von 12 Jahren sind somit rd. 1.100 g 1*H*-Benzotriazol zugeleitet und rd. 700 g 1*H*-Benzotriazol entnommen worden.

In der Bilanz hätte bei weitgehender Adsorption dieser Fracht ein Großteil auf der entnommenen Sandprobe gefunden werden müssen. Gemessen wurden allerdings nur rd. 500 µg/m<sup>3</sup> Filtersand bzw. ca. 1 g im gesamten Retentionsbodenfilter.

Es ist anzunehmen, dass bei der Eluatmethode nur ein Teil der adsorbierten Stoffe ausgewaschen wird. Der Unterschied von 1 g (gemessen) zu 700 g (entnommen) zeigt aber, dass vermutlich der maßgebliche Teil der entnommenen Spurenstoffe biologisch abgebaut wird.

Für eine wissenschaftlich belastbare Aussage müssten die Bestimmungsmethoden verbessert und die Beprobungshäufigkeit erhöht werden.

Interessant wäre eine Langzeituntersuchung an einem neuen Retentionsbodenfilter, inwieweit sich die Entnahmerate mit steigender Betriebszeit verändert. Auf Grund der bisherigen Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass Spurenstoffe durch biologische Abbauprozesse im Retentionsbodenfilter reduziert werden.

### **Datenvergleich**

Nachfolgend werden Vergleiche angestellt, wie sich z. B. die Auslegungs- und Betriebsdaten des RBF Tettang zu den aktuellen Empfehlungen der Fachgremien und die festgestellten Entnahmewirkungen von ausgewählten Spurenstoffen zu denen an anderen im Einsatz befindlichen RBFs verhalten.

### **Empfehlungen der Fachgremien**

Zu diesem Vergleich wurde folgende Fachliteratur herangezogen:

- a) Landesanstalt für Umweltschutz, Baden-Württemberg (LfU); Bodenfilter zur Regenwasserbehandlung im Misch- und Trennsystem; Stand 2002
- b) Merkblatt DWA M 178; Empfehlungen für Planung, Bau und Betrieb von Retentionsbodenfiltern zur weitergehenden Regenwasserbehandlung im Misch- und Trennsystem; Stand Oktober 2005

- c) Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV); Retentionsbodenfilter - Handbuch für Planung, Bau und Betrieb; Stand 2015

In der nachfolgenden Tab. 16 werden einige wichtige Parameter aus o. g. Fachliteratur den Bedingungen am RBF Tettngang gegenübergestellt.

Tab. 16: Vergleich mit Empfehlungen

Vergleichsparameter	RBF-Tettngang	Empfehlung	Literatur
<b>Filterschicht</b> - spez. Oberfläche je angeschlossene befestigte Fläche m <sup>2</sup> /ha - Aufbau - Filterschichthöhe m - Körnung mm - Hydraulische Filterbelastung m/a - Einstautiefe m	ca. 77 zweischichtig (0,5 + 0,4 m) 0,9 0/4 + 0/2 ca. 33 ca. 1	75 einschichtig ≥ 0,75 0/2 ≤ 40 0,5 - 1,0	c) a) + b) b) + c) a) + b) b) a)
<b>Drainageschicht</b> - Schütthöhe Drainkies m - Körnung Drainkies mm - Drainsaugerrohre DN mm Länge m Abstand m - Drainsammlerrohre DN mm	0,4 m - 0,6 0/32 150 max. ca. 31 bis ca. 10 200	> 0,25 2/8 ≥ 150 ≤ 40 ≤ 5 ≥ 200	b) b) b)   b)
<b>Zulauf</b> - Schwellenbelastung l/s	bis ca. 250	≤ 150	b)
<b>Ablauf</b> - Drosselabflussspende l(s·m <sup>2</sup> ) - Anzahl Abflüsse Stck./a	0,005 ca. 24	0,01 ≥ 10	a)+b)+c) c)
<b>Schilfmahd</b> Jahre	alle 1 - 2	keine	c)

Die Übersicht zeigt, dass eine Reihe von Bedingungen am RBF Tettngang von den Empfehlungen abweicht. Auf diese Abweichungen wird wie folgt eingegangen:

#### *Filterschicht*

Die Filterschicht des RBF Tettngang ist zweischichtig aufgebaut. Die insgesamt 0,9 m dicke Filterschicht besteht aus 0,5 m Natursand der Körnung 0/4 und darüber 0,4 m Natursand der Körnung 0/2. Prinzipiell weist ein gröberer Sand eine höhere Filtergeschwindigkeit auf als ein feinerer. Dies bedeutet, dass das Abwasser die Sandschicht schneller passiert und damit

weniger Kontaktzeit für die Adsorption von Inhaltsstoffen zur Verfügung steht. Im vorliegenden Fall wird jedoch der Abfluss gedrosselt, sodass der beschriebene Effekt nicht zum Tragen kommt.

### *Drainageschicht*

Die Körnung des Drainkieses ist deutlich gröber als empfohlen. Der Drainkies hat die Aufgabe, die Filterschicht zu tragen, den Austrag des Filtermaterials zu verhindern und das Filtrat den Drainagerohren zufließen zu lassen. Trotz der eingebauten groben Körnung des Drainkieses wurde das Filtermaterial sicher zurückgehalten. Durch die gröbere Körnung kann davon ausgegangen werden, dass das Filtrat schneller den Drainagerohren zugeleitet werden kann.

Zwischen den Drainsaugerohren existieren im RBF Tett nang Abstände von bis zu ca. 10 m. Hierbei wird der empfohlene Abstand von maximal 5 m weit überschritten. Der bisherige Anlagenbetrieb hat gezeigt, dass sich dies nicht negativ auswirkt. Möglicherweise wird der größere Abstand der Drainsauger durch die gröbere Körnung des Drainkieses mit dessen besserer Durchlässigkeit wieder ausgeglichen.

### *Zulauf*

Die Schwellenbelastung kann bis zu 250 L/s betragen. Empfohlen werden Werte bis maximal 150 L/s um hydraulische Beschädigungen der Filteroberfläche zu vermeiden. Im Einlaufbereich aus dem RÜB Tobelbach konnten zwar ein niedrigerer Bewuchs, aber keine echten Schäden der Filteroberfläche erkannt werden. Auf Grund des bereits mehr als zehnjährigen Betriebs des RBF Tett nang kann davon ausgegangen werden, dass die ggf. auftretende hohe Schwellenbelastung bislang keine Schäden am Filterkörper verursacht hat.

### *Schilfmahd*

Wenn im Winter bei starkem Frost der Filter befahrbar ist, wird maximal einmal im Jahr eine Schilfmahd durchgeführt und das Schnittgut abtransportiert. Allgemein wird empfohlen, keine Mahd durchzuführen, damit die abgestorbenen Pflanzenteile das Sediment auf der Filteroberfläche strukturieren und so eine gute Belüftung und Mineralisierung des Sediments sicherstellen. Dadurch wird auch eine Kolmation des Filters verhindert.

Obwohl am RBF Tett nang immer wieder eine Mahd erfolgt, kam es bislang zu keinen Kolmationserscheinungen am Filter. Es wird deshalb davon ausgegangen, dass unterjährig genügend Pflanzenmaterial abstirbt, um dem Sediment genügend Strukturmaterial zur Verfügung

zu stellen, damit eine gute Mineralisierung des Sediments und eine Vermeidung der Kolmation gewährleistet ist. Durch die Mahd müssen die Pflanzen einen neuen Pflanzenkörper (Stängel, Blätter, etc.) ausbilden. Dies führt zu einer höheren Aufnahme von Nähr- und anderen Stoffen. Ohne Mahd würden aufgenommene Stoffe beim Absterben der Pflanze auf der Filteroberfläche wieder freigesetzt werden.

### Bewertung der festgestellten Abweichungen

Zusammenfassend ist festzustellen, dass keine der o. g. Abweichungen als ausschlaggebend für die festgestellte gute Spurenstoffentnahmewirkung identifiziert werden konnte. Einige der Abweichungen (z. B. größerer Abstand zwischen den Drainsaugerrohren, höhere Schwellenbelastung) sind eher so zu bewerten, dass diese zu schlechteren Ergebnissen führen könnten.

### Andere Retentionsbodenfilter

Im Rahmen einer Recherche nach Spurenstoffuntersuchen an weiteren Retentionsbodenfiltern hat sich gezeigt, dass nur zu sehr wenigen Bodenfiltern Daten existieren. Einzig im Rahmen von Forschungsvorhaben des Landesamts für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) wurden die beiden Retentionsbodenfilter RBF Altendorf und RBF Kenten des Erftverbands beprobt und auf Spurenstoffe untersucht. Nachfolgend sind die Entnahmewirkungen von vier Spurenstoffen dargestellt.

Tab. 17: Vergleich der Entnahmewirkungen

Parameter		RBF Tettang	RBF Altendorf <sup>1)</sup>	RBF Kenten <sup>2)</sup>
1H-Benzotriazol	%	66	-100	40
Carbamazepin	%	-18	-238	30
Diclofenac	%	81	57	73
Sulfamethoxazol	%	-40		23

1) Quelle: Mertens (2016)

2) Quelle: Tondera et al. (2013)

Die Tab. 17 zeigt, dass die Untersuchungsergebnisse keine eindeutige Übereinstimmung aufweisen. Bei Diclofenac wurde an allen drei Retentionsbodenfiltern eine Entnahmewirkung in vergleichbarer Größenordnung ermittelt. Die Retentionsbodenfilter Tettang und Kenten weisen eine vergleichbare Tendenz hinsichtlich der Entnahme auf.

### **Zusammenfassung Retentionsbodenfilter**

Der seit über 10 Jahren in Betrieb befindliche Retentionsbodenfilter (RBF) in Tettang erhält bei Regenwetter das in den vorgeschalteten Regenüberlaufbecken nicht zurückgehaltene Mischwasser. Das im RBF gereinigte Abwasser gelangt danach in den Tobelbach und fließt in diesem bis zur Schussen.

Im RBF wird der im Zulauf enthaltene CSB um ca. 86 % verringert, so dass im Ablauf mittlere Konzentrationen von weniger als 10 mg/L messbar sind. Die im spektralen Absorptionskoeffizienten  $SAK_{254}$  erfasste organische Belastung nimmt um ca. 47 % ab. Bei den exemplarisch betrachteten Spurenstoffen sind die erreichten Entnahmewirkungen nicht einheitlich, wobei zu berücksichtigen ist, dass sich in dem untersuchten Mischwasser die Belastungen z. T. im Bereich der Nachweisgrenze bewegen. Bei höheren Konzentrationen sind Verminderungen um ca. 60 % - 80 % möglich. Die Keimbelastung (*E. coli*) nimmt deutlich ab und erreicht bei der Passage durch die Filterschicht des Retentionsbodenfilters Entnahmewirkungen, die mit einer biologischen Stufe einschließlich Flockungsfilter vergleichbar sind (99 %).

Durch die weitergehende Mischwasserreinigung im Retentionsbodenfilter wird die Gewässerbelastung merklich vermindert, so dass diese Technologie bei erhöhten Anforderungen an die Regenwasserbehandlung sinnvoll einsetzbar ist. Bedingt durch den hohen Platzbedarf wird die technische Realisierung aber durch die örtlichen Bedingungen in der Praxis limitiert.

Um den Verbleib der entnommenen Spurenstoffe zu untersuchen, wurden aus dem RBF Proben des Filtermaterials entnommen und analysiert. Hierbei kamen zwei Analyseverfahren zum Einsatz. Zum einen wurden von den Feststoffproben wässrige Eluate (Feststoffeluate) und zum anderen Extrakte mit organischen Lösemitteln (Feststoffextrakte) erzeugt und anschließend untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die verwendeten, noch nicht zertifizierten oder genormten Analyseverfahren, in ihrer jetzigen Ausprägung nur bedingt geeignet sind, um relativ gering belastete Feststoffproben auf Spurenstoffe zu untersuchen. Um deren Aussagekraft zu verbessern, müssen die Analyseverfahren weiterentwickelt werden.



Der Anteil positiver Befunde lag bei den Feststoffeluataten bei ca. 12 % und bei den Feststoffextrakten bei ca. 3,5 % positiver Befunde. Auf dieser Basis war es nicht möglich, die im Filtermaterial enthaltenen Spurenstoffmengen zu berechnen. Diese Berechnung wiederum wäre die Basis zur Erstellung einer Spurenstoffbilanz über den RBF. Mit Hilfe der Bilanz sollte quantifiziert werden, welche Spurenstoffmengen im RBF abgebaut werden. Auf Grund der bisherigen Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass im RBF Spurenstoffe durch biologische Abbauvorgänge reduziert werden.

Anhand der Analysenergebnisse konnte festgestellt werden, dass ein jeweils abfallendes Konzentrationsprofil der Spurenstoffe von den Einlaufstellen hin zur Ablaufstelle und von der Filteroberfläche zum Filterboden, in dem die Drainagerohre das filtrierte Abwasser sammeln und ableiten, vorhanden ist. Beide Effekte begünstigen somit eine gute Ablaufqualität des aus dem Retentionsbodenfilter abfließenden und in den Vorfluter abgeleiteten Abwassers.

Beim Vergleich der Daten zu Aufbau und Betrieb des RBF Tettnang mit den Empfehlungen der Fachliteratur ergaben sich einige Abweichungen. Es konnte jedoch keine der festgestellten Abweichungen als ausschlaggebend für die gute Spurenstoffentnahmewirkung identifiziert werden.

Der Datenvergleich mit anderen Retentionsbodenfiltern zeigt, dass insgesamt die ermittelten Entnahmewirkungen keine gute Übereinstimmung aufweisen, sich aber eine vergleichbare Tendenz ableiten lässt. Bei Diclofenac wurde an allen drei betrachteten Retentionsbodenfiltern eine Entnahmewirkung in vergleichbarer Größenordnung gefunden.

## **4.2 Technologiebewertung aus der Sicht des Ingenieurs sowie Kosten-Nutzenabschätzungen**

*Jedele, Müller (Jedele & Partner, Stuttgart)*

### **4.2.1 Technologien zur Spurenstoffelimination**

Grundsätzlich können Spurenstoffe durch Verfahren der Adsorption und Oxidation weitergehend eliminiert werden (Abb. 99). Bei der Adsorption kann granuliert (GAK) oder pulverisierte (PAK) Aktivkohle eingesetzt werden. Die Spurenstoffe werden bei der Adsorption aus dem Abwasser entnommen, aber nicht zerstört. Sie gelangen u. a. in den Klärschlamm und werden letzten Endes nur durch sehr hohe Temperaturen beseitigt, die bei der Klärschlammverbrennung (PAK) oder der Regeneration (GAK) auftreten.

		<b>Aktivkohle</b>		<b>Ozon</b>
<b>Biologie</b>	<b>Adsorption</b>		<b>Oxidation</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Strippung</li> <li>• Adsorption / Absorption</li> <li>• Abbau / Fällung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>granulierte Aktivkohle</b></li> <li>• Festbett / Beladung</li> <li>• Austausch / Ersatz</li> <li>➢ keine Hilfsmittel</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>pulverisierte Aktivkohle</b></li> <li>• Sedimentation / Filtration</li> <li>• ÜS-Schlamm</li> <li>➢ Fällmittel, Polymere</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abbauprodukte</li> <li>• Metabolitenbildung möglich</li> <li>• Nachreinigung erforderlich</li> <li>➢ Energieverbrauch</li> </ul>	
<b>Verbrennung</b>	<b>Regeneration Verbrennung</b>		<b>Verbrennung</b>	
			<b>Oxidation</b>	

Abb. 99: Entnahme und Zerstörung der Spurenstoffe

Im Falle der Oxidation mittels Ozon werden die Spurenstoffe entweder direkt zerstört oder in unschädlichere Zwischenprodukte umgewandelt. Letztere können z.T. wieder biologisch behandelt werden, so dass der Ozonstufe immer ein biologisch aktives System nachgeschaltet werden muss. Dies kann ein Sandfilter oder ein mit granulierter Aktivkohle befülltes Festbett sein. Eine Verbrennung von Schlamm ist für die Spurenstoffentfernung nicht notwendig. Es entsteht kein zusätzlicher Schlamm, der einer Verbrennung bedarf.

Es gibt kein Verfahren, das grundsätzlich zu bevorzugen wäre, da in der Praxis je nach Anwendungsfall eine Vielzahl von technischen und örtlichen Randbedingungen und Einflussfaktoren mit zu berücksichtigen sind. Entscheidend dürften in der Praxis die Gesamtkosten sein, sofern keine spezifischen Gesichtspunkte (störende oder schädliche Inhaltsstoffe, Entnahme nur durch eine Technologie möglich, Platzbedarf) ein Verfahren erfordern oder ausschließen.

#### 4.2.2 Technische Umsetzung in der Kläranlagenpraxis

Bei der technischen Umsetzung ist es in der Praxis möglich, eine Vielzahl von Systemen zur Spurenstoffelimination innerhalb der kommunalen Kläranlage zu installieren (siehe nachfolgend Abb. 100). Dargestellt sind Ozon (O<sub>3</sub>) in Kombination mit Sand- und Langsamsandfilter (SF, LSF) sowie Aktivkohlefilter (GAKF). Pulverisierte Aktivkohle mit Adsorptionsstufe (PAK), Absetzbecken (AB) und Sand- oder Tuchfilter. Auch kontinuierlich betriebene Filter (konti SF) sind verwendbar. Diese können sogar mit granulierter Kohle betrieben werden.

Nicht mit angegeben sind die Varianten, bei denen die Investitionen minimiert und dafür die Betriebskosten höher ausfallen. Dies betrifft vornehmlich die Verfahren mit Pulverkohlezugabe, bei denen auf die Ausbildung eines internen Kohlekreislaufs innerhalb der Adsorptionsstufe verzichtet wird. Dadurch wäre keine Sedimentationseinheit notwendig.

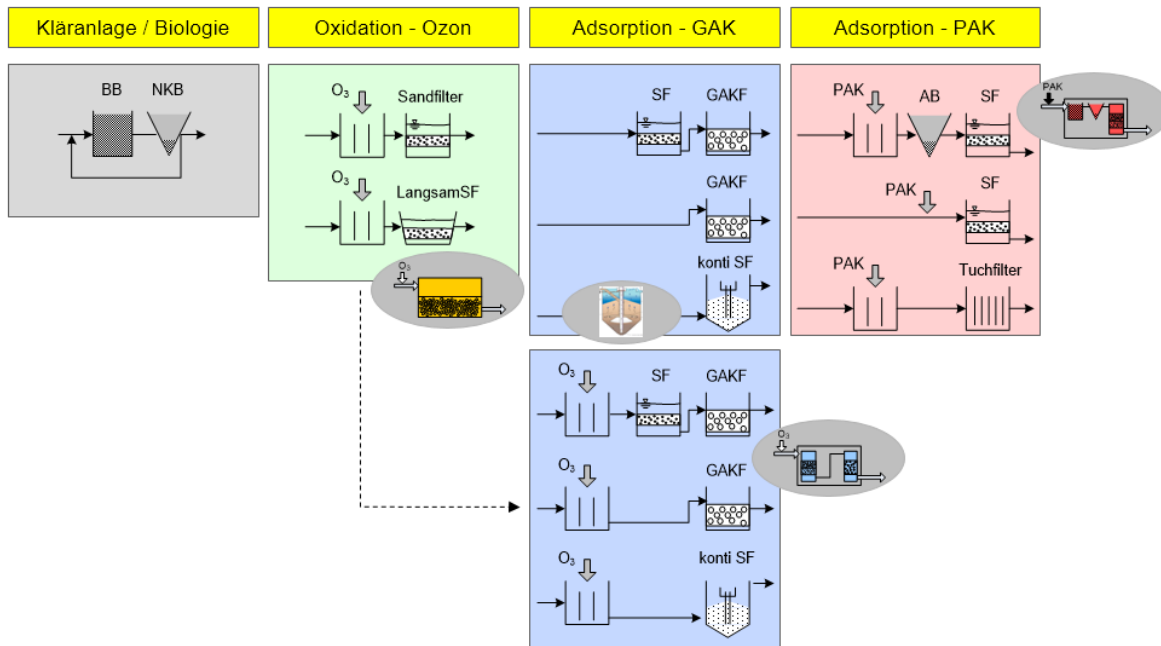


Abb. 100: Spurenstoffelimination / Mögliche technische Umsetzungen

Die Aktivkohle wird hierbei direkt in die Belebung dosiert und nachfolgend in der Nachklärung mit dem belebten Schlamm abgetrennt. Abtreibende Feinanteile müssen in der nachfolgenden Flockungsfiltereinheit zurückgehalten werden. Hierbei wäre nur eine Pulverkohledosierstation erforderlich und keine weiteren Bauwerke.

Möglich wäre auch eine Zugabe der Pulverkohle in einen Adsorptionsreaktor, der unmittelbar vor dem Filter angeordnet wird. Der Rückhalt und die Abscheidung der pulverisierten Aktivkohle fänden dann ausschließlich im Flockungsfilter statt.

### Auswahl für die weiteren Betrachtungen

Im Rahmen von SchussenAktivplus wurden die Kombinationen Ozon + Langsamsandfilter (Merklingen), Ozon + Schnellsandfilter (Eriskirch), Ozon + GAK Filter (Eriskirch) und die eigenständige Pulverkohlestufe mit nachfolgender Flockungsfiltration (Langwiese) untersucht.

Der Ausbau von Langwiese entspricht dem sog. Ulmer Verfahren und ist großtechnisch bereits in sehr vielen Kläranlagen in Baden – Württemberg umgesetzt (Kressbronn, Stockach, Mannheim, Lahr). Mit dieser Verfahrenskombination können in der vierten Stufe die im Ablauf der Nachklärung noch enthaltenen Spurenstoffe zu 80 % entfernt werden, wenn dabei mit 1H-Benzotriazol (Korrosionsschutzmittel), Carbamazepin (Antiepileptikum),

Diclofenac (Schmerzmittel), Sulfamethoxazol (Antibiotika) und Iomeprol (Röntgenkontrastmittel) eine begrenzte Anzahl berücksichtigt wird.

Derzeit gibt es in Deutschland noch keine Vorgaben für eine Entnahmerate bezüglich Spurenstoffen. Bei den weiteren Betrachtungen wurde deshalb das Ulmer Verfahren mit den sehr guten Entnahmewirkungen als Referenzanlage betrachtet. Die Verfahrenskombination ist die teuerste Variante, so dass sich mit deren Ansatz bei den erforderlichen Aufwendungen die höchsten Kosten ergeben.

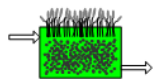
### 4.2.3 Technische Umsetzung bei der Regenwasserbehandlung

Im SchussenAktiv*plus* Projekt sind in Ravensburg und Tettang Untersuchungen zur weitergehenden Entnahme von Spurenstoffen bei der Regenwasserbehandlung durchgeführt worden. In Ravensburg wurde versucht, die Abscheidung partikulärer Stoffe durch den Einsatz eines Lamellenklärsers in Verbindung mit einem RÜB zu verbessern, indem die hydraulische Belastung deutlich minimiert wird. In Tettang ist seit zehn Jahren ein Retentionsbodenfilter zur weitergehenden Behandlung der Abläufe aus dem RÜB in Betrieb (Abb. 101). Dessen aktuelle Entnahmewirkung auf die Spurenstoffe wurde ebenfalls untersucht.



#### Lamellenklärer

- Feststoffrückhalt ⇨ deutliche Wirkung ab  $q_A < 2$  m/h feststellbar  
RÜB Mariatal großtechnisch  $q_A = 9$  m/h
- Spurenstoffe ⇨ zusätzliche Entnahmewirkung vernachlässigbar
- Alternative ⇨ vorhandenes Volumen optimal nutzen  
Entlastungsmenge minimieren  
Betrieb optimieren



#### Retentionsbodenfilter

- Feststoffrückhalt ⇨ AFS im Ablauf  $< 5$  mg/l, keine Trübung feststellbar
- CSB-Entnahme ⇨  $\eta_{CSB} \geq 90$  % (Zul. 127 mg/l → Abl. 7 mg/l)
- SAK 254 ⇨  $\eta_{SAK} 40 - 50$  %
- Spurenstoffe ⇨  $\eta_{Pharmaka}$  bis 80 %  
( $\Sigma$  Pharmaka)
- ⇨ **RBF seit 10 Jahren in Betrieb.**

Abb. 101: Spurenstoffe RÜB / Lamellenklärer und Retentionsbodenfilter

Die ermittelten Ergebnisse belegen, dass die zusätzliche Feststoffentnahme durch eine verminderte Flächenbelastung (Lamellenklärer) sich nicht wesentlich auf die Spurenstoffentnahme auswirkt. Die betreffenden Partikel sind offensichtlich wesentlich kleiner als die entnommenen.

Im Vergleich dazu ist der Retentionsbodenfilter (RBF) wesentlich besser zu beurteilen. In ihm werden nicht nur die abfiltrierbaren Stoffe sehr weitgehend vermindert, sondern auch noch gelöst vorliegende Substanzen sehr gut eliminiert. Der als Hilfsgröße für die organische Belastung verwendbare spektrale Absorptionskoeffizient bei 254 nm ( $SAK_{254}$ ) nimmt im Retentionsbodenfilter deutlich ab. Damit einhergehend findet eine Verminderung der Spurenstoffe statt. Auf welchen Mechanismen und Wechselwirkungen diese beruht, ist derzeit noch nicht endgültig geklärt. Die Filterschicht des RBF wird aktuell untersucht. Im Wesentlichen dürften die Hauptmechanismen darauf beruhen, dass sowohl eine Adsorption von Spurenstoffen an die im Filterkörper sich ansammelnden oder dort bereits vorhandenen Feststoffe stattfindet, und parallel dazu auch ein biologischer Abbau stattfindet.

### **Auswahl für die weiteren Betrachtungen**

Bei den weiteren Berechnungen wurde für die technische Umsetzung von Verfahren zur Spurenstoffelimination bei der Regenwasserbehandlung der Retentionsbodenfilter als das Verfahren der Wahl betrachtet.

Bei der Auslegung der Anlagen wurden die Bemessungsgrößen verwendet, die beim RBF in Tettngang zur Anwendung kamen. Sie bieten in Verbindung mit der dortigen Betriebsweise zumindest die Gewähr, dass nach einer längeren Betriebszeit noch sehr gute Ergebnisse erzielt werden.

## **4.2.4 Ansätze und Annahmen für die Bilanzierung**

### **Abwasser- und Regenwassermengen**

Der Schmutzwasseranfall wurde mit 100 L pro EW und Tag angesetzt. Der zugehörige Fremdwasseranteil mit 80 L pro EW und Tag (ca. 45 %) des Trockenwetterabflusses. Das in die Kläranlage gelangende und von befestigten Flächen abfließende Regenwasser wurde ebenfalls mit 100 L pro EW und Tag angenommen.

Der Ansatz für die Regenwassermenge errechnet sich bei der gegebenen befestigten Fläche bei einem zu 72 % abfließenden Jahresniederschlag von 1.100 mm.

Insgesamt fallen im Einzugsgebiet der Schussen ca. 41 Mio. m<sup>3</sup> Abwasser an. Davon gelangen ca. 34 Mio. m<sup>3</sup> oder ca. 83 % zur Kläranlage. Die restlichen ca. 17 % oder ca. 7

Mio. m<sup>3</sup> werden an den Anlagen zur Regenwasserbehandlung direkt in das Gewässer abgeleitet. In der ausgeleiteten Menge sind ca. 4 % Schmutz- und Fremdwasser enthalten und ca. 40 % des Niederschlagsabflusses.

**Berücksichtigte technische Verfahren**

In den Kläranlagen wird zur Spurenstoffelimination das Ulmer Verfahren umgesetzt. Es wird zwischen der Nachklärung und dem Flockungsfilter mit eigener Adsorptions- und Sedimentationsstufe zwischengeschaltet. Die in den großtechnischen Anlagen angewandten Bemessungsansätze werden bei der Verweilzeit in der Adsorptionsstufe (ca. 1,5 h) und bei der Flächenbeschickung des Absetzbeckens (max. 2 m/h) übernommen.

Bei der Regenwasserbehandlung wird ein Retentionsbodenfilter (RBF) bei einem Drittel der Regenüberlaufbecken (40 von 114 Becken) vorgesehen. Die Bemessung des RBF orientiert sich an dem Beispiel Tettngang (ca. 2 m<sup>3</sup> RBF je m<sup>3</sup> RÜB, ergibt bei einem Einstau von maximal 1 m eine Fläche von 2 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> RÜB).

**Belastung des Abwassers**

Die Beschaffenheit des Abwassers im Ablauf der Vorklärung und im Ablauf der RÜB wird aus den ermittelten Analyseergebnissen abgeleitet. Da die Ergebnisse sehr unterschiedlich ausgefallen sind, wird von den in Tab. 18 aufgeführten Mittelwerten ausgegangen.

Tab. 18: Spurenstoffbelastung des Abwassers / Annahmen

Bezug Spurenstoffbelastung <sup>1)</sup>	Ablauf Vorklärung <sup>2)</sup>	Entnahme Kläranlage <sup>3)</sup> %	Ablauf RÜB <sup>4)</sup>
1H-Benzotriazol <sup>5)</sup> ng/L	11.300	64	1.300
Carbamazepin <sup>6)</sup> ng/L	900	3	130
Diclofenac <sup>7)</sup> ng/L	2.400	34	200
lomeprol <sup>8)</sup> ng/L	32.000	83	2.300
E-Coli <sup>9)</sup> 10 <sup>3</sup> EC/100 ml	3.400	99,8	900

<sup>1)</sup> Werte basieren auf Messergebnissen aus dem SchussenAktivplus Projekt / Abschätzung  
<sup>2)</sup> In Merklingen wurden Ergebnisse aus dem Rohabwasser verwendet (kein VKB)  
<sup>3)</sup> Berechnet aus Differenz Ablauf VKB / Ablauf Filter  
<sup>4)</sup> Verwendet wurden der Ablauf am RÜB Mariatal und der Zulauf zum RBF Tettngang  
<sup>5)</sup> Korrosionsschutzmittel <sup>6)</sup> Antiepileptikum <sup>7)</sup> Schmerzmittel <sup>8)</sup> Röntgenkontrastmittel  
<sup>9)</sup> Keimbelastung am Beispiel von *Escherichia coli* (Indikator für fäkale Verunreinigungen)

In die aufgeführten Ansätze gingen die Daten aus den Kläranlagen Langwiese, Eriskirch und Merklingen ein. Verwendet wurden der Ablauf der Vorklärung und die in den bestehenden Kläranlagen zu verzeichnenden Entnahmewirkungen (mechanisch, biologisch, chemisch).

Bei den Regenwasserdaten sind die Messungen von Mariatal und Tettnang im Ablauf der Regenüberlaufbecken eingesetzt worden.

### Erzielbare Reinigungsleistung

Die Reinigungsleistung der Anlagen zur Spurenstoffelimination wurde aus den Ergebnissen der durchgeführten Untersuchungen abgeleitet. Sie sind in Tab. 19 angegeben.

Tab. 19: Entnahmewirkung bezüglich der Spurenstoffe

Verfahrenstechnologie System Spurenstoffentnahme <sup>1)</sup>	PAK Dosierung Ulmer Verfahren Dosierung 10 mg/L <sup>2)</sup>	Retentionsbodenfilter Beispiel Tettnang Behandlung Q <sup>3)</sup>
1H-Benzotriazol <sup>4)</sup> %	60	70
Carbamazepin <sup>5)</sup> %	90	0
Diclofenac <sup>6)</sup> %	95	90
Iomeprol <sup>7)</sup> %	50	70
E-Coli <sup>8)</sup> %	50	98

<sup>1)</sup> Entnahme bezogen auf Ablauf NKB bzw. Ablauf RÜB

<sup>2)</sup> Dosierung Mengen proportional in Ablauf NKB, Rückführung, Ausschleusung in Biologie

<sup>3)</sup> Die anfallende Entlastungsmenge am RÜB wird zu 80 % durch den RBF geleitet

<sup>4)</sup> Korrosionsschutzmittel <sup>5)</sup> Antiepileptikum <sup>6)</sup> Schmerzmittel <sup>7)</sup> Röntgenkontrastmittel

<sup>8)</sup> Keimbelastung am Beispiel der Escherichia Coli (Indikator für fäkale Verunreinigungen)

Die angegebenen Entnahmewirkungen bei der Dosierung von Pulverkohle werden in allen 19 Kläranlagen angesetzt. Die Wirkung des Retentionsbodenfilters wird für 40 Anwendungsfälle angenommen, bei denen unter Beachtung der Randbedingungen (Örtlichkeiten, Platzverhältnisse) ein derartiges Bauwerk technisch umsetzbar erscheint.

## 4.2.5 Kosten

### Investitionskosten

Für eine 100.000 EW Anlage wurden entsprechende Einheiten bemessen, die technische Ausrüstung konzipiert und dafür die Kosten ermittelt. Die in Abb. 102 aufgeführten Systeme behandeln immer das gesamte Abwasser.

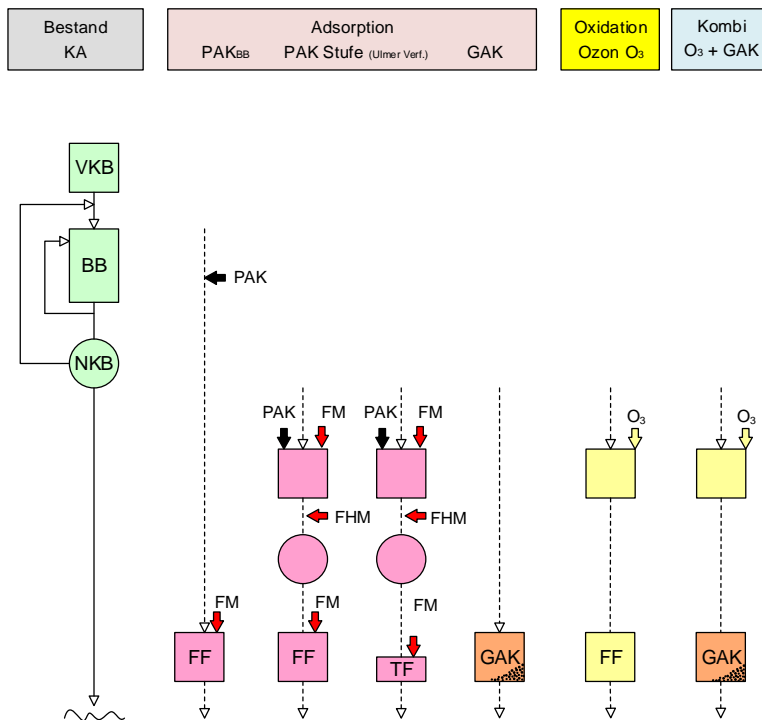


Abb. 102: Betrachtete Verfahren und Kombinationen. (KA: Kläranlage; PAK: Pulverisierte Aktivkohle; GAK: granuliert Aktivkohle; VKB: Vorklärung; BB: Belebung; NKB: Nachklärung; FF: Flockungsfilter; FM: Fällmittel, FHM: Flockungshilfsmittel; TF: Tuchfilter

### Betriebskosten

Bei den Betriebskosten wurden alle entstehenden Kosten berücksichtigt. Dies sind die Ausgaben für das Personal, die Aufwendungen für die Energie, die Verbrauchsmittel (Aktivkohle, Fällmittel, Flockungshilfsmittel, Sauerstoff), die Schlammentsorgung sowie der Aufwand für die Wartung und Instandhaltung.

Für jedes Verfahren wurden getrennt die Betriebsaufwendungen ermittelt. Sie wurden in acht Bereiche unterteilt und jeweils die in der Praxis relevanten spezifischen Kosten angesetzt:

- Personal 60.000 €/a, Energie 0,25 €/kWh, PAK 2,50 €/kg, FHM 10 €/kg Wirksubstanz
- Schlamm 70 €/t Trockensubstanz, GAK 1,80 €/kg, Sauerstoff 0,20 €/kg
- Wartung / Instandhaltung 0,5 % Bau, 2,0 % Maschine, 1,0 % EMSR (Elektro-, Mess-, Steuer-, Regeltechnik)



## Jahreskosten

Aus den Investitionskosten und den Betriebsaufwendungen ergeben sich die Jahreskosten. Sie beinhalten die Annuität aus der Finanzierung der Investition sowie alle betrieblichen Ausgaben. Bei den Investitionen wurden keine Förderanteile in Abzug gebracht. Die angegebenen Kosten beziehen sich immer auf den gesamten Investitionsaufwand. Für die Abschreibungsdauer für die Abnutzung (AfA) wurden unterschiedlich lange Zeiträume angesetzt. Für die Bautechnik 30 Jahre, bei der maschinentechnischen Ausrüstung 15 Jahre und bei den EMSR Einrichtungen 10 Jahre. Der Zinssatz wurde mit 3 % berücksichtigt. Unter diesen Randbedingungen ergeben sich Annuitäten um 6 %.

Für die angegebenen Verfahren und Verfahrenskombinationen ergeben sich die in Tab. 20 aufgeführten Kosten für die Investition und den Betrieb. Der Vergleich untereinander zeigt, wie sich die Aufwendungen verschieben. Der spezifische Aufwand erhöht sich mit kleinerer Ausbaugröße und kann bei 10.000 EW großen Kläranlagen um den Faktor 2 höher sein. Bei den Betriebskosten ist dies nicht in dem Umfang der Fall.

Mit angegeben ist für die Jahreskosten auch der spezifische Aufwand je m<sup>3</sup> Trinkwasser. Er ist in der Regel um den Faktor drei höher als der Aufwand für das Abwasser, weil dieses neben Schmutzwasser auch noch Fremd- und Regenwasser enthält. Aus den spezifischen Kosten ergibt sich der Aufwand pro Einwohnerwert und Jahr. Demnach müsste eine vierköpfige Familie ca. 50 € im Jahr für die weitergehende Spurenstoffelimination aufwenden, wenn alle Einrichtungen neu gebaut werden müssten.

Tab. 20: Investitions-, Betriebs- und Jahreskosten sowie spezifische Kosten (100 TEW). Abk.: EW: Einwohner, Triwa: Trinkwasser,  $\eta$  Spu.stoffe: Eliminationsrate von Spurenstoffen

Bestand KA	Adsorption			GAK	Oxidation Ozon O <sub>3</sub>	Kombi O <sub>3</sub> + GAK
	PAK <sub>BB</sub>	PAK Stufe (Ulmer Verf.) Raumfilter    Tuchfilter				
<b>Investition</b>						
Mio. €	6,7	12,2	9,9	7,1	8,9	9,8
T€/a	409	723	611	416	549	591
<b>Betrieb</b>						
T€/a	770	647	640	752	561	798
<b>Jahreskosten</b>						
T€/a	1.179	1.370	1.251	1.168	1.110	1.389
Ct/m <sup>3</sup> Triwa	26,8	31,1	28,4	26,6	25,2	31,6
€/EW·a	11,8	13,7	12,5	11,7	11,1	13,9
<b><math>\eta</math> Spu.stoffe</b>						
%	80	90	90	80	90	95

In der tabellarischen Darstellung in Tab. 20 sind zur Orientierung auch die Entnahmewirkungen mit angegeben, die sich nach Einschätzung der Bearbeiter in der Praxis ergeben, wenn die derzeit als wesentlich betrachteten Spurenstoffe zusammengefasst und deren Verminderungen zwischen Ablauf Vorklärung und Gesamtablauf gemittelt werden.

Wird kommunales Abwasser in den Kläranlagen in einer vierten Reinigungsstufe weitergehend behandelt, kann die im Ablauf heute vorliegende Restbelastung bei Spurenstoffen und Keimen stark verringert werden. Würden auch die Abläufe an Regenwasserbehandlungsanlagen mit einbezogen und diese in Retentionsbodenfiltern gereinigt, wäre auch dort eine deutliche Verminderung möglich.

### 4.3 Spurenstoffe (Anlagenbewertung)

*Scheurer, Richter, Sacher (Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe)*

Wesentlicher Inhalt dieses Teilprojekts von SchussenAktivplus (Chemische Analytik) war die Untersuchung der chemischen Beschaffenheit von Abwasser-, Mischwasser- und Oberflächenwasserproben sowie von Sedimenten und Fischgewebe, um die direkten Auswirkungen der Ertüchtigung der drei Kläranlagen, des Lamellenklärers sowie des Retentionsbodenfilters (RBF) zur Behandlung von Abläufen aus Regenüberlaufbecken (RÜB) zu zeigen.

Weitere Schwerpunkte innerhalb dieses Teilprojekts waren die Optimierung der Nachweisempfindlichkeit der Analysenverfahren für die Bestimmung von Steroidhormonen in Abwasser- und Oberflächenwasserproben sowie für verschiedene Mikroverunreinigungen in Fischen. Außerdem wurden umfangreiche Versuche zur Probenstabilisierung durchgeführt, die den anderen Projekten in der Fördermaßnahme RiSKWa zur Verfügung gestellt und bei zwei Workshops zur Probenahme und Probenvorbereitung für die chemische und mikrobiologische Analytik präsentiert wurden.

#### *Kläranlage Langwiese*

Zur groben Beurteilung der allgemeinen Wasserqualität sind wasserchemische Summenparameter wichtige Kenngrößen, da sie einfach und häufig vor Ort zu messen sind, und deshalb schnell Aufschluss über die Reinigungsleistung einer Kläranlage geben können. Die biologischen Reinigungsstufen in der Abwasserbehandlung sind in der Lage, diese Parameter bereits sehr effektiv zu reduzieren. Die Elimination von 94 % für den CSB liegt in einem Bereich, wie er auch in anderen Kläranlagen, beispielsweise im Großraum Berlin,

beobachtet wurde (Miehe 2010), obwohl die dortigen Zulaufkonzentrationen die in der Kläranlage Langwiese gemessenen um bis das Vierfache übersteigen. Die absoluten Ablaufkonzentrationen des CSB konnten durch den Ausbau der Kläranlage mit einer Aktivkohlestufe von  $20 \pm 10$  mg/L auf  $11 \pm 6,0$  mg/L reduziert werden und lagen somit unter dem Schwellenwert von 20 mg/L für den CSB gemäß Abwasserabgabengesetz (AbwAG 2014). Auch für den DOC konnte bereits während der biologischen Abwasserreinigung eine deutliche Reduzierung von fast 90 % festgestellt werden. Die DOC-Ablaufkonzentrationen liegen lt. Jekel et al. (2006) zwischen 5 mg/L und 20 mg/L abhängig von der natürlichen DOC-Hintergrundbelastung. Mit im Mittel  $6,2 \pm 2,0$  mg/L DOC entsprachen die in der KA Langwiese gemessenen Werte diesen Angaben, konnten durch den Einsatz von Pulveraktivkohle jedoch noch weiter auf  $4,0 \pm 0,9$  mg/L reduziert werden.

Die für CSB und DOC gemachten Beobachtungen treffen ebenfalls auf den spektralen Absorptionskoeffizienten bei 254 nm ( $SAK_{254}$ ) und die Trübung zu: (a) die Elimination in der biologischen Reinigungsstufe ist bereits sehr ausgeprägt, (b) eine weitere Reduzierung im ebenfalls bereits vorhandenen Sandfilter fand nicht statt und (c) eine weitere, jedoch nicht signifikante Reduzierung der absoluten Ablaufwerte durch den Einsatz von Pulveraktivkohle war zu beobachten. Der  $SAK_{254}$  ist ein Maß für die UV-Absorption gelöster organischer Kohlenstoffverbindungen. Da vor allem ungesättigte Verbindungen Strahlung bei 254 nm absorbieren, zeigt der Parameter insbesondere gelöste aromatische Kohlenstoffverbindungen an. In Kombination mit dem DOC kann der  $SAK_{254}$  für die Berechnung des spezifischen UV Absorptionskoeffizienten (SUVA) herangezogen werden ( $SAK_{254}$  geteilt durch DOC). Ein hoher SUVA zeigt einen hohen Anteil aromatischer Verbindungen an. Der Vergleich der SUVA-Werte vor ( $2,3 \text{ L (mg m)}^{-1}$ ) und nach Ausbau ( $2,0 \text{ L (mg m)}^{-1}$ ) der Kläranlage deutet auf eine bevorzugte Entnahme von aromatischen Verbindungen durch die eingesetzte Pulveraktivkohle hin.

In Abb. 103 ist eine Auswahl organischer Spurenstoffe verschiedener Stoffgruppen dargestellt, die eine 100 %ige Detektionshäufigkeit im Kläranlagenzulauf aufwiesen. Für die meisten der Verbindungen findet bei der herkömmlichen Abwasseraufbereitung keine vollständige Elimination statt, und sie werden über die gesamte Kläranlagenpassage nur bis zu 50 % eliminiert. Eine Ausnahme bildet das nicht-steroidale Antirheumatikum Ibuprofen, das nur in zwei Proben noch mit wenigen ng/L im Ablauf nachzuweisen war.

Der Einsatz von Pulveraktivkohle führte insbesondere für die nur mäßig abbaubaren Verbindungen Carbamazepin, Metoprolol, 1*H*-Benzotriazol und Diclofenac zu einer deutlich besseren Entnahmeleistung von über 80 % (Abb. 104). Für den sehr polaren künstlichen Süßstoff Acesulfam konnten die Ablaufwerte ebenfalls verringert werden, jedoch nicht in dem Ausmaß wie für die zuvor erwähnten Verbindungen.

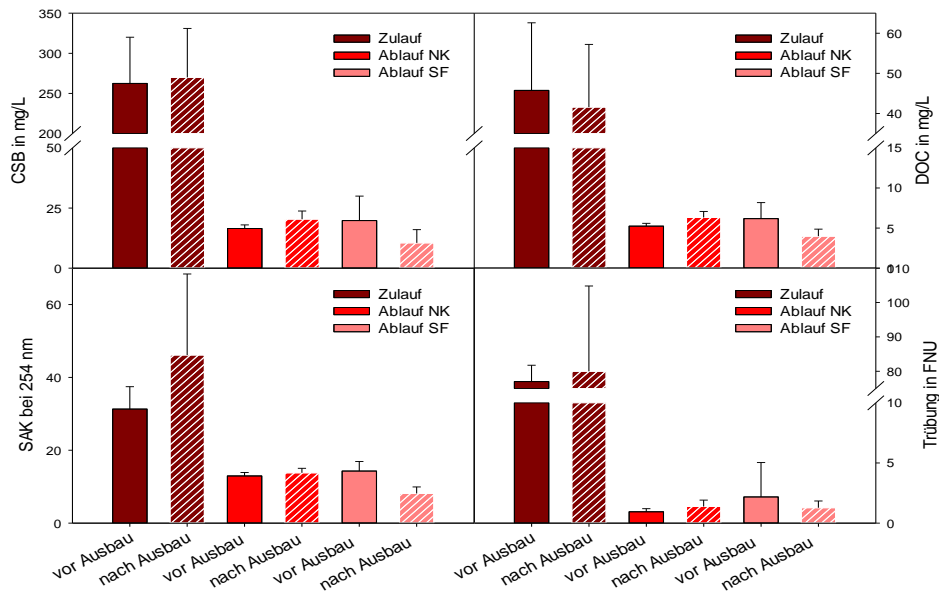


Abb. 103: Wichtige wasserchemische Parameter (CSB, SAK<sub>254</sub>, DOC und Trübung) vor (gefüllte Balken) und nach dem Ausbau (gestreifte Balken) der Kläranlage Langwiese mit einer Pulveraktivkohlestufe. (NK: Nachklärung; SF: Stufe nach Aktivkohle und Sandfilter)

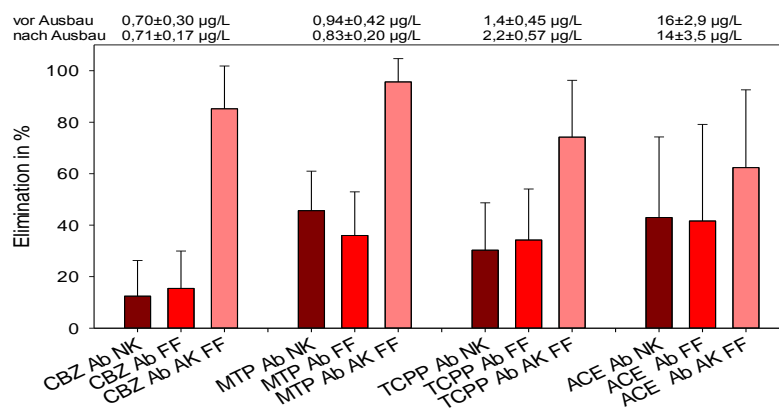
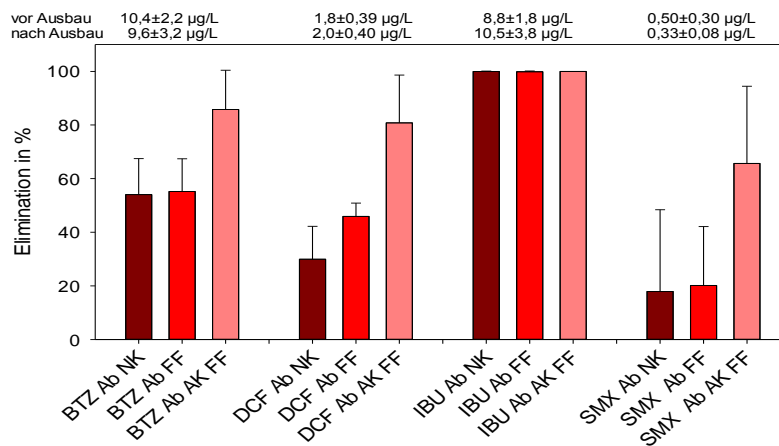


Abb. 104: Elimination organischer Spurenstoffe in der biologischen Stufe (Ab NK), über die gesamte Kläranlagenpassage (Ab FF) sowie nach Einführung einer Pulveraktivkohlestufe (Ab AK FF). CBZ=Carbamazepin, MTP=Metoprolol, TCPP=Tris(2-chlorpropyl)phosphat, ACE=Acesulfam, BTZ=1H-Benzotriazol, DCF=Diclofenac, IBU=Ibuprofen, SMX=Sulfamethoxazol. Werte über der Abbildung geben die mittlere Zulaufkonzentration vor und nach dem Ausbau der Kläranlage an

Die Elimination von Acesulfam bewegte sich in einem sehr weiten Bereich und lag zwischen -11 % bis 87 % in der biologischen Stufe, was Grund für die große Standardabweichung ist. Acesulfam wurde in der wissenschaftlichen Literatur als weitgehend persistent beschrieben (Buerge et al. 2009; Scheurer et al. 2011), es wurde jedoch auch bereits ein Abbau von 20 – 40 % beobachtet (Scheurer et al. 2009a). Die vorliegenden Werte zeigen, dass das heterogene Abbauverhalten nicht nur zwischen einzelnen Kläranlagen zu beobachten ist, sondern auch innerhalb eines Systems auftritt. Welche Randbedingungen bzw. Parameter den biologischen Abbau positiv beeinflussen, ist Gegenstand laufender Forschungsaktivitäten.

### Antibiotikawirkstoffe

Innerhalb des Projekts wurden insgesamt 37 Antibiotikawirkstoffe insbesondere aus den Verbindungsklassen Sulfonamide, Makrolide, Tetracycline, Fluorchinolone und Penicilline untersucht. Acht dieser Verbindungen konnten mindestens einmal im Zulauf der Kläranlage Langwiese in einer Konzentration über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Sulfamethoxazol, das auch als Leitparameter innerhalb des Projekts betrachtet wurde, sowie Trimethoprim, das oft in Kombination mit Sulfamethoxazol verabreicht wird (Cotrimoxazol), hatten dabei eine 100 %ige Detektionshäufigkeit im Zulauf. Die mittleren Konzentrationen lagen bei  $0,40 \pm 0,20 \mu\text{g/L}$  bzw.  $0,16 \pm 0,04 \mu\text{g/L}$ . Durch die biologische Abwasserreinigung wurden beide Wirkstoffe nur unzureichend entfernt (18 % Elimination für Sulfamethoxazol und 40 % für Trimethoprim). Der Einsatz von Pulveraktivkohle führte für Sulfamethoxazol zu einer deutlichen Verbesserung der Elimination auf insgesamt 65 % über die gesamte Kläranlagenpassage. Sulfamethoxazol war die einzige antibiotisch wirksame Verbindung, die überhaupt noch im Kläranlagenablauf nach dem Einsatz von Pulveraktivkohle nachgewiesen wurde. Trimethoprim konnte nach der Ertüchtigungsmaßnahme nicht mehr im Kläranlagenablauf detektiert werden. Auffallend waren die häufigen Befunde und hohen Konzentration (max.  $1,8 \mu\text{g/L}$ ) von Ofloxacin im Zulauf der Kläranlage. Auch hier führte der Einsatz von Pulveraktivkohle dazu, dass kein Befund über der Bestimmungsgrenze mehr im Ablauf der Kläranlage zu verzeichnen war, wohingegen Ofloxacin vor dem Ausbau noch im Mittel mit  $0,36 \pm 0,09 \mu\text{g/L}$  nachzuweisen war.

### **Alternative Auswertung gemäß dem Querschnittsthema Abwassertechnik am Beispiel der Kläranlage Langwiese**

Im Rahmen des RiSKWa-Querschnittsthemas Abwassertechnik wurden alternative Möglichkeiten für die Berechnung der Spurenstoffelimination erarbeitet. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass in der Vergangenheit keine einheitliche Regelung zum Umgang mit Werten unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze bestand. Grundsätzlich gilt demnach, dass keine Elimination zu errechnen ist, wenn der Zulaufwert analytisch nicht quantifizierbar ist.

In Fällen, in denen die Substanz in Zu- und Ablauf bestimmbar ist, kann eine eindeutige Elimination berechnet werden (Abb. 105, BSP vor Ausbau und STL vor Ausbau). Ist ein Zulaufwert für einen Parameter vorhanden, dieser aber im korrespondierenden Ablauf nicht mehr bestimmbar, ist das erarbeitete Verfahren anzuwenden. Die optimistische Auswertung sieht vor, dass von einer vollständigen Umwandlung bzw. Entnahme der Verbindung ausgegangen werden kann, und null als Rechenwert herangezogen wird. Somit wird in diesem Fall die errechnete Elimination immer 100 % betragen.

Bei der konservativen Auswertung wird die tatsächliche Bestimmungsgrenze und nicht die Hälfte dieser, wie es in der Vergangenheit häufig praktiziert wurde, als Rechengröße herangezogen. Die berechnete Elimination hängt in diesem Fall sowohl vom Zulaufwert als auch von der Höhe der Bestimmungsgrenze ab und ist umso geringer, je weiter die beiden Zahlenwerte beieinanderliegen. Zwischen optimistischer und konservativer Herangehensweise erhält man als Folge einen Eliminationsbereich in dem sich die wahre Elimination befindet.

Dies ist in Abb. 105 für die Verbindungen Fenofibrinsäure vor und nach dem Ausbau sowie für Bisoprolol und Sotalol nach dem Ausbau der Kläranlage gut zu erkennen. Auch für Ibuprofen bildet sich ein Eliminationsbereich aus, jedoch ist dieser durch die hohen Zulaufkonzentrationen sehr schmal, so dass sich die optimistische und konservative Elimination hier kaum unterscheiden.

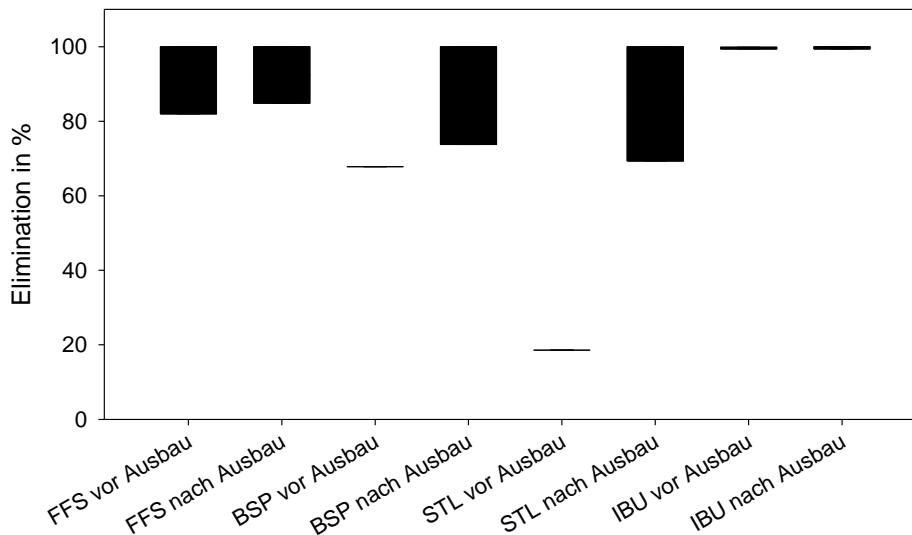


Abb. 105: Eliminationsbereich für ausgewählte Spurenstoffe, erarbeitet vom RiSKWa-Querschnittsthema Abwassertechnik und ausgewertet mit Daten aus dem Projekt SchussenAktiv $plus$ . Alternative Auswertung (optimistisch und konservativ) FFS = Fenofibrinsäure, BSP = Bisoprolol, STL = Sotalol, IBU = Ibuprofen

### Kläranlage Eriskirch

In der Kläranlage Eriskirch wurden ähnliche Zulauf-Konzentrationen für die gemessenen wasserchemischen Parameter beobachtet wie bereits für die Kläranlage Langwiese beschrieben (Abb. 106). CSB und Trübung wurden bereits durch die vorhandene biologische Stufe um mehr als 90 % reduziert, wohingegen die Elimination von DOC und SAK<sub>254</sub> mit 74 % bzw. 63 % geringer war als in der Kläranlage Langwiese. Die bereits sehr guten Trübungswerte konnten durch die verschiedenen zusätzlichen Reinigungsstufen und deren Kombination nicht weiter verbessert werden und lagen meist bei ca. 0,5 FNU. CSB, SAK<sub>254</sub> und DOC zeigen ein ähnliches Muster. Grundsätzlich werden die niedrigsten Ablaufwerte bei einer Kombination von Ozonung mit anschließender Sand- und Aktivkohlefiltration erreicht. Auch die Kombination einer Ozonung mit anschließender Aktivkohlefiltration führte zu ähnlich guten Ergebnissen.

Insbesondere beim DOC ist zu erkennen, dass eine Ozonung mit anschließender Sandfiltration nur zu einer Transformation der Wasserinhaltsstoffe führt und keine wirkliche Entnahme wie bei der Adsorption an Aktivkohle stattfindet. Die Aktivkohle in Eriskirch wurde in granulierter Form in einem Filter eingesetzt und somit nicht ständig dem Abwasser neu zudosiert. Als Folge nahm mit zunehmendem Abwasserdurchsatz bzw. zunehmender Beladung der Aktivkohle die Adsorptionskapazität der Kohle ab, was sich in der höheren Standardabweichung in Abb. 106 zeigt.

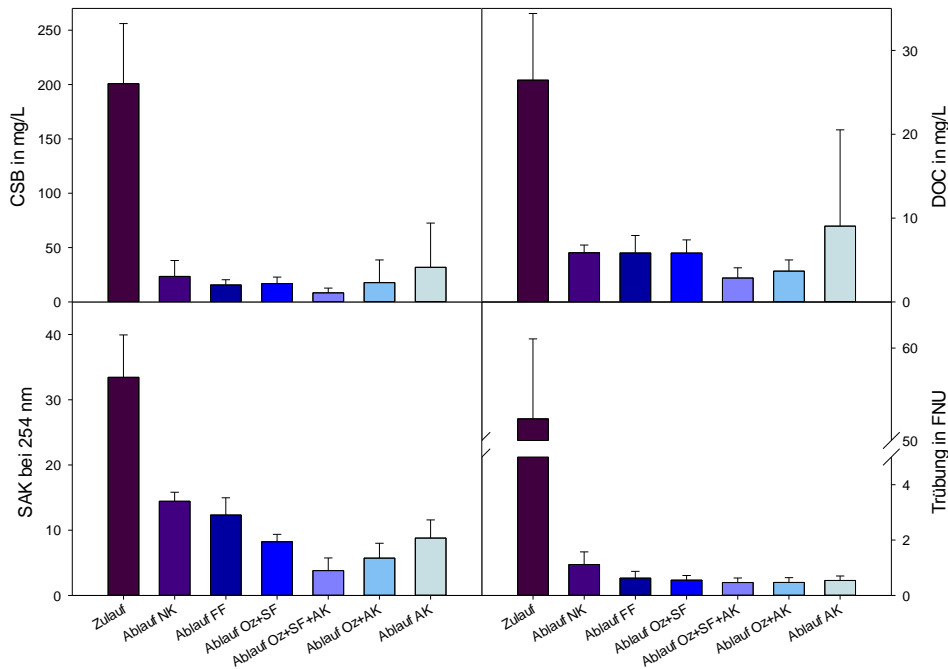


Abb. 106: Verhalten wichtiger wasserchemischer Parameter (CSB, SAK<sub>254</sub>, DOC und Trübung) in der Kläranlage Eriskirch

Die Konzentrationen verschiedener Spurenstoffe, deren Entfernung aus dem Abwasser durch den Einsatz von Aktivkohle verbessert wird, korrelierten folglich auch negativ mit zunehmender Standzeit der Kohlefilter (Abb. 107). Die Entfernung korrelierte dabei ebenfalls gut mit der UV-Absorption bei 254 nm. Ähnliche Beobachtungen wurden auch von Zietzschmann et al. (2014) gemacht, die über eine gute Korrelation insbesondere zwischen Carbamazepin und Diclofenac mit der UV<sub>254nm</sub>-Absorption berichteten. Die Autoren stellten ebenfalls fest, dass mit der Messung der UV-Absorption auch überschlägig allgemeine Aussagen zur Spurenstoffentfernung gemacht werden können und der Parameter in dieser Hinsicht deutlich geeigneter ist als andere Kennzahlen (z. B. Iodzahl oder Nitrobenzolzahl), mit denen Aktivkohlen im Allgemeinen charakterisiert werden.

In Abb. 108 ist die Elimination ausgewählter Spurenstoffe in der Kläranlage mit den bisherigen Technologien (Ab NK und Ab FF) sowie mittels verschiedener Kombinationen von Ozon, granulierter Aktivkohle und Sandfiltration gezeigt, die im halbtechnischen Maßstab untersucht wurden. Wie bereits in der Kläranlage Langwiese beobachtet, konnten alle vier dargestellten Spurenstoffe durch die konventionelle Abwasserbehandlung nur unzureichend entfernt werden (< 50 % Elimination).



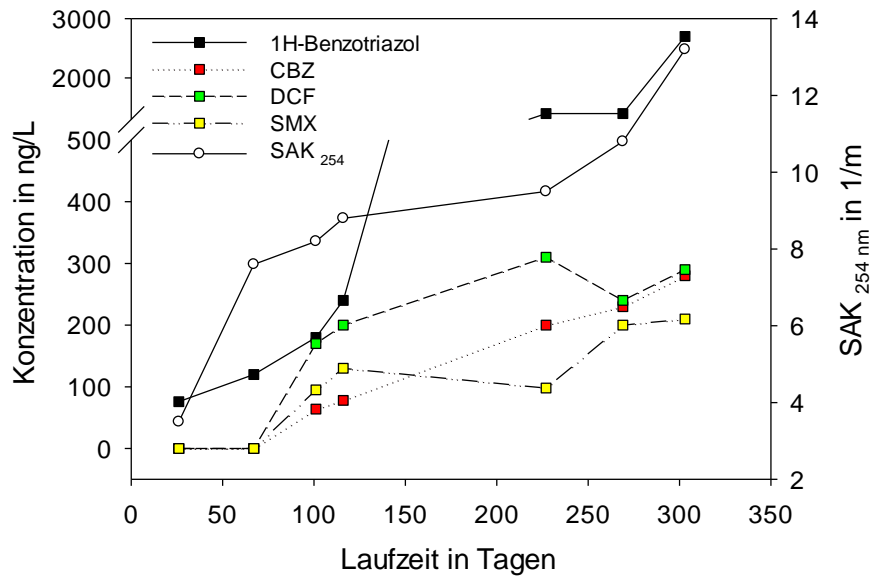


Abb. 107 Konzentration ausgewählter Spurenstoffe (CBZ=Carbamazepin, DCF=Diclofenac, SMX=Sulfamethoxazol) sowie Trübungswerte im Ablauf eines Aktivkohlefilters in der Kläranlage Eriskirch in Abhängigkeit von der Filterlaufzeit. Der Kurvenverlauf von 1H-Benzotriazol ergibt sich aus der Achsenunterbrechung.

In seltenen Fällen kann es sogar zu einer Erhöhung der Konzentration bestimmter Spurenstoffe kommen. Als eine mögliche Erklärung für höhere Carbamazepin-Ablaufwerte im Vergleich zum Kläranlagenzulauf wurde die Spaltung von Konjugaten dieser Verbindungen während der Abwasserreinigung diskutiert (Miao et al. 2005; Radke et al. 2009; Ternes 1998). Carbamazepin neigt zu einer geringen Sorption an Klärschlamm, so dass in diesem Fall auch eine Remobilisierung nicht ausgeschlossen werden kann.

Grundsätzlich konnte die höchste Elimination durch die Kombination sämtlicher zusätzlicher Behandlungstechniken erreicht werden. Auch ohne Sandfiltration waren durch eine Ozonung mit anschließender Aktivkohlefiltration vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Insgesamt konnte für jede Verbindung bei allen getesteten Verfahrenskombinationen eine Verringerung der Ablaufwerte erzielt werden. Der Erfolg eines alleinigen Einsatzes von Ozon oder Aktivkohle hängt stark von der chemischen Struktur des entsprechenden Spurenstoffs ab. So wird aus Abb. 108 deutlich, dass Carbamazepin, Diclofenac und Sulfamethoxazol mittels Ozon in hohem Maße eliminiert werden können. Wie oben bereits erwähnt, findet bei der Ozonung in den meisten Fällen lediglich eine Transformation des Ausgangsmoleküls statt. Die strukturelle Aufklärung der entstehenden Ozonungsprodukte ist aufwendig, und nur in wenigen Fällen sind diese bislang wie bei Carbamazepin identifiziert worden (McDowell et al. 2005), obwohl bekannt ist, dass das Ozonmolekül bevorzugt an bestimmten Strukturelementen (z. B. Doppelbindungen, tertiären Aminen) am Molekül angreift. Auch mittels granulierter Aktivkohle lassen sich alle drei Verbindungen gut aus dem Abwasser entfernen. Die niedrigere mittlere Elimination ist lediglich auf eine abnehmende Entnahme

gegen Ende der Filterlaufzeit zurückzuführen. Mit neuer Aktivkohle lassen sich diese drei pharmazeutischen Wirkstoffe dagegen sehr gut entfernen und waren im vorliegenden Fall auch nach knapp 70 Tagen Filterlaufzeit noch nicht über der Bestimmungsgrenze im Ablauf der Säule nachzuweisen. Für 1H-Benzotriazol war die Elimination stets besser, wenn granuliert Aktivkohle angewendet wurde und lag im Mittel über 90 %, während durch die Ozonung nur zwischen 70 % und 75 %, bezogen auf den Zulauf, erreicht wurden.

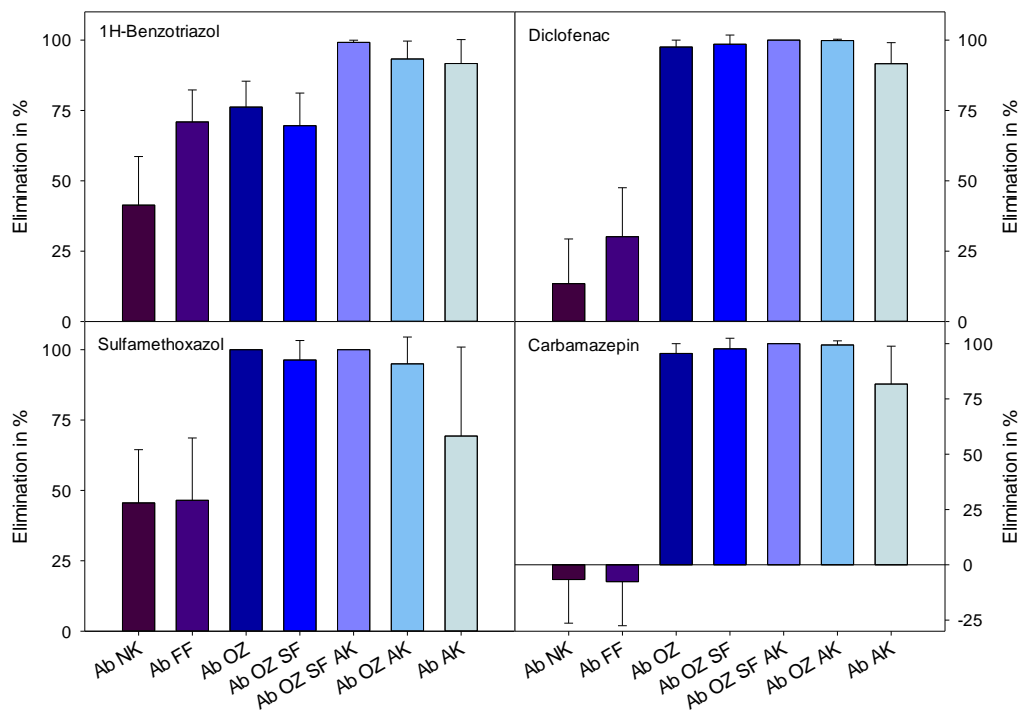


Abb. 108: Mittlere Elimination mit Standardabweichung für ausgewählte Spurenstoffe in der Kläranlage Eriskirch

Die Kläranlage in Eriskirch wies im gesamten Projektverlauf deutlich erhöhte Zulaufkonzentrationen an Perfluoroktansulfonat (PFOS) auf, die die Konzentrationen in der Kläranlage Langwiese um das sechsfache überstiegen (Abb. 109). Perfluoralkylcarboxylate (PFAC) und -sulfonate (PFAS) gehören zu den Vertretern der anionischen perfluorierten Tenside und wurden in zahlreichen Studien in Abwässern und Oberflächengewässern nachgewiesen. PFOS und Perfluoroktanoat (PFOA) können als Indikatorverbindungen betrachtet werden und wurden deshalb innerhalb des Projekts in die Liste der Leitparameter aufgenommen. PFOS wurde gemäß des *Stockholmer Übereinkommens über persistente organische Schadstoffe* als langlebiger organischer Schadstoff eingestuft (engl. POP, *persistent organic pollutant*). Außerdem wurde das Inverkehrbringen und die Anwendung von PFOS durch die EU-Richtlinie 2006/122/EG (EU 2006) weitgehend verboten. Für solche persistenten Verbindungen, für die zudem toxische Eigenschaften nachgewiesen sind, ist

eine Verbesserung der Reinigungsleistungen von Kläranlagen durch eine vierte Reinigungsstufe im besonderen Maße anzustreben. Dass die Verbindung an feste Matrices sorbiert, ist aus der wissenschaftlichen Literatur bekannt (Higgins et al. 2005). Der Rückgang der PFOS-Konzentrationen in der biologischen Stufe der Kläranlage Eriskirch ist somit in erster Linie einer Sorption an den Klärschlamm und nicht einem biologischen Abbau zuzuschreiben. Allerdings kann dieser Effekt durch den Abbau von Vorläufersubstanzen zu PFOS überlagert werden (Sinclair und Kannan 2006). Die Elimination von PFOS konnte durch die weiteren Aufbereitungsschritte und dabei insbesondere durch den Einsatz von Aktivkohle verbessert werden. Die PFOS-Ablaufkonzentrationen lagen jedoch weiterhin auf einem Niveau, wie sie in den Kläranlagen Langwiese und Merklingen im Zulauf gemessen wurden. PFOA und Perfluorbutanoat (PFBA) konnten dagegen nur in weniger als 20 % der Zulaufproben in Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden.

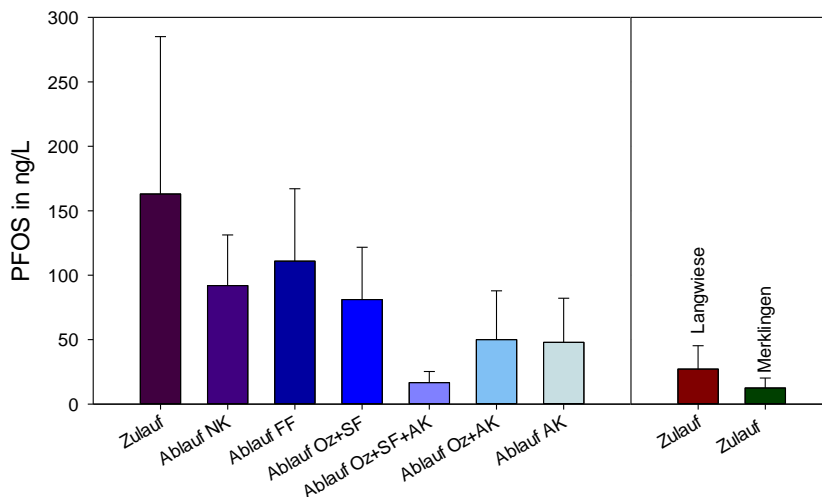


Abb. 109: Mittelwerte mit Standardabweichung für PFOS in der Kläranlage Eriskirch sowie Zulaufwerte in den Kläranlagen Langwiese und Merklingen

### *Kläranlage Merklingen*

Der Zulauf der Kläranlage Merklingen unterschied sich bereits visuell deutlich von denen der anderen untersuchten Kläranlagen, indem er deutlich trüber und stärker gefärbt war. Die Zulaufwerte der wasserchemischen Parameter bestätigen, dass das dortige Abwasser weniger verdünnt ist. CSB, DOC, Trübung und  $SAK_{254}$  wiesen durchschnittlich zwei bis drei Mal so hohe Werte auf, wie dies in den Kläranlagen Langwiese und Merklingen der Fall war. Obwohl eine ähnlich gute Elimination dieser Parameter in der biologischen Stufe zu beobachten war, lagen die mittleren absoluten Ablaufwerte der Nachklärung auf Grund der hohen Zulaufwerte deutlich über denen der anderen beiden Kläranlagen. So wurden

beispielsweise 43 mg/L CSB in Merklingen und lediglich 18 mg/L nach der biologischen Stufe in Langwiese gemessen, bei vergleichbarer prozentualer Eliminationsleistung von 92 % bzw. 95 %. Bei einer Probenahme im Mai 2014 wurde neben den in Abb. 110 aufgeführten Probenahmestellen noch eine zusätzliche Probe direkt nach der Ozonung (ohne Langsandsandfiltration) entnommen. Hier war, wie bereits oben erwähnt, zu erkennen, dass die Ozonung lediglich zu einer Transformation von Wasserinhaltsstoffen führt. Als Folge wurde der DOC nur geringfügig von 14 mg/L auf 12 mg/L reduziert. Eine Oxidation von Spurenstoffen führt nicht nur zu einem Rückgang ihrer biologischen Aktivität (Huber et al. 2004; Suarez et al. 2007), sondern ist fast immer mit der Bildung unbekannter Ozonungsprodukte assoziiert. Da die entstehenden Transformationsprodukte in der Regel besser biologisch abbaubar sind als die Ausgangsverbindungen (Alvares et al. 2001), ist eine nachfolgende biologisch aktive Aufbereitungsstufe sinnvoll.

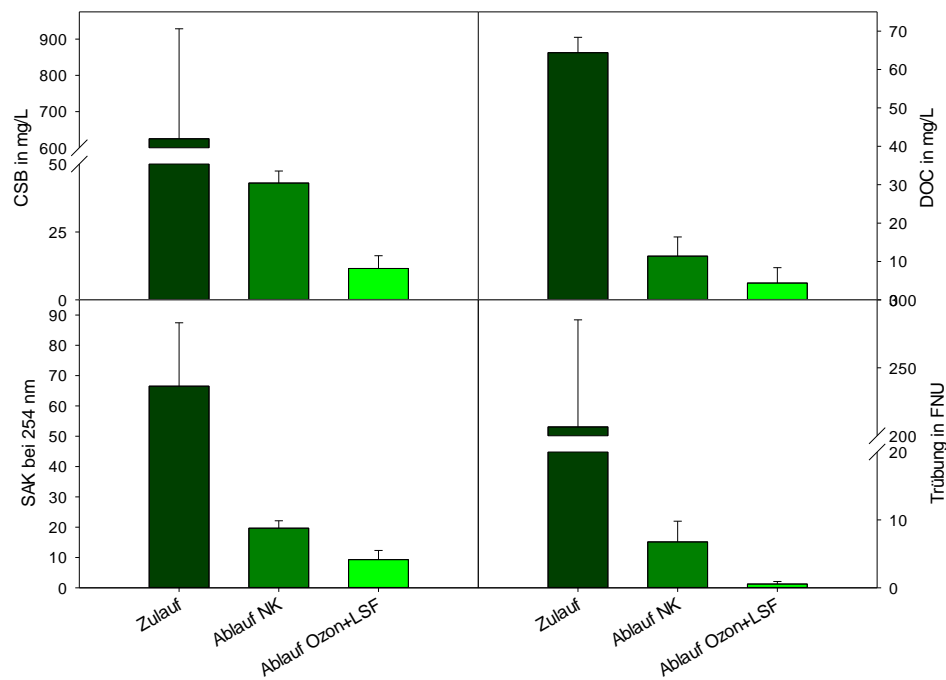


Abb. 110: Verhalten wichtiger wasserchemischer Parameter (CSB, SAK<sub>254</sub>, DOC und Trübung) in der Kläranlage Merklingen

Analysen der Wasserproben aus der Kläranlage Merklingen ergaben für einige Spurenstoffe eine schlechtere Elimination in der biologischen Stufe als dies in den anderen Kläranlagen innerhalb des Projekts beobachtet wurde (Abb. 111). Auffallend war dies insbesondere bei 1H-Benzotriazol und Tris(2-chlorpropyl)phosphat, jedoch war für diese beiden Verbindungen auch eine hohe Standardabweichung vorhanden. Der Einsatz von Ozon in Kombination mit einem Langsandsandfilter war ähnlich effektiv wie in der Kläranlage Eriskirch und insbesondere für biologisch nur sehr unzureichend abgebaute Verbindungen wie

Carbamazepin, Diclofenac, 1*H*-Benzotriazol und Acesulfam eine Option, um die Ablaufkonzentrationen deutlich zu reduzieren. Dass Carbamazepin und Diclofenac auch beim Vorhandensein eines relativ hohen DOC bei Anpassung der Ozondosis noch leicht zu oxidieren sind, wurde durch die gute mittlere Elimination von 80 % bzw. 96 % deutlich. Ebenfalls bestätigt wurde, dass 1*H*-Benzotriazol und Acesulfam bei gleichen Bedingungen schlechter durch Ozon zu entfernen sind.

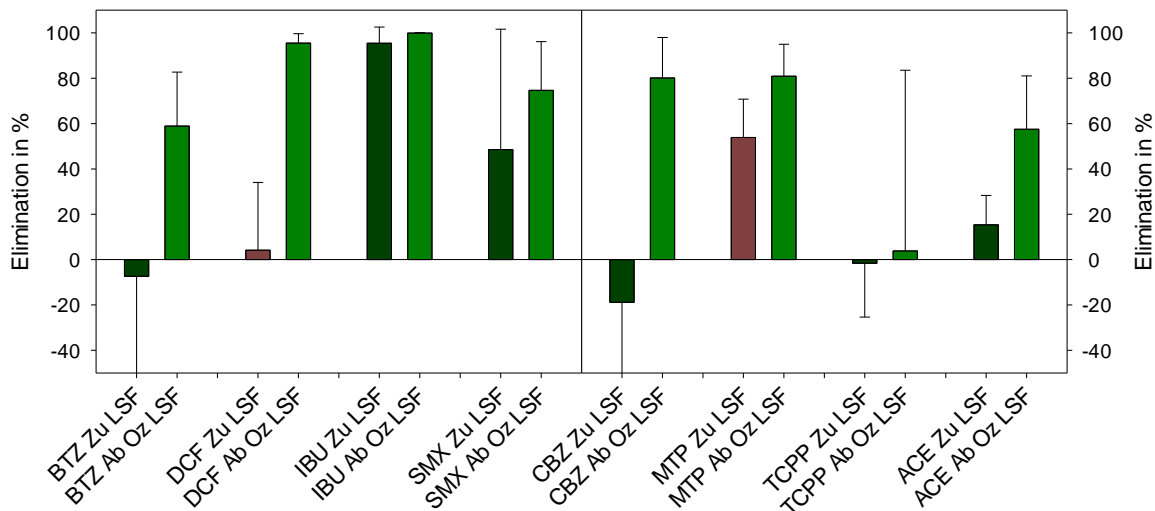


Abb. 111: Mittlere Elimination mit Standardabweichung für ausgewählte Spurenstoffe in der Kläranlage Merklingen. BTZ=1*H*-Benzotriazol, DCF=Diclofenac, IBU=Ibuprofen, SMX=Sulfamethoxazol, CBZ=Carbamazepin, MTP=Metoprolol, TCPP=Tris(2-chlorpropyl)phosphat, ACE=Acesulfam

### *Regenüberlaufbecken Mariatal*

In Deutschland wird in ca. zwei Drittel der Abwassersysteme häusliches und industrielles Abwasser zusammen mit Niederschlagswasser gesammelt (Brombach et al. 2005; Frechen et al. 2006). Dies führt dazu, dass bei Starkregenereignissen die Kanalisation bis zu sieben Mal mehr Wasser aufnehmen muss als dies bei Trockenwetter der Fall ist (Uhl und Dittmer 2005). Die Konsequenz kann eine nicht ausreichende Kapazität von Kanalisation und Kläranlagen sein, so dass angenommen wird, dass 30 % bis 50 % dieses Wasser abgeschlagen werden muss und unbehandelt in die Vorfluter gelangt (Brombach et al. 2005). In diesem Fall gelangen auch solche Spurenstoffe in die Gewässer, die sonst in der Kläranlage biologisch abgebaut werden können oder sorptiv mit dem Klärschlamm entfernt werden. Eine Gegenmaßnahme hierfür sind Regenüberlaufbecken, die überschüssiges Abwasser übergangsweise aufnehmen können, welches nach dem Regenereignis der Kläranlage zugeleitet wird. Der Lamellenklärer (LK) am Regenüberlaufbecken dient zusätzlich dem Rückhalt von Partikeln, was bereits bei den untersuchten wasserchemischen Parametern deutlich wird. Trübung und CSB werden durch den Lamellenklärer leicht

reduziert, jedoch findet bereits vorher im Regenüberlaufbecken ein ebenso deutlicher Rückgang durch die Sedimentation von Partikeln statt. Dies wurde auch durch die Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe (AFS) bestätigt, die im Becken um  $26 \% \pm 33 \%$  und durch den Lamellenklärer um weitere  $34 \% \pm 10 \%$  reduziert wurden. Dies entspricht einem Rückgang von  $51 \text{ mg/L}$  im Zulauf auf  $20 \text{ mg/L}$  im Ablauf des Lamellenklärers. Summenparameter wie DOC und  $\text{SAK}_{254}$ , die ausschließlich gelöste Stoffe repräsentieren, blieben dagegen unverändert (Abb. 112).

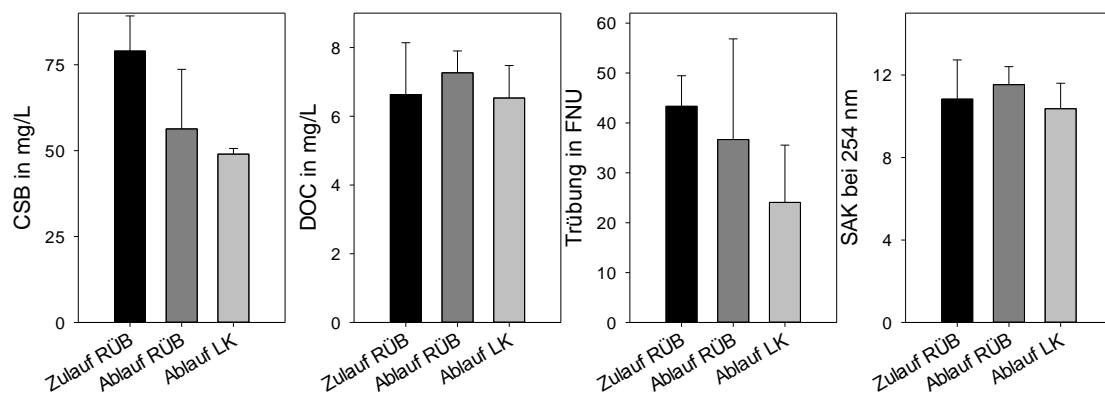


Abb. 112: Verhalten wichtiger wasserchemischer Parameter (CSB,  $\text{SAK}_{254}$ , DOC und Trübung) am RÜB Mariatal

Durch die Verdünnung mit Niederschlagswasser lagen die Zulaufkonzentrationen der analysierten Spurenstoffe im Regenüberlaufbecken ca. um einen Faktor 10 unter denen im Zulauf der Kläranlage Langwiese, in deren Einzugsgebiet das Becken liegt. So betragen beispielsweise die Zulaufkonzentrationen von *1H*-Benzotriazol und Diclofenac  $1,2 \pm 0,2 \mu\text{g/L}$  bzw.  $0,14 \pm 0,07 \mu\text{g/L}$ , wohingegen sie im Kläranlagenzulauf bei  $9,9 \pm 2,9 \mu\text{g/L}$  und  $1,9 \pm 0,51 \mu\text{g/L}$  lagen, was einem Faktor von 8 bzw. 14 entspricht. Die weiteren, in Abb. 113 dargestellten Spurenstoffe, weichen von den bisher gezeigten Verbindungen ab, um zu verdeutlichen, dass sowohl das Regenüberlaufbecken als auch der Lamellenklärer nicht geeignet sind, um gelöste Spurenstoffe zurückzuhalten, die bei der herkömmlichen Abwasserreinigung sehr gut biologisch abgebaut werden. Für das Antidiabetikum Metformin sowie für die beiden künstlichen Süßstoffe Saccharin und Cyclamat wird in der Literatur von einer Elimination in Kläranlagen von  $> 90 \%$  berichtet (Buerge et al. 2009; Scheurer et al. 2009b; Trautwein et al. 2014). Ähnliches gilt, wie schon weiter oben gezeigt, für das Schmerzmittel Ibuprofen. Die vorhandene biologische Aktivität sowie die Aufenthaltszeit reichen offensichtlich nicht aus, um diese vier Verbindungen zumindest teilweise abzubauen. Untersuchungen zum Verhalten von Spurenstoffen in Regenüberlaufbecken sind in der Literatur nur wenig beschrieben. In den wenigen vorliegenden Arbeiten wird jedoch ebenfalls

von einem nicht vorhandenen Rückhalt von hydrophileren Spurenstoffen berichtet, wohingegen zur Sorption tendierende Verbindungen wie polybromierte Diphenylether zurückgehalten werden können, beispielsweise durch Sedimentationsprozesse (Sébastien et al. 2015).

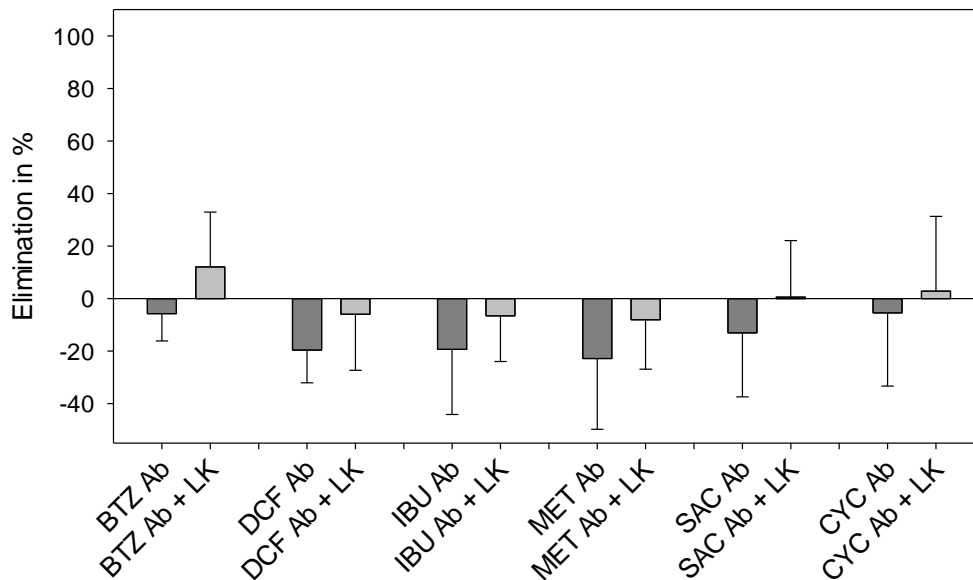


Abb. 113: Mittlere Elimination mit Standardabweichung für ausgewählte Spurenstoffe im Regenüberlaufbecken Mariatal und dem untersuchten Lamellenklärer. BTZ=1H-Benzotriazol, DCF=Diclofenac, IBU=Ibuprofen, MET=Metformin, SAC=Saccharin, CYC=Cyclamat

### Retentionsbodenfilter Tettang

Der Retentionsbodenfilter in Tettang dient der Aufnahme von Überläufen zweier Regenüberlaufbecken, wenn deren Kapazität überschritten wird. Er verhindert somit den direkten Abschlag dieser Überläufe in den Vorfluter. Die Filterschicht wird vertikal durchflossen und soll durch Filtrations-, Sorptions- und biologische Prozesse zu einer Verbesserung der Wasserqualität führen. Es liegen bisher wenige Erkenntnisse zur langfristigen Leistungsfähigkeit solcher Systeme vor. Eine 2010 durchgeführte Umfrage bei Betreibern von Retentionsbodenfiltern ergab, dass nur ca. 20 % von 83 Filtern schon länger als fünf Jahre in Betrieb waren (Roth-Kleyer et al. 2010). Wie aus Abb. 114 deutlich wird, findet eine zum Teil deutliche Reduzierung der Werte der gemessenen wasserchemischen Parameter im Filterbett statt. CSB, DOC und Trübungswerte wurden im Mittel zwischen 70 % und 87 % reduziert, der SAK<sub>254</sub> um 48 %. Die gute DOC-Elimination von 70 % im Filter während der relativ kurzen Aufenthaltszeit von 48 h spricht für einen hohen Anteil an leicht abbaubaren gelösten organischen Verbindungen im Zulauf. Die mittlere Zulaufkonzentration von 6,9 mg/L liegt im Bereich, wie sie üblicherweise im Ablauf von Kläranlagen gemessen wird. Die ausgeprägtere Elimination des DOC im Vergleich zum SAK<sub>254</sub> spricht für einen

bevorzugten Abbau von gesättigten Verbindungen im Filter. Betrachtet man den gesamten Gehalt an organischem Kohlenstoff (TOC, *total organic carbon*) und den spektralen Schwächungskoeffizienten bei 254 nm ( $SSK_{254nm}$ ), die beide suspendierte Partikel mitberücksichtigen, wird die Entnahme von Partikeln durch den Retentionsbodenfilter deutlich. So wurde beispielsweise der  $SSK_{254nm}$  von  $21\text{ m}^{-1}$  auf  $7,4\text{ m}^{-1}$  im Ablauf reduziert und entsprach somit fast dem  $SAK_{254}$  ( $6,2\text{ m}^{-1}$ ). Die mittlere Elimination des CSB betrug über 80 %. Dies stimmt gut mit der in der Literatur beschriebenen CSB-Entfernung in anderen deutschen Retentionsbodenfiltern überein (Frechen et al. 2006; Uhl und Dittmer 2005).

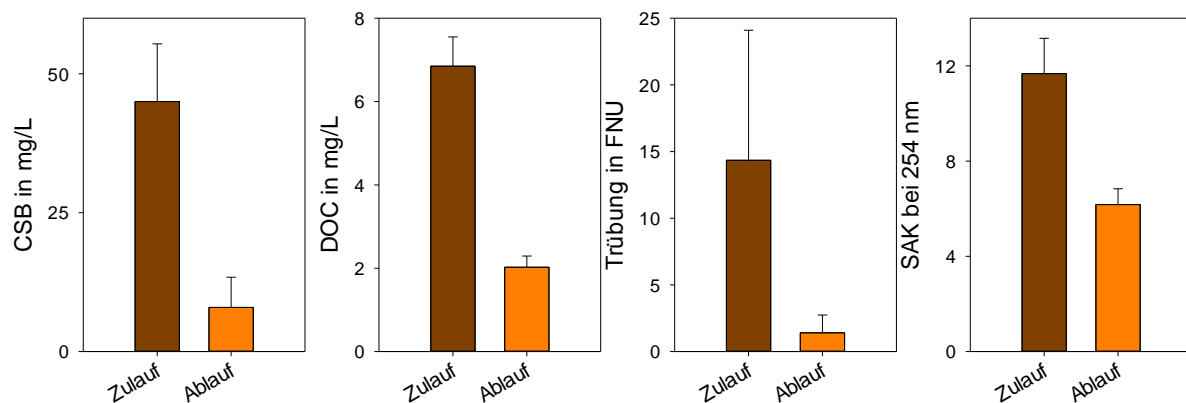


Abb. 114: Verhalten wichtiger wasserchemischer Parameter (CSB,  $SAK_{254}$ , DOC und Trübung) im Retentionsbodenfilter Tettang

Viele der untersuchten Spurenstoffe konnten im Zulauf des Retentionsbodenfilters auf Grund der höheren Verdünnung nicht nachgewiesen werden. Von 79 Pharmakawirkstoffen (inkl. Metabolite und Antibiotika) wurden nur 24 im Zulauf und neun im Ablauf in mehr als der Hälfte der untersuchten Proben detektiert (Scheurer et al. 2015). Generell waren die Spurenstoffe mit den höchsten Konzentrationen im Zulauf der Kläranlage Eriskirch auch im Zulauf des Retentionsbodenfilters dominant. Weiterhin gilt, dass die Verbindungen, die beim Belebtschlammverfahren in der Kläranlage leicht biologisch abgebaut werden, auch sehr gut durch den Retentionsbodenfilter eliminiert wurden. Beispiele hierfür sind Paracetamol (98 %) und Ibuprofen (94 %). Auch von einem Retentionsbodenfilter in Nordrhein-Westfalen wurde eine sehr gute Elimination für Ibuprofen von  $0,57\text{ }\mu\text{g/L}$  auf Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze (Median-Werte) berichtet (Mertens et al. 2012). Für Diclofenac, Metoprolol und 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin war die Elimination im Retentionsbodenfilter höher als in der biologischen Stufe der Kläranlage Eriskirch, allerdings sind die Werte mit hohen Standardabweichungen assoziiert. Für Diclofenac wurden sehr heterogene Eliminationsraten während der biologischen Abwasserreinigung berichtet, was



teilweise der unterschiedlichen Abwasserzusammensetzung sowie den unterschiedlichen Abwasserbehandlungstechniken in Kläranlagen zugeschrieben wurde (Jelic et al. 2011). In der Kläranlage Eriskirch betrug die mittlere Elimination von Diclofenac 14 % nach dem Nachklärbecken und 30 % nach anschließender Flockungsfiltration. Im Ablauf des Retentionsbodenfilters konnte hingegen in keiner der Ablaufproben Diclofenac in einer Konzentration über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Auch in dem zuvor erwähnten Filter in Nordrhein-Westfalen lagen alle Diclofenac-Perzentilwerte unterhalb der Bestimmungsgrenze (Mertens et al. 2012). Tondera und Koautoren berichteten ebenfalls über einen Diclofenac-Rückhalt von mehr als 70 % in zwei Filtern (Tondera et al. 2014; Tondera et al. 2013). Wie bei dem Regenüberlaufbecken Mariatal bereits erwähnt, wird Metformin in Kläranlagen sehr gut eliminiert, jedoch findet wie bei den meisten Spurenstoffen keine Mineralisation statt. Im Falle von Metformin erfolgt eine Transformation zu Guanylarnstoff, so dass auf Grund der hohen Zulaufkonzentrationen von Metformin in ebenso hohen Konzentrationen Guanylarnstoff im Ablauf der Kläranlage Eriskirch nachgewiesen werden konnte (max. 96 µg/L). Guanylarnstoff wurde allerdings in keiner Ablaufprobe des Retentionsbodenfilters detektiert. Man kann somit davon ausgehen, dass die Aufenthaltszeit und/oder biologische Aktivität im Filter ausreichen, um die Verbindung vollständig zurückzuhalten. Trautwein und Kümmerer (2011) beschreiben Guanylarnstoff als biologisch stabiles Transformationsprodukt von Metformin, allerdings sollte die Verbindung bei neutralem pH-Wert als Kation vorliegen und kann somit auch durch Kationenaustauschprozesse im Boden zurückgehalten werden.

### **Bodenextrakte (Zusatzuntersuchungen)**

Durch die Analyse von Bodenextrakten von den verschiedenen Probestellen (Abb. 49 in Kap. 3.8.5) konnte gezeigt werden, dass es innerhalb des Retentionsbodenfilters eindeutige Belastungsschwerpunkte hinsichtlich der Belastung mit vergleichsweise hydrophoben Verbindungen gibt. Grundsätzlich liegen diese nahe den Einlassbauwerken, wohingegen in der Filtermitte keiner der untersuchten Spurenstoffe nachgewiesen werden konnte (Abb. 115). Sämtliche Positivbefunde waren darüber hinaus nur in den obersten 30 cm zu verzeichnen.

Für Steroidhormone, Alkylphenole, PCB und chlorierte Insektizide wurden nur wenige Verbindungen (4-iso-Nonyphenol, PCB138, PCB153 und Hexachlorbenzol) in Konzentrationen über der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Ein ähnliches Bild ergab sich für die Gruppe der PFC, die ebenfalls am häufigsten an PS 6 nachgewiesen wurden, jeweils eine Verbindung der Stoffgruppe auch an PS 1 und PS5.

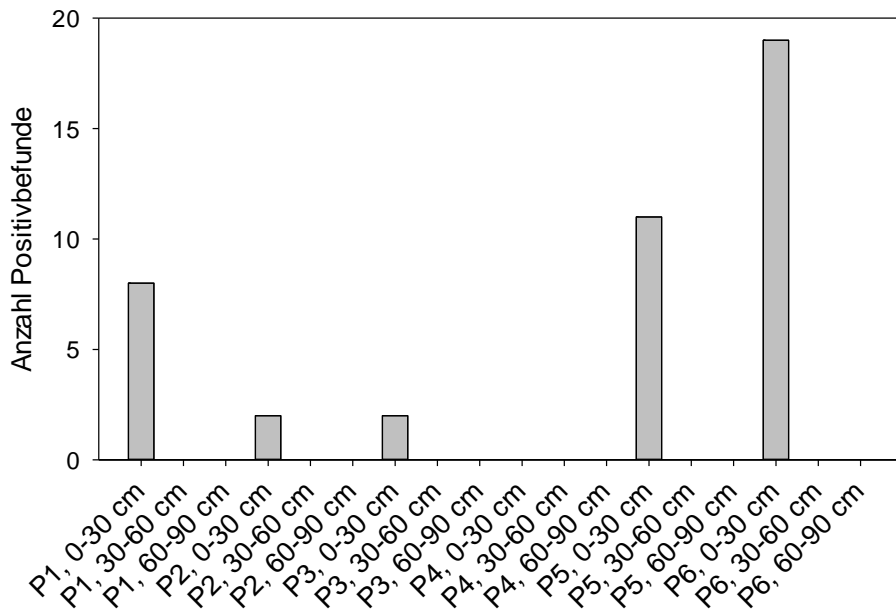


Abb. 115: Anzahl der Positivbefunde in den untersuchten Extrakten des Retentionsbodenfilters. Das Analysespektrum umfasste insgesamt 66 organische Spurenstoffe

Dieser Trend wird durch die Ergebnisse für PAK weiter bekräftigt. Auch hier lag der Belastungsschwerpunkt nahe des Einlassbauwerks E1 (P6), wo alle Vertreter der Stoffgruppe nachgewiesen werden konnten. Die höchsten Konzentrationen wurden dabei für Fluranthen (420 µg/kg) und Pyren (320 µg/kg) gemessen (Abb. 116).

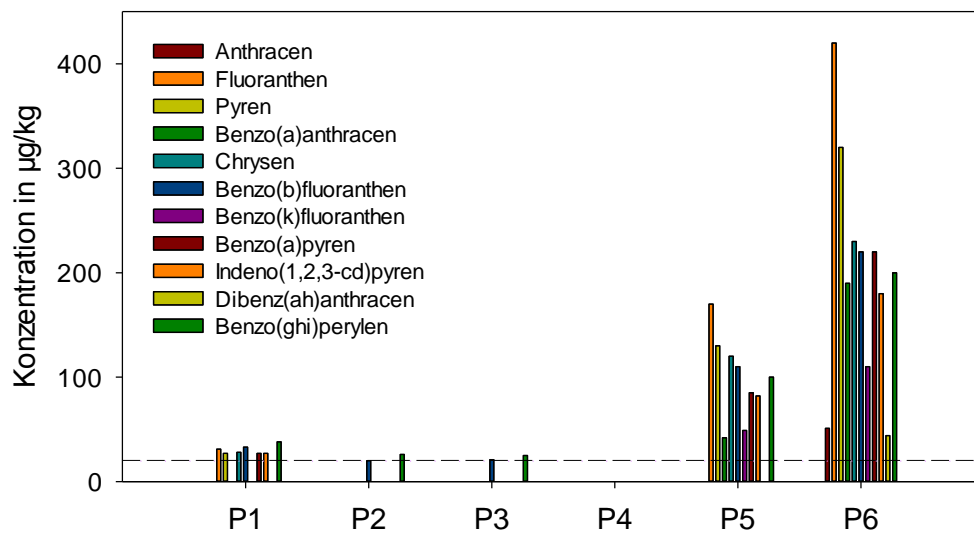


Abb. 116: Konzentrationen von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in den obersten 30 cm des Retentionsbodenfilters in Tettngang. Die gestrichelte Linie zeigt die Bestimmungsgrenze an

Danach wies die nächstgelegene Probenahmestelle P5 die meisten Positivbefunde und höchsten Konzentrationen auf, gefolgt von P1, die dem zweiten Einlaufbauwerk am nächsten

gelegen ist. Diese Beobachtungen können dadurch erklärt werden, dass dem Retentionsbodenfilter in Tettngang 90 % der Wassermenge über E1 zufließen. Durch den dichten Schilfbewuchs werden folglich dort und an P5 die meisten Partikel und an sie gebundene apolare Spurenstoffe absedimentieren. Auch die Belastung an P1 und Tatsache, dass keine PAK in der Mitte des Filters an P4 gefunden wurden, lassen sich so erklären. In den beiden tiefer liegenden Horizonten konnte keiner der untersuchten Spurenstoffe nachgewiesen werden. Das Verlagerungspotential und die Gefahr einer Emission der untersuchten Stoffgruppen in den Tobelbach erscheint somit gering.

### Eluate (Zusatzuntersuchungen)

Bei den wässrigen Eluaten war eine gleichmäßigere Verteilung der Positivbefunde über die Fläche der Retentionsbodenfilter zu verzeichnen (Abb. 117). Die Zielanalyten in den Eluaten neigen tendenziell weniger zu einer Adsorption an Feststoffpartikeln und somit auch weniger zu einer Akkumulation in den Sedimentationsbereichen nahe der beiden Filtereinläufe. Jedoch wurden auch hier die meisten Spurenstoffe an P6 und die wenigsten an P4 nachgewiesen, was vermutlich damit zu erklären ist, dass bei weniger intensiven Regenereignissen das eingestaute Wasser nicht bis in die Filtermitte vordringt.

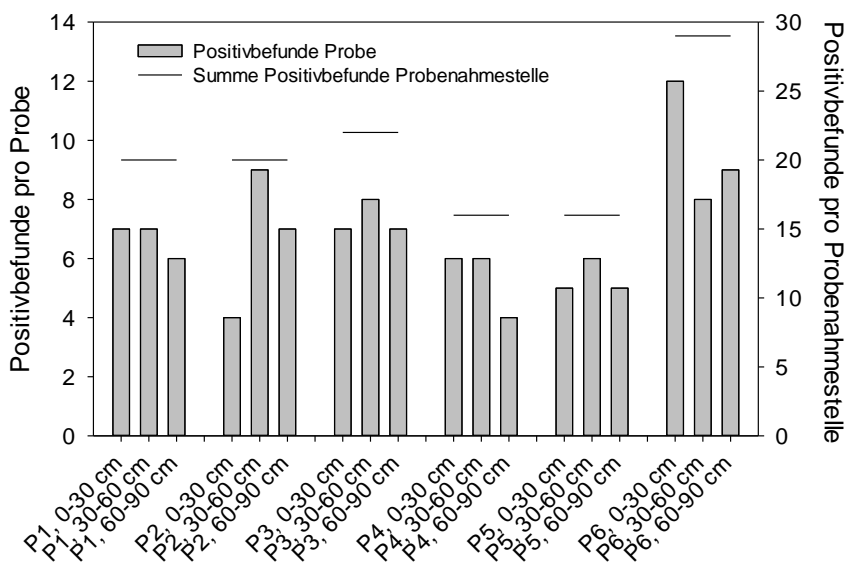


Abb. 117: Positivbefunde von organischen Spurenstoffen in Bodeneluaten einzelner Proben und als Summe der jeweiligen Probenahmestelle

Eine Korrelation von Positivbefunden mit bestimmten Horizonten war für die Gesamtheit des Analytspektrums nicht festzustellen, wohl allerdings für bestimmte Einzelverbindungen. Ein Spurenstoff, der einen eindeutigen Belastungsschwerpunkt in den obersten 30 cm des Retentionsbodenfilters besitzt, ist 1H-Benzotriazol (Abb. 118). Diese Verbindung wird in

behandeltem Abwasser in der Regel im  $\mu\text{g/L}$ -Bereich und somit in vergleichsweise hohen Konzentrationen nachgewiesen. Die Konzentrationen in den Eluaten lag für Proben aus dem obersten Horizont zwischen  $0,11 \mu\text{g/L}$  und  $0,38 \mu\text{g/L}$ . Der Konzentrationsrückgang beim Vergleich mit Proben aus dem mittleren Horizont betrug  $54 \% \pm 9 \%$ . Die Eluatkonzentrationen im Horizont zwischen 60 cm und 90 cm lagen im Mittel  $65 \% \pm 10 \%$  unter denen aus Eluaten der obersten 30 cm. Neben dem Abbau von 1*H*-Benzotriazol wurde in der Literatur auch der Abbau der beiden Tolyltriazole 4- und 5-Methylbenzotriazol während der Uferfiltration beschrieben (Weiss et al. 2006). Beide Metabolite konnten auch in Eluaten vereinzelt in Konzentrationen über der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden, jedoch jeweils nur in den obersten 30 cm. Dies lässt keine abschließenden Rückschlüsse über den Verbleib von 1*H*-Benzotriazol und den Tolyltriazolen zu. Es wird jedoch deutlich, dass, obwohl die Verbindungen ein gewisses Verlagerungspotential besitzen, ihre Summenkonzentration deutlich reduziert wird.

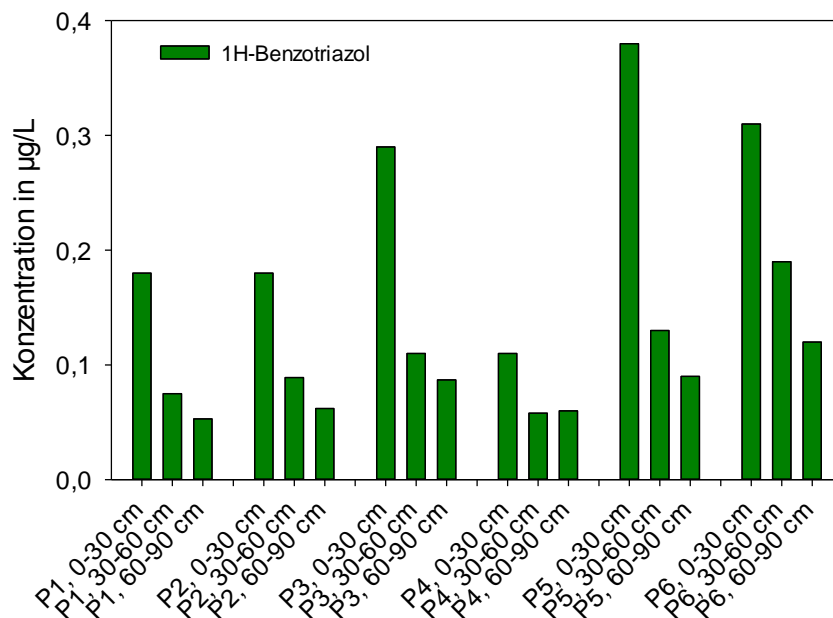


Abb. 118: Konzentration von 1*H*-Benzotriazol in Eluaten aus Proben des Retentionsbodenfilters

Weitere Positivbefunde aus den Eluatuntersuchungen liegen insbesondere für die Stoffgruppe der PFC vor. Perfluoroctanoat (PFOA) und Perfluoroctansulfonat (PFOS) konnten dabei in allen Proben mit Werten über der analytischen Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. Eine abnehmende Konzentration in den Eluaten aus unterschiedlichen Horizonten konnte hier nicht festgestellt werden. Vielmehr wurden die Substanzen in allen Tiefen mit ähnlichen Konzentrationen nachgewiesen. Die Maximalkonzentrationen lagen dabei bei  $0,023 \mu\text{g/L}$  für PFOA bzw. bei  $0,071 \mu\text{g/L}$  für PFOS.

Einzelbefunde für weitere organische Spurenstoffe gab es u. a. für Arzneistoffe, Biozide und künstliche Süßstoffe.

### **Diskussion Spurenstoffe**

In Tab. 21 ist beispielhaft die Elimination von sechs organischen Spurenstoffen bei verschiedenen im Projekt erprobten Abwasserbehandlungstechnologien dargestellt. Alle dort gezeigten Verbindungen waren im Projekt als Leitparameter definiert, konnten immer in den Zuläufen der Testsysteme nachgewiesen werden und liefern somit die höchstmögliche Anzahl an Wertepaaren zur Berechnung der Elimination. Eine Elimination wurde als unzureichend bewertet (-), wenn diese unter 30 % lag. Eine mittlere bis gute Elimination (+) wurde bei einer Spurenstoffentfernung von 31 % bis 80 % bescheinigt. Eine Entfernung > 80 % wurde mit sehr gut (++) bewertet. Bei der Summenbewertung wurde eine unzureichende Elimination mit einer guten bzw. mit der Hälfte einer sehr guten Elimination verrechnet. Die sechs Verbindungen stellen nur eine kleine Auswahl aller untersuchten Spurenstoffe dar, die Ergebnisse besitzen jedoch Gültigkeit für die große Mehrzahl des gesamten Analysenumfangs.

Die herkömmliche Abwasserreinigung wurde ursprünglich dazu konzipiert, die Gewässer vor einer zu großen Zufuhr an organischen Stoffen und somit vor einer übermäßigen Sauerstoffzehrung zu schützen. Die Entfernung von Spurenstoffen war folglich nicht primäres Ziel bei der bisherigen Konzeption von Kläranlagen. Von den Verbindungen, die regelmäßig in den Kläranlagenzuläufen nachgewiesen werden können, wird nur ein geringer Anteil (nahezu) vollständig in der Kläranlage entfernt. Beispiele hierfür sind die Schmerzmittel Ibuprofen und Paracetamol oder die künstlichen Süßstoffe Saccharin und Cyclamat. Die meisten Spurenstoffe werden während des in Kläranlagen angewendeten Belebtschlammverfahrens nur teilweise transformiert. Die uneinheitliche Elimination bestimmter Spurenstoffe kann in unterschiedlichen Kläranlagen mit den dort vorherrschenden Bedingungen assoziiert sein, die sich wiederum auf die vorherrschende mikrobiologische Gemeinschaft auswirken kann. Eine schwankende Elimination war im Projekt z. B. für Diclofenac, Metoprolol und Acesulfam zu beobachten und ist auch Gegenstand laufender Forschungsarbeiten mit dem Ziel, den biologischen Abbau zu optimieren. Wird in Kläranlagen eine Flockung zur weiteren Nährstoffelimination eingesetzt, werden die Flocken i. d. R. mit einem Sandfilter abgeschieden. Diese Filter besitzen ebenfalls eine gewisse biologische Aktivität und können somit zu einem weiteren biologischen Abbau von Spurenstoffen beitragen, wie dies beispielsweise in der Kläranlage Langwiese für Diclofenac und Metoprolol beobachtet wurde. Die technische Aufrüstung von Kläranlagen zur zusätzlichen Behandlung des biologisch gereinigten Abwassers mit

Aktivkohle, Ozon oder einer Kombination von beiden bedeutet in jedem Fall eine verbesserte Elimination von Spurenstoffen. Der Erfolg der Maßnahme ist von den chemisch-physikalischen Eigenschaften der jeweiligen Verbindung abhängig. So lassen sich bestimmte Spurenstoffe besser mit Ozon, andere besser durch den Einsatz von Aktivkohle entfernen. Folglich stellt die erfolgreichste Möglichkeit die Kombination beider Verfahren dar. Bei der Anwendung von Aktivkohle, sei es in Pulverform in einem Kontaktreaktor oder in granulierter Form in einem Filter, findet eine tatsächliche Entnahme der Wasserinhaltsstoffe statt. Bei der Ozonung erfolgt meist keine Mineralisation der organischen Verbindungen, sondern eine Umwandlung in meist unbekannte Transformationsprodukte, die häufig in nachgeschalteten biologisch aktiven Filtern weiter abgebaut werden können. In jedem Fall weisen beide Technologien ein großes Potential auf, die Spurenstoffkonzentrationen im behandelten Abwasser, das in unsere Bäche und Flüsse entlassen wird, deutlich zu reduzieren.

Tab. 21: Bewertung einzelner Aufbereitungsschritte in Kläranlagen hinsichtlich der Elimination von ausgesuchten Spurenstoffen. Bei den vier letzten Schritten wurde jeweils Belebtschlammverfahren + Flockungsfiltration bzw. PAK/GAK bzw. Ozon bzw. Ozon + AK bewertet

Beurteilung der Elimination: — < 30 %      + 31 - 80 %      ++ > 80 %

	Belebtschlammverfahren +				
	Belebtschlammverfahren	Flockungsfiltration	PAK / GAK	Ozon	Ozon + AK
Carbamazepin	<span style="color: red;">—</span>	<span style="color: red;">—</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>
Ibuprofen	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>
Sulfamethoxazol	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>
1H-Benzotriazol	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>
Diclofenac	<span style="color: red;">—</span> / <span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">++</span>
Metoprolol	<span style="color: red;">—</span> / <span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>	<span style="color: green;">+</span>	<span style="color: green;">++</span>
<b>SUMME</b>	<b>3<span style="color: green;">+</span></b>	<b>5<span style="color: green;">+</span></b>	<b>11<span style="color: green;">+</span></b>	<b>10<span style="color: green;">+</span></b>	<b>12<span style="color: green;">+</span></b>

## 4.4 Indikatorkeime (Anlagenbewertung)

Lüddeke, Güde, Hetzenauer (LUBW, Institut für Seenforschung Langenargen)

Bei der Betrachtung von Gewässerbelastungen und Bestimmung der Gewässergüte werden bakterielle Verunreinigungen traditionell nicht berücksichtigt, und im Gegensatz zu einigen chemischen Parametern bestehen auch vom Gesetzgeber keine definierten Emissionsgrenzwerte. Aufgrund ihrer Bedeutung für die Trink- und Badewassereignung sind mikrobiologisch-hygienische Parameter jedoch von hohem öffentlichem Interesse und werden nicht selten von der Öffentlichkeit mit der Gewässergüte insgesamt gleichgestellt. Daher werden solche Belastungen zu Recht im Rahmen des als ganzheitlich orientierten Projekts SchussenAktivplus bei der Betrachtung der Auswirkung von weitergehenden Abwasserreinigungsmaßnahmen auf die Gewässerqualität mit einbezogen.

Zur hygienischen Gewässerüberwachung werden nicht alle Krankheitserreger (u. a. Viren, Bakterien, Protozoen) direkt erfasst, sondern es werden einfach messbare Indikatoren, meist *E. coli* und Enterokokken, herangezogen, die ihren ursprünglichen Lebensraum im Intestinaltrakt von Säugetieren haben. Unter den im Freiland herrschenden, jahreszeitlich wechselnden chemisch-physikalischen Bedingungen (UV-Strahlung, Temperatur, limitierte Nährstoffe, pH-Wert) sowie durch biotische Faktoren (Bakteriophagen, „grazing“ / Biofiltration höherer Organismen) sterben Fäkalindikatorkeime, aber auch pathogene Mikroorganismen, in relativ kurzer Zeit ab (Wetzel et al. 2013b). Die Überlebenszeit der allochthonen Bakterien kann allerdings durch nährstoffreiche Sedimente erhöht sein, und dieses Habitat stellt ein mögliches Belastungspotential dar, denn durch Resuspension kann es zu erhöhten Lebendkeimzahlen im Gewässer kommen (Burton et al. 1987).

Durch die Integration in das örtlich und zeitlich simultan durchgeführte Probenahmekonzept des Gesamtprojekts wurde die Datenbank-Auswertung mit modernen statistischen Methoden durch bakterielle Parameter vervollständigt. Dadurch ergab sich das Potential, Unterschiede und Gemeinsamkeiten der verschiedenen, im Gesamtprojekt untersuchten Belastungsformen zu erkennen und zu definieren.

Neben diesen allgemeinen, sich aus dem Rahmen des Gesamtvorhabens ergebenden Zielen, wurden projektspezifische Ziele verfolgt:

- i) Emissionsbezogene Erfolgskontrolle durch Vergleich der Effizienz des Rückhalts von Fäkalindikatorkeimen (*E. coli* und Enterokokken) in Kläranlagen und Regenentlastungssystemen vor und nach unterschiedlichen Ausbaumaßnahmen.
- ii) Immissionsbezogene Abschätzung der Auswirkung der Ausbaumaßnahmen auf die mikrobiologische Belastungssituation des Bodenseezuflusses Schussen, die als Vorfluter für die gereinigten Abwässer dient.

- iii) Bedeutung der Mobilisierung von Fäkalindikatorkeimen aus Sedimenten, die möglicherweise als Zwischenlager dienen.
- iv) Bereitstellung von Isolaten von *E. coli* und Enterokokken, gewonnen aus den Testsystemen und aus dem Freiland, zur weiteren Charakterisierung durch das Teilprojekt am KIT.

*Kläranlagen Langwiese, Eriskirch und Merklingen*

Das Testsystem an der KA Langwiese (KA LW) sowie das Testsystem an der KA Eriskirch (KA ER) wurden in ausreichender Anzahl beprobt, um eine Bewertung der Effizienz bezüglich der Elimination von Fäkalindikatorkeimen bzw. dem globalen Parameter GKZ vorzunehmen. Für das System an der KA Merklingen, an welcher der Langsandsandfilter (LSF) nur einmal vor dem Anschluss an die Ozonung analysiert worden ist, fehlt eine ausreichend hohe Sicherheit für die Bewertung der auch von äußerlichen Einflüssen beeinflussten mikrobiologischen Daten.

In der KA Langwiese wurden im Zulauf zur Kläranlage im Median  $2,18E+06$  *E. coli* KBE / 100 mL,  $3,12E+05$  Enterokokken KBE / 100 mL und  $1,90E+08$  GKZ KBE / 100 mL ermittelt (Abb. 119).

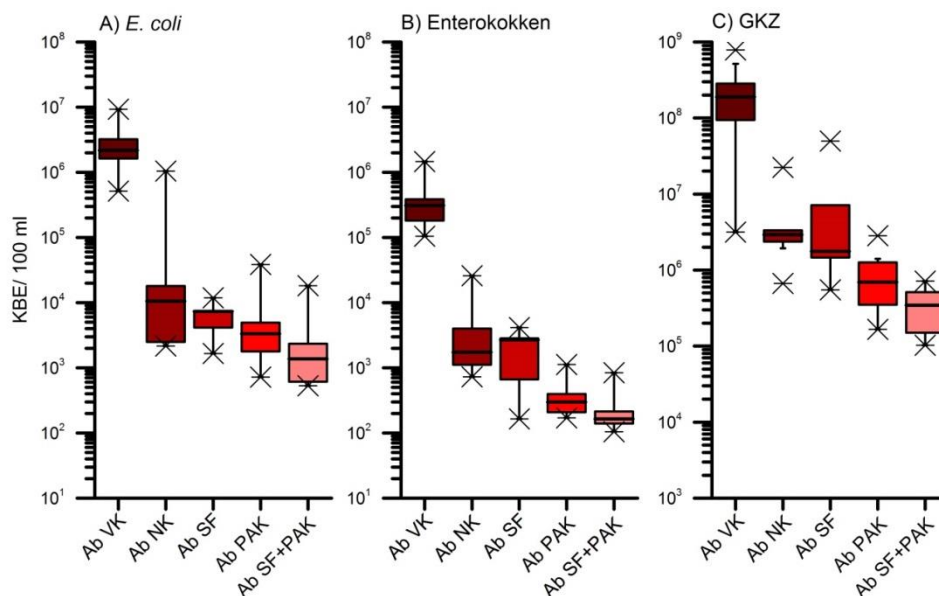


Abb. 119: Boxplot-Darstellung der Konzentrationen von *E. coli* (A), Enterokokken (B) und GKZ (C) in den verschiedenen Reinigungsstufen der KA Langwiese. Ab = Ablauf; VK = Vorklärung, NK = Nachklärung, SF = Sandfiltration, PAK = Pulveraktivkohle, SF+PAK = Sandfiltration + Pulveraktivkohle. Die unterschiedliche Skalierung der y-Achse ist zu beachten



Im dreistufigen Reinigungsprozess mit Sandfilter als letzte Reinigungsstufe wurden  $7,33E+03$  *E. coli* KBE / 100 mL,  $2,68E+03$  Enterokokken KBE /100 mL und  $1,77E+06$  GKZ KBE / 100 mL bestimmt, was einer Eliminationsleistung von 2 - 2,5 log-Stufen entspricht. Nach der Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe als zusätzliche Reinigungsstufe vor der Sandfiltration lagen die ermittelten Konzentrationen im Median bei  $1,38E+03$  *E. coli* KBE / 100 mL,  $1,64E+02$  Enterokokken KBE /100 mL und  $3,45E+02$  GKZ KBE / 100 mL und es wurde eine höhere Elimination in log-Stufen als durch Sandfiltration alleine erreicht. Im Falle der Enterokokken erreichte der KA-Auslauf Konzentrationen, die unterhalb des Grenzwertes für ausreichende Badegewässerqualität liegen (330 Enterokokken KBE /100 mL auf Grundlage einer 90-Perzentilbewertung).

In der KA Eriskirch wurde eine zusätzliche Reinigungsstufe mit Ozonung in Kombination mit verschiedenen nachgeschalteten Filtern getestet (Sandfilter (SF), granulierte Aktivkohle (GAK) sowie SF+GAK) als auch eine zusätzliche Reinigungsstufe mit GAK allein (anderes Material im Gegensatz zur Pulveraktivkohle in der KA Langwiese). Bei einer Konzentration im Zulauf von  $2,72E+06$  *E. coli* KBE / 100 mL,  $6,13E+05$  Enterokokken KBE / 100 mL sowie  $2,02E+08$  GKZ KBE / 100 mL wurden nach der dreistufigen Reinigung mittels eines Flockungsfilters die Konzentrationen jeweils um 2,9 (*E. coli*), 2,7 (Enterokokken) und 2,5 (GKZ) log-Stufen reduziert (Abb. 120). Mittels einer zusätzlichen Reinigungsstufe über GAK wurden nur mäßig höhere bzw. vergleichbare Eliminationsleistungen erreicht, nämlich 3,3 (*E. coli*), 3,2 (Enterokokken) und 2,4 (GKZ) log-Stufen.

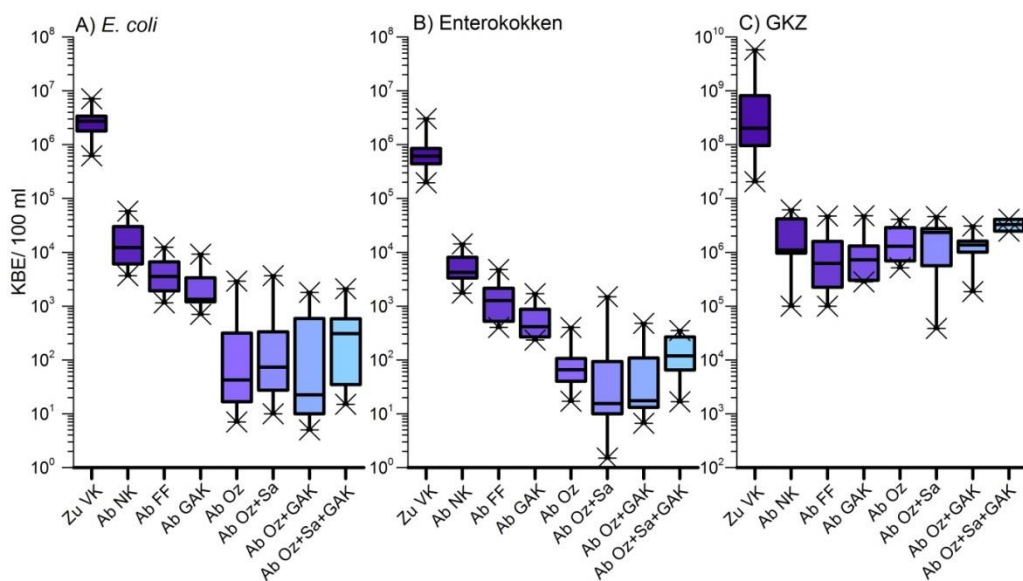


Abb.120: Boxplot-Darstellung der Konzentrationen von *E. coli* (A), Enterokokken (B) und GKZ (C) in den verschiedenen Reinigungsstufen der KA Eriskirch. Zu = Zulauf; Ab = Ablauf; VK = Vorklärung, NK = Nachklärung, FF = Flockungsfiltration, GAK = granulierte Aktivkohle, Oz = Ozonung; Sa = Sandfiltration. Die unterschiedliche Skalierung der y-Achse ist zu beachten

Der Einsatz von Ozonung in Kombination mit unterschiedlichen nachgeschalteten Filtermaterialien war dagegen hocheffektiv, was die Reduktion der Fäkalindikatoren *E. coli* und Enterokokken betrifft. Die in den jeweiligen Abläufen ermittelten Konzentrationen in den Abläufen Oz, Oz+GAK, Oz+SF sowie Oz+GAK+SF lag immer deutlich unterhalb der der Grenzwerte für ausreichende Badegewässerqualität (900 *E. coli* KBE / 100 ml und 330 Enterokokken KBE / 100 ml auf Grundlage einer 90-Perzentilbewertung). Bei einzelnen Probenahmen war die Konzentration nach Durchlaufen der Filter höher als direkt nach der Ozonung, damit zeigte sich, dass die nachgeschalteten Filter auch als Reservoir für diese Gruppe dienen können (Abb. 120).

In der KA Merklingen wurde vor einen bestehenden Langsamsandfilter eine Anlage zur Ozonierung zwischengeschaltet. Abb. 121 zeigt die Boxplot-Darstellung der Elimination von *E. coli*, Enterokokken und GKZ ohne den Vergleich zum Langsamsandfilter, da dieser nur einmal beprobt wurde. Damit ist eine sichere Bewertung des Effekts der zusätzlichen Reinigungsstufe nicht möglich. Die Zulaufkonzentrationen lagen im Median etwa genauso hoch wie in den Kläranlagen Eriskirch und Langwiese. Die emittierten Auslaufkonzentrationen des Ablaufs Ozonung + Langsamsandfilter lagen bei  $7,50E+01$  *E. coli* KBE / 100 mL,  $1,89E+01$  Enterokokken KBE / 100 mL und  $7,48E+05$  GKZ KBE/ 100 mL. Die Fäkalindikatoren wurden um 4,8 bzw. 4,4 log-Stufen eliminiert und ihre Konzentration lag unterhalb des Grenzwertes für ausreichende Badegewässerqualität.

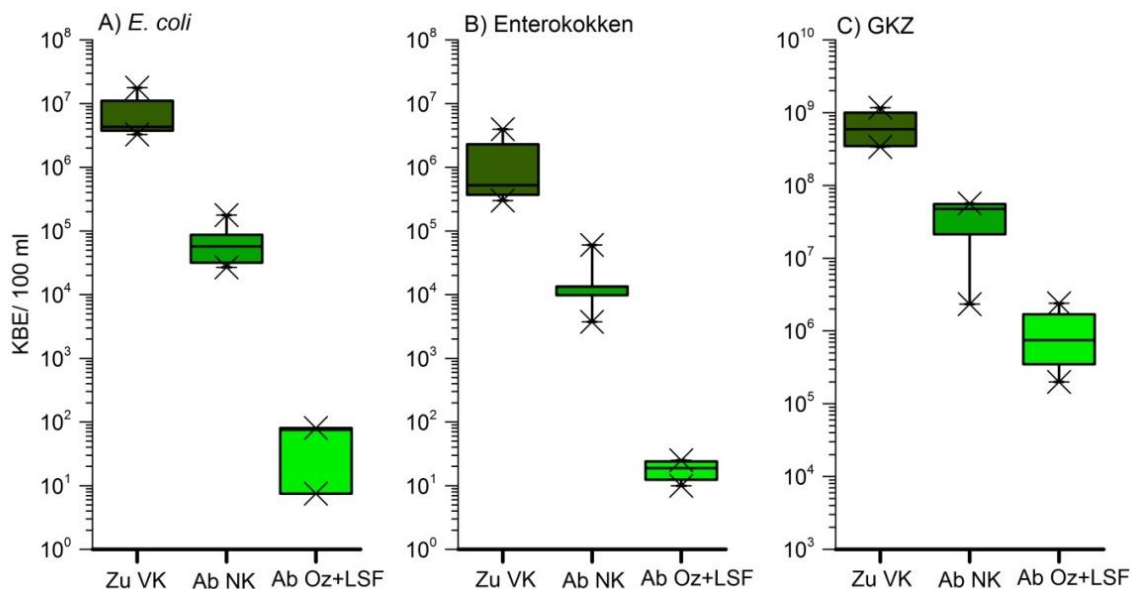


Abb. 121: Boxplot-Darstellung der Konzentrationen von *E. coli* (A), Enterokokken (B) und GKZ (C) in den verschiedenen Reinigungsstufen der KA Merklingen. Zu = Zulauf; Ab = Ablauf; VK = Vorklärung, NK = Nachklärung, Oz = Ozonung; LSF = Langsamsandfilter. Die unterschiedliche Skalierung der y-Achse ist zu beachten

### Regenüberlaufbecken Mariatal und Retentionsbodenfilter Tettngang

Beim RÜB Mariatal findet aufgrund der kurzen Verweilzeit im Becken keine Keimelimination statt; die Konzentrationen des RÜB-Ablaufs liegen in etwa so hoch wie in der Nachklärung einer Kläranlage. Auch nach Ausbau mit einem Lamellenklärer, der zur Feststoffabtrennung dient, zeigte sich keinerlei Effekt auf die mikrobiologische Situation.

Im Gegensatz zum RÜB wies das RBF Tettngang eine Eliminationsleistung vergleichbar mit denen der im Projekt untersuchten Kläranlagen auf (2,2 log-Stufen Elimination für *E. coli* bzw. 2,7 log-Stufen Elimination für Enterokokken), wobei die Zulaufkonzentrationen sogar etwas niedrigerer als in den Kläranlagen waren (Abb. 122).

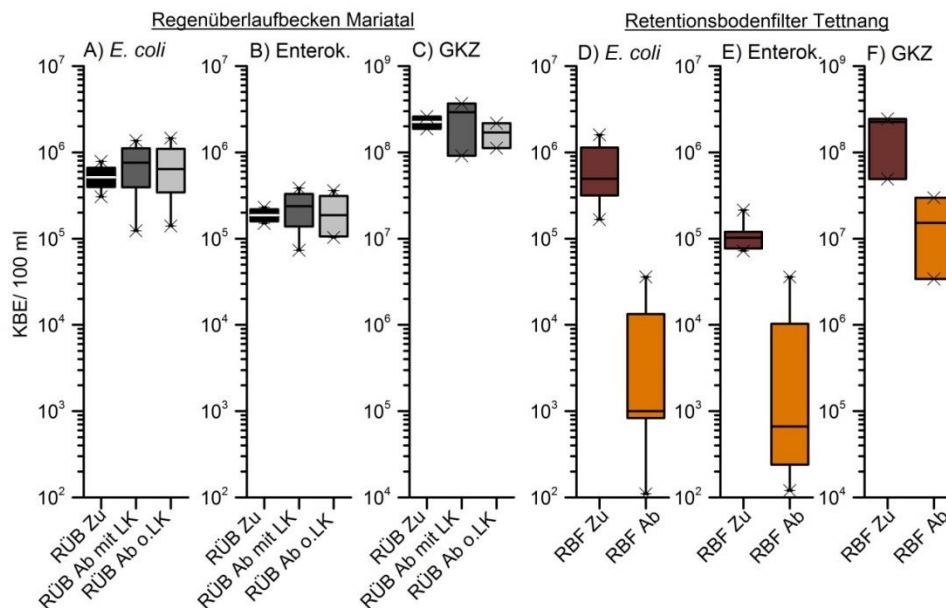


Abb. 122: Boxplot-Darstellung der Konzentrationen von *E. coli* (A, D), Enterokokken (B, E) und GKZ (C, F) in den untersuchten Regenentlastungssystemen Regenüberlaufbecken Mariatal und Retentionsbodenfilter Tettngang. Zu = Zulauf; Ab = Ablauf; LK = Lamellenklärer. Die unterschiedliche Skalierung der y-Achse ist zu beachten

### Diskussion Indikatorkeime

Der hygienischen Belastung von Gewässern durch fakultativ pathogene Bakterien kommt eine Sonderrolle zu, da nicht nur ökologische / ökotoxikologische Schädwirkungen ermittelt werden, sondern das mögliche Gesundheitsrisiko für Menschen im Fokus steht. Obwohl die Schussen selbst nicht als Badegewässer genutzt wird, kommt es in den der Flussmündung nahe gelegenen Strandbädern in Eriskirch und Langenargen aktuell immer noch zu lokalen Verunreinigungen, die teilweise sogar zu Badeverboten führen. Bislang bestehen vom Gesetzgeber keine definierten Grenzwerte, welche bakteriellen Konzentrationen Kläranlagen mit dem gereinigten Abwasser wieder in die Vorfluter entlasten dürfen. Der technische Ausbau von Kläranlagen bzw. Regenentlastungssystemen entlang des Bodenseezuflusses

Schusses kann dazu beitragen, die hygienisch-mikrobiologische Situation des Flusses zu verbessern. Die Bewertung der Effizienz aktueller Abwasserreinigungsmaßnahmen soll dazu beitragen, wissenschaftlich basierte Informationen über die effizienteste Maßnahme für die Entscheidungsträger zur Verfügung zu stellen.

Die Ablaufwerte der im Projekt untersuchten Kläranlagen, die Abwasser im Normalbetrieb in einem dreistufigen Reinigungsprozess reinigen, lagen im Median um zwei bis drei Größenordnungen niedriger als im jeweiligen Zulauf. Im Vergleich mit Eliminationsleistungen anderer Kläranlagen mit ähnlichem Reinigungsprozess werden ähnliche Werte erreicht (Kistemann et al. 2008). In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen wurde bereits durch die Nachklärung ein Großteil der Eliminationsleistung erbracht (George et al. 2002; Hijnen et al. 2000). Es gibt mehrere mutmaßliche Mechanismen, die zur bakteriellen Elimination in dieser Stufe führen, u. a. durch „grazing“ von Protozoen, Konkurrenzsituation mit der vorhandenen Mikroflora oder auch Sedimentation von an Flocken adsorbierten Bakterien.

Durch den vierstufigen Reinigungsprozess mit einer zusätzlichen Pulveraktivkohlestufe vor der Sandfiltration an der KA Langwiese wurde eine Elimination von mehr als drei log-Stufen von *E. coli* und Enterokokken erreicht. Bezogen auf den Ablauf der Nachklärung werden prozentual 87 % der *E. coli*-Konzentration bzw. 90,5 % der Enterokokken-Konzentration reduziert, was deutlich über der von Margot et al. (2013) ermittelten prozentualen Reduzierung von 11 % der *E. coli* bzw. 78 % der Enterokokken liegt (ebenfalls bezogen zum Ablauf der biologischen Reinigungsstufe). Der Mechanismus, mit dem die Keimkonzentrationen reduziert werden, beruht auf Adsorption an die PAK und ist von vielen Faktoren wie z. B. der Porengröße des Materials, dem pH-Wert oder auch Eigenschaften der bakteriellen Zelle abhängig. Bei der Interpretation der vorliegenden Werte muss zudem berücksichtigt werden, dass die PAK-Stufe erst im November 2013 in Betrieb genommen worden ist und noch verschiedene Parameter wie z. B. Menge der PAK im System etc. variierten.

In der KA Eriskirch wurden als weitere Reinigungsstufen Ozonung in Kombination mit verschiedenen nachgeschalteten Filtern (Sandfilter (SF), granuliert Aktivkohle (GAK) sowie SF+GAK) als auch eine zusätzliche Reinigungsstufe mit GAK allein (anderes Material im Gegensatz zur Pulveraktivkohle in der KA Langwiese) getestet. Im Vergleich zum Ablauf der Flockungsfiltration, dem letzten Reinigungsschritt im Großmaßstab, sind die Konzentrationen von *E. coli* und Enterokokken nach der Ozonung um 1,9 bzw. 1,3 log-Stufen geringer in Übereinstimmung mit Daten von Abegglen et al. (2009). Verschiedene Faktoren, wie die Dauer der Ozonierung, die O<sub>3</sub>-Konzentration aber auch die Zusammensetzung des Abwassers beeinflussen die erreichbaren Inaktivierungsraten, die zudem bei verschiedenen Genera oder auch Spezies variieren (Gehr et al. 2003; Herbold et al. 1989; Xu et al. 2002)

und in Biofilmen geringer sein können (Zimmermann et al. 2011). Dies deckt sich auch mit der von uns gemachten Beobachtung, dass die Gesamtkeimzahl durch die Ozonung nicht verringert wird.

Durch die Passage in den nachgeschalteten Filtern wurde im Median keine signifikante Erhöhung der Eliminationsleistung erreicht, da u. a. bei einigen Probenahmen sogar teilweise wieder höhere Konzentrationen als nach der Ozonung erreicht wurden. Die Struktur des Filtermaterials spielt bei der Adsorption und damit der Entfernung von Bakterien aus dem Abwasser vermutlich ebenfalls eine Rolle, denn Foppen et al. (2010) berichten, dass die Anlagerung an Quarzsand u. a. abhängig ist von der Sphärizität, der Beweglichkeit oder auch dem Vorhanden bzw. Nicht-Vorhandensein von Zellaußenwandproteinen. Anderes Filtermaterial könnte demnach auch andere Eliminationsleistungen erreichen. Zur reinen Elimination von Bakterien sind die nachgeschalteten Filter nicht unbedingt notwendig, aufgrund der Problematik der unbekanntem Transformationsprodukte als auch dem prozentualen Anstieg der antibiotika-resistenten Bakterien aber unbedingt beizubehalten. Letztendlich sind die durch die Ozonierungs-Kombination erreichten Eliminationsleistungen in jedem Fall mehr als eine log-Stufe höher als die durch die Flockungsfiltration allein erreichten Keimkonzentrationen. Außerdem liegen die erreichten Werte immer unterhalb der Grenzwerte für ausreichende Badegewässerqualität (900 *E. coli* KBE / 100 mL und 330 Enterokokken KBE /100 mL auf Grundlage einer 90-Percentilbewertung).

Für die KA Merklingen liegt keine gesicherte Bewertungsgrundlage zur Effizienz der zusätzlich eingesetzten Ozonung vor, da es nur eine „vorher“-Beprobung gab. Zudem ist durch die lange Aufenthaltszeit des Abwassers im Langsandsandfilter keine genaue Korrelation zwischen dem Zulauf zum Langsandsandfilter und dessen Ablauf gegeben. Vermutlich werden die Keime durch die natürliche UV-Strahlung der Sonne, der sie in diesem Becken ausgesetzt sind, andere bakterivore Organismen, oder ungünstige Bedingungen (Nährstoffe, Temperaturen) reduziert.

Durch die Passage durch einen bestehenden Retentionsbodenfilter in Tettngang wurden die Konzentrationen von *E. coli* und Enterokokken reduziert. Die ermittelten Eliminationsraten (2,7 bzw. 2,2 log-Stufen) sind vergleichbar mit denen, die in Kläranlagen erreicht werden (s. o.), jedoch mit deutlich geringerem technischen Aufwand. Es existieren nur wenige, direkt vergleichbare Daten zu anderen Retentionsbodenfiltern: In einem von (Tondera et al. 2013) beschriebenen Retentionsbodenfilter wurden durchschnittliche Eliminationsraten von 1,1 log-Stufen für *E. coli* und Enterokokken bestimmt, also niedrigere Werte als beim RBF Tettngang. Von anderen mit Schilf (*Phragmites spec.*) bepflanzten Bodenfiltern werden ähnlich hohe maximal erreichte Eliminationen berichtet (Mertens et al. 2012; Morató et al. 2014). Der bakterielle Rückhalt wird von Faktoren wie die Retentionszeit, die Eigenschaften des Filtermaterials, Gehalt an organischem Material und die Biozöosen-Zusammensetzung

beeinflusst und variiert von Filter zu Filter. Mögliche Mechanismen, die zum Rückhalt/Abbau der Bakterien führen, sind vermutlich Fraß in der Kolmationsschicht oder Adsorption (Davies und Bavor 2000; Sidrach-Cardona und Bécares 2013; Stevik et al. 2004). Das vorliegende Projekt hatte nicht zum Ziel, diese Schlüsselfaktoren aufzuklären, sollen aber in zukünftigen Studien untersucht werden, um tatsächliche Planungshilfen für den Bau von Retentionsbodenfiltern ableiten zu können.

Im Gegensatz zum RBF Tettngang findet im RÜB Mariatal keine Elimination von Bakterien statt, unabhängig davon, ob mit oder ohne Einsatz eines Lamellenklärsers. Langeveld et al. (2012) berichten zwar eine Reduktion von 46 % der *E. coli*-Konzentration durch einen Lamellenklärer, der aber durch größere Feststoffe verstopfte, sodass vermutlich die Bakterien durch Anheften an diese Partikel zurückgehalten worden sind. Die Konzentrationen, die im Zu- bzw. Ablauf des RÜB gemessen worden sind, liegen auf fast demselben Niveau wie in den Abläufen der Vorklärung der Kläranlagen. Ist die Speicherkapazität des RÜB erschöpft, werden demnach bei entsprechenden Wetterlagen hohe Mengen hygienisch belastetes Wasser in die Schussen abgeschlagen. Die oben beschriebenen Badeverbote an den Bodensee-Strandbädern Eriskirch oder Langenargen werden auch immer nach Starkregenereignissen verhängt. Bereits aus früheren Untersuchungen im Schusseneinzugsgebiet ist bekannt, dass die Regenentlastung des Kanalnetzes die bedeutendste Eintragsquelle von *E. coli*-Bakterien darstellt (Auerbach et al. 2008; Güde 2010). Andere mögliche Maßnahmen zur Desinfektion von Abwasser aus Regenüberlaufbecken im großtechnischen Maßstab müssen gefunden und überprüft werden. So werden z. B. Kläranlagenausläufe an der Isar in den Sommermonaten mit UV-Strahlung behandelt, um dort eine Nutzung als Badegewässer zu ermöglichen.

Die eingesetzten Methoden zur verbesserten Abwasserreinigung wurden entsprechend des in Tab. 22 gezeigten Punkteschemas bewertet:

Tab. 22: Bewertungsschema für die Effizienz bzw. Elimination von Fäkalkeimen

Anzahl Punkte	Elimination/Rückhalt in log- Stufen größer als ...
4	>4 und / oder Grenzwerte für ausreichende Badegewässerqualität unterschritten
3	3
2	2
1	1

Nach Addition der jeweiligen Punkte für *E. coli* und Enterokokken ergibt sich folgende Bewertung mit Hinblick auf die Elimination von Fäkalindikatorbakterien (Abb 123):

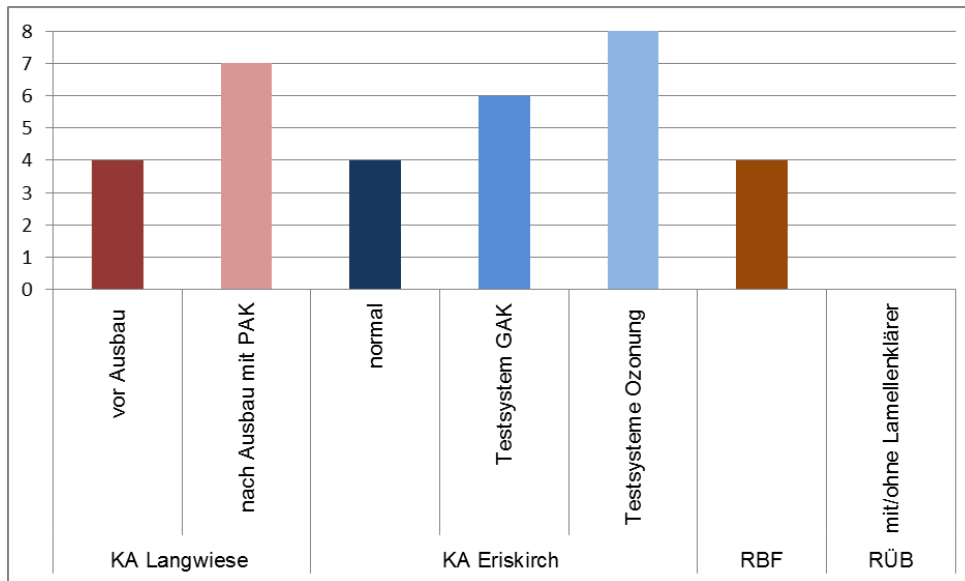


Abb.123: Bewertung der Testsysteme nach Punkten (Punkte für *E. coli* und Enterokokken aufaddiert). Für das Testsystem „Ozonung“ sind alle Kombinationen zusammengefasst. RÜB = 0 Punkte

Die Ozonung in Kombination mit verschiedenen nachgeschalteten Filtern ist die am besten geeignete Technologie, um die hygienische Belastung durch Kläranlagenausläufe zu minimieren. Sowohl Pulveraktivkohle als auch granuliert Aktivkohle führen ebenfalls zu einer Verbesserung. Ebenfalls deutlich wird die gute Eliminationsleistung des Retentionsbodenfilters, der dieselbe Punktzahl wie der dreistufige Reinigungsprozess der Kläranlagen erreicht.

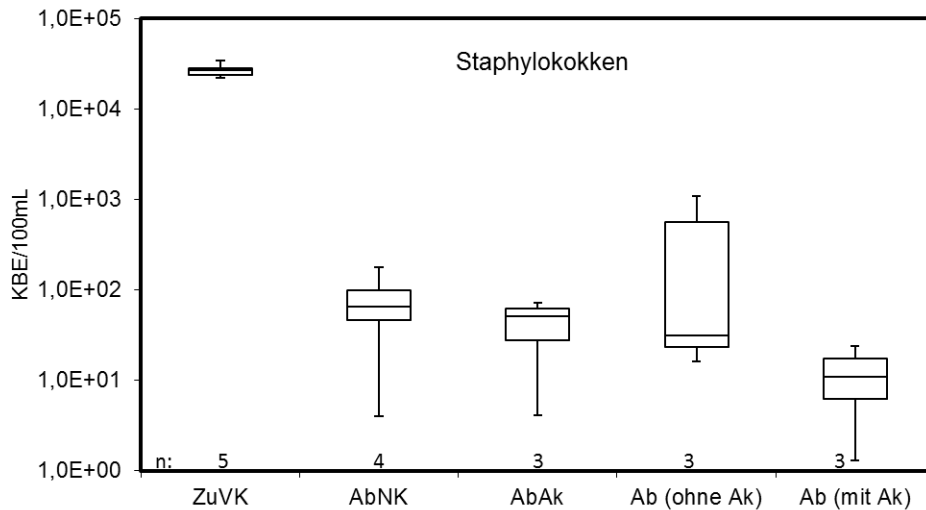
## 4.5 Antibiotika-resistente Keime (Anlagenbewertung)

Gallert, Hess (Karlsruher Institut für Technologie und Hochschule Emden/Leer)

*Kläranlage Langwiese*

### Rückhalt der Staphylokokken-Lebendzellzahlen (LZZ)

Werden die Lebendkeimzahlen der Staphylokokken betrachtet, stellte die biologische Reinigung mit nachgeschalteten Absetzbecken, die *Staphylococcus* rückhaltende Stufe dar (Elimination zwischen 2,6 und 3,8 log-Stufen; Abb. 124, Tab. 23). Wenn man die in der Abbildung 124 gezeigten *Staphylococcus*-Konzentrationen im Gesamtablauf der Kläranlage vor und nach Inbetriebnahme der PAK-Stufe miteinander vergleicht, dann waren die *Staphylococcus*-LZZ nach Ertüchtigung der Kläranlage geringer.



n: Anzahl der Probenahmen

Abb. 124: *Staphylococcus*-Konzentrationen in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Langwiese

Geht man allerdings mehr ins Detail, stellt man fest, dass diese geringeren *Staphylococcus*-Konzentrationen nicht eindeutig auf die PAK-Stufe zurückgeführt werden konnten: Die Passage dieser Stufe hatte bei den Probenahmen P und Q praktisch keinen Effekt und die rückhaltende Wirkung, die bei der Probenahme R detektiert wurde, war mit 0,1 log-Stufen relativ gering. Insgesamt können die dargestellten Ergebnisse nur als erste Tendenz gesehen werden, da die Konzentration der zudosierten PAK sowie der Flockungsmittel noch nicht optimiert war und die Stufe nicht stabil lief.

Tab. 23: Eliminationsleistung der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Langwiese hinsichtlich der Lebendkeimzahl der Staphylokokken in log-Stufen

	P	Q	R
log(ZuVK)-log(AbNK)	2,6	3,8	2,6
log(AbNK)-log(AbAk)	0	-0,01	0,1
log(AbAk)-log(Ab mit Ak)	0,5	0,5	0,7

Speziesdiversität

Während der biologischen Reinigung nahm der Anteil an *E. faecium*-Isolaten bis zu 22,3 % zu. Insgesamt aber nahm der Anteil an eher mit Faeces assoziierten Spezies (*E. faecium* und *E. faecalis*) während der Passage der Kläranlage Langwiese zugunsten des Anteils eher Umwelt-assoziiierter Spezies, wie beispielsweise *E. casseliflavus*, ab.



Betrachtet man die Speziesverteilung der Staphylokokken fällt auf, dass während der Passage der Kläranlage der Anteil an Oxidase-positiven Isolaten zunahm.

### Antibiotika-Resistenzniveau

Der prozentuale Anteil resistenter *E. coli*-, Enterokokken- und Staphylokokken-Isolate war im Ablauf des Nachklärbeckens geringer als im Zulauf zur Kläranlage, wobei diese Tendenz bei Enterokokken und Staphylokokken deutlicher ausgeprägt war als für *E. coli*. Der Anteil resistenter und multiresistenter *E. coli*-Isolate war im Ablauf der Aktivkohlestufe um mehr als 10 % höher als im Zulauf zu dieser Stufe. Diese Zunahme spiegelte sich teilweise auch im Gesamtablauf der Kläranlage nach Inbetriebnahme der PAK-Stufe wieder: Während insgesamt der Anteil resistenter *E. coli* vor und nach Inbetriebnahme der PAK-Stufe auf demselben Niveau lag, war der Anteil multiresistenter Isolate nahezu doppelt so hoch (Abb. 125).

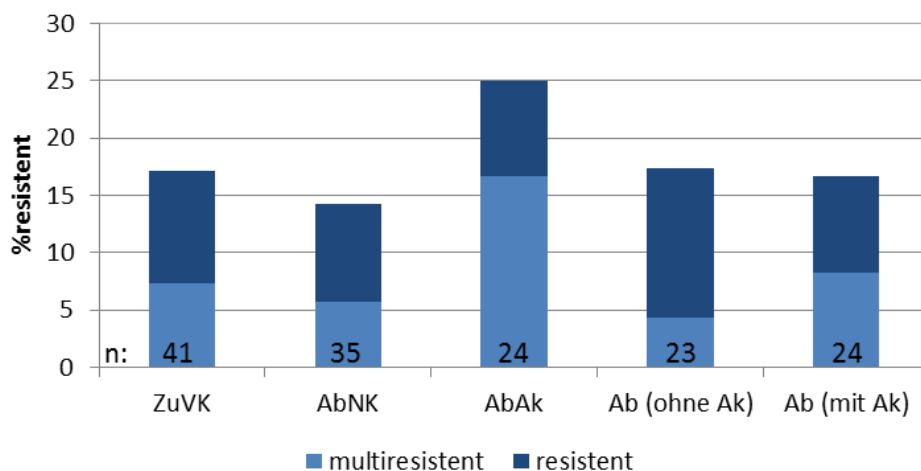


Abb. 125: Resistenzniveau von *E. coli* in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Langwiese. n: Anzahl getesteter Isolate

Die Abnahme des Anteils resistenter Enterokokken während der Passage der Kläranlage (Abb. 126) war mit der Abnahme des Anteils Erythromycin-resistenter Isolate gekoppelt. Dieser wiederum wurde durch die Abundanz d. h. die Häufigkeit von *E. faecium* bestimmt (41 % der *E. faecium*-Isolate war gegen Erythromycin resistent). In gewisser Weise determinierte die Abundanz von *E. faecium* in den einzelnen Proben das darin detektierte Resistenzniveau der Enterokokken.

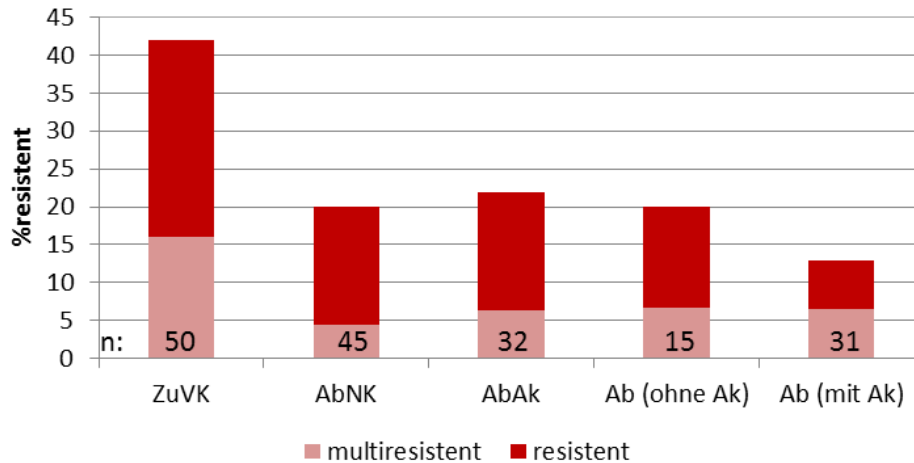


Abb. 126: Resistenzniveau von Enterokokken in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Langwiese. n: Anzahl getesteter Isolate

Bei den Staphylokokken kam es – ähnlich wie bereits für *E. coli* beschrieben – während der Passage der PAK-Stufe zu einem Anstieg des prozentualen Resistenzniveaus (Abb. 127). Insgesamt lag aber das Resistenzniveau der Staphylokokken in den Probenahmen nach Inbetriebnahme der PAK-Stufe tiefer als zuvor, was aber wohl hauptsächlich auf die Prozesse in dem der PAK-Stufe nachgeschalteten Schnellsandfilter zurückzuführen war. Sowohl bei den Enterokokken als auch bei den Staphylokokken fiel auf, dass die Passage durch den Schnellsandfilter einen unterschiedlichen Effekt auf das Resistenzniveau hatte. Dies war teilweise mit der sich ändernden Speziesdiversität zu erklären, hing aber vermutlich auch von der Betriebsweise der Filter und insbesondere der Rückspülzyklen ab.

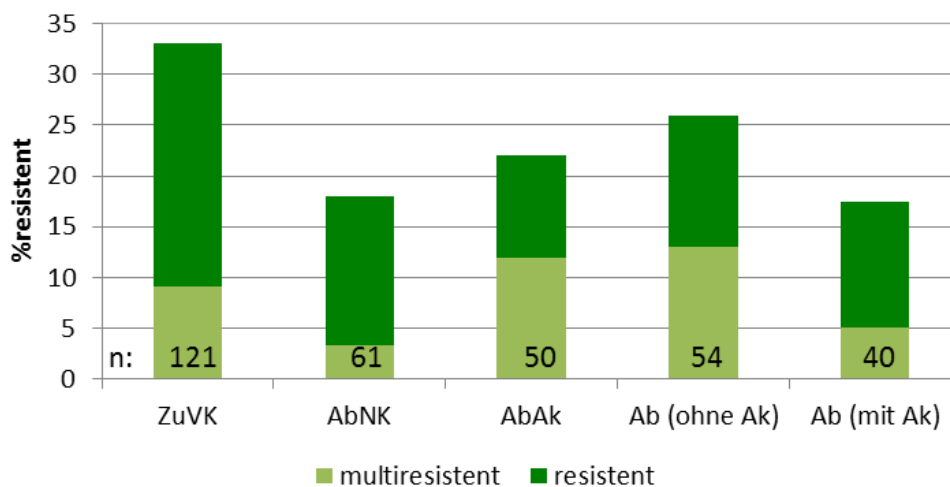


Abb. 127: Resistenzniveau von Staphylokokken in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Langwiese. n: Anzahl getesteter Isolate

## Kläranlage Eriskirch

### Rückhalt der Staphylokokken-Lebendzellzahlen (LZZ)

Ebenso wie für die Kläranlage Langwiese beschrieben wurde die größte Reduktion der Konzentration der Staphylokokken nach der biologischen Reinigung (im Ablauf der Nachklärung) detektiert (Abb. 128). Insgesamt waren die Konzentrationen der LZZ der Staphylokokken im Ablauf des Flockungsfilters (großtechnisch etablierte tertiäre Reinigungsstufe) im Mittel 3,4 log-Stufen geringer als im Zulauf zur Kläranlage. Im Vergleich zu *E. coli* und den Enterokokken war die keimeliminierende Wirkung von 4 mg/L Ozon auf die Staphylokokken geringer, was aber auch daran lag, dass bereits die Ausgangskonzentrationen der Staphylokokken-LZZ im Zulauf zum Ozonreaktor (im Mittel  $8,6 \times 10^1$  KBE/100 ml) relativ gering waren. Teilweise waren die Lebendkeimzahlen in den Abläufen der der Ozonung nachgeschalteten Filter höher als in deren Zulauf (bis zu 0,6 log-Stufen). Als Beste der in der Pilotanlage Eriskirch getesteten vierten Reinigungsstufen hinsichtlich des Rückhalts von Staphylokokken zeigte sich die Kombination „Ozonung mit nachgeschalteter kombinierter Sand- und Aktivkohlefiltration“; sie führte im Vergleich zur großtechnisch etablierten tertiären Reinigungsstufe zu einer zusätzlichen Elimination der LZZ der Staphylokokken von 0,7 log-Stufen.

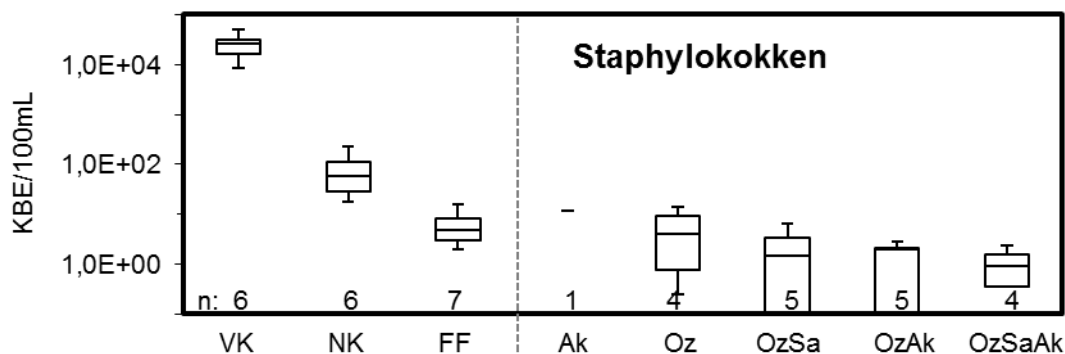


Abb. 128: *Staphylococcus*-Konzentrationen in den jeweiligen Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Eriskirch. n: Anzahl untersuchter Proben

### Speziesdiversität

Wie zu erwarten war und wie auch in den Proben der Kläranlage Langwiese nachgewiesen wurde dominierten in der Kläranlage Eriskirch Faeces-assoziierte *Enterococcus*-Spezies: 36,5 % der Isolate waren *E. faecium*, 18,2 % der Isolate *E. faecalis* und 14,5 % der Isolate *E. hirae*. Interessanterweise nahm während der Ozonung der Anteil von *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolaten von 49,1 % auf 26,3 % ab, während sich der Anteil der eher Umwelt-assoziierten Spezies *E. gallinarum* / *E. casseliflavus*, verdoppelte (Abb. 129).

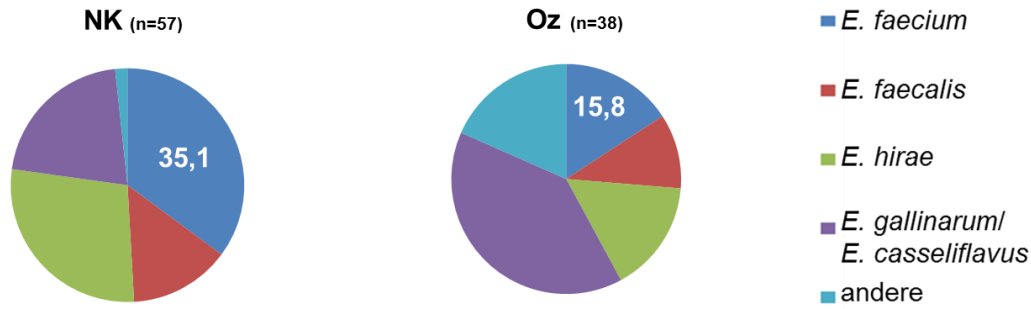


Abb. 129: Speziesdiversität der Enterokokken im Ablauf der Nachklärung (NK; entspricht dem Zulauf zur Ozonung) sowie dem Ablauf der Ozonung (Oz). n: Anzahl untersuchter Isolate

Bei den Staphylokokken wurde Ähnliches beobachtet: Während der Ozonung nahm der Anteil an *S. saprophyticus* (einer Spezies, die im Freiland eine nur nachgeordnete Rolle spielt) innerhalb der Saprophyticus-Gruppe um etwa 20 % ab.

Antibiotika-Resistenzniveau

Während der Passage der Kläranlage Eriskirch stieg der Anteil Antibiotika-resistenter *E. coli*- und *Enterococcus*-Isolate an (*E. coli*: 7,5 %; Enterokokken: 10,8 %), während der Anteil resistenter Staphylokokken um 10 % sank. Bei *E. coli* war dieser Anstieg hauptsächlich auf eine Erhöhung des Resistenzniveaus während der Passage durch den Flockungsfilter zurückzuführen (Abb. 130).

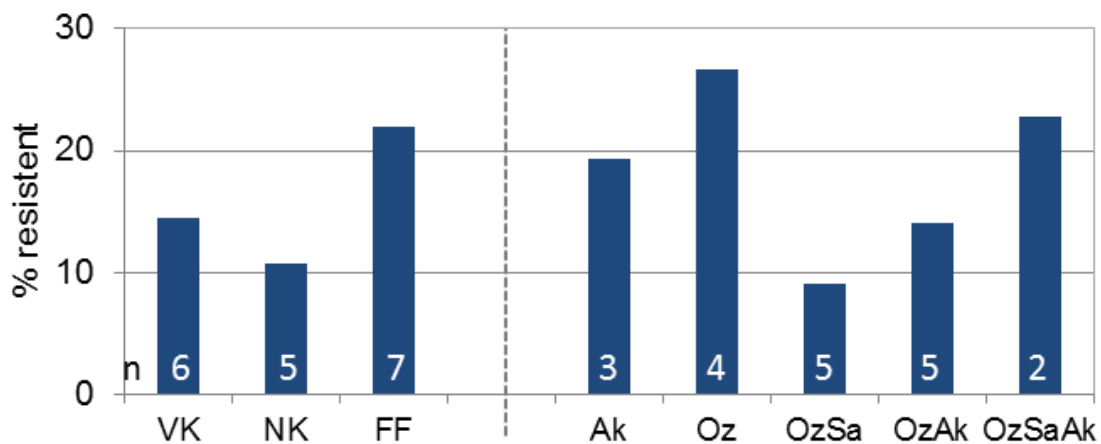


Abb. 130: Resistenzniveau von *E. coli* in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Eriskirch. n: Anzahl der Probenahmen

Die Ozonung führte bei *E. coli* und Staphylokokken zu einem erhöhten Anteil resistenter Isolate (*E. coli*: 16 %; Staphylokokken: 5,5 %), während der Anteil resistenter Enterokokken durch das Begasen mit Ozon um 25,4 % abnahm. Dieses konträre Verhalten der Enterokokken (Abb. 131) war mit der Abnahme des Anteils Erythromycin-resistenter Enterokokken und insbesondere der Abnahme der Abundanz von *E. faecium* (die Abundanz von *E. faecium* determinierte das in den jeweiligen Proben detektierte Erythromycin-Resistenzniveau: 41 % der *E. faecium*-Isolate war gegen Erythromycin resistent) gekoppelt (siehe auch vorangegangenes Kapitel).

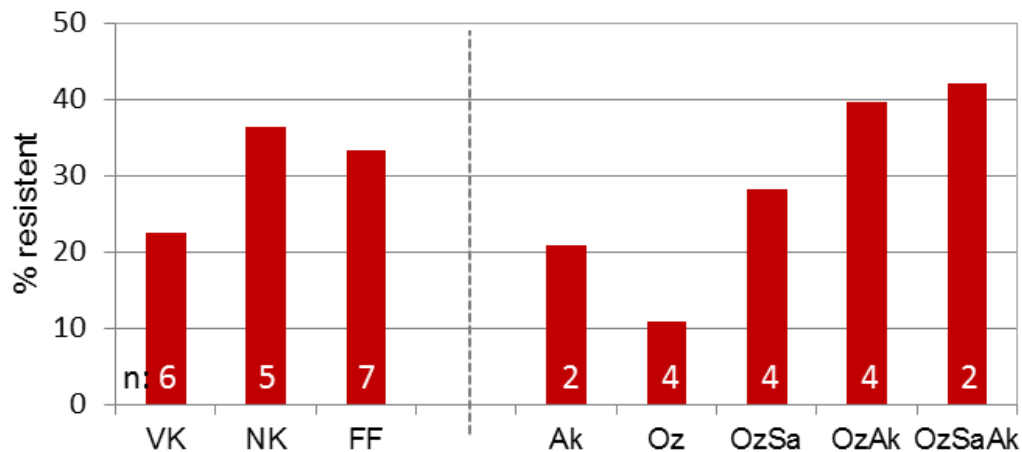


Abb. 131: Resistenzniveau von Enterokokken in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Eriskirch. n: Anzahl der Probenahmen

Das Resistenzniveau von *E. coli* und Staphylokokken (Abb. 132) nahm während der Passage der der Ozonung nachgeschalteten Filter ab, wobei die größte Abnahme nach dem Sandfilter (*E. coli*: 17,7 %, Staphylokokken: 14,5 %) und die geringste nach der Passage des kombinierten Sand- und Aktivkohlefilters (*E. coli*: 3,9 %; Staphylokokken: 5,8 %) erreicht wurde.

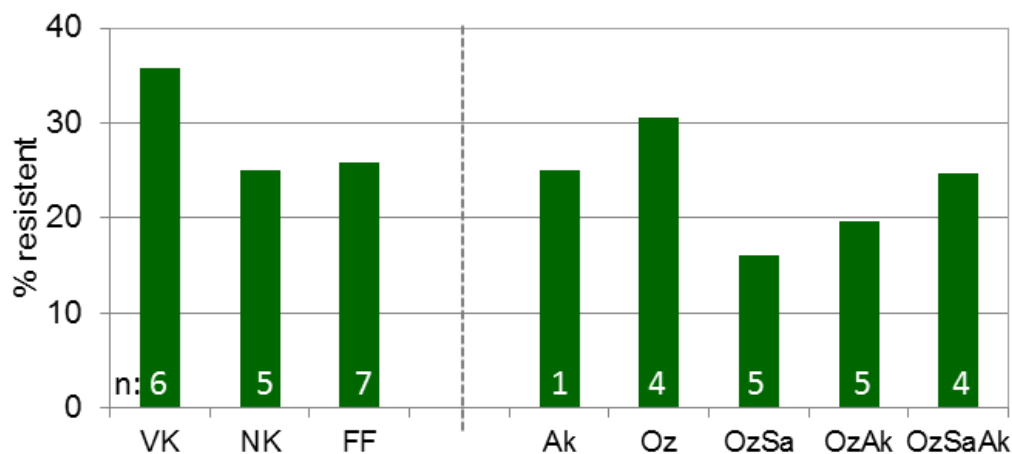


Abb. 132: Resistenzniveau von Staphylokokken in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Eriskirch. n: Anzahl der Probenahmen

Im Gegensatz dazu stieg das Resistenzniveau der Enterokokken während der Passage der Ozonung nachgeschalteten Filter an; der geringste Anstieg wurde während der Passage durch den Sandfilter (17,3 %), der größte während der Passage durch den kombinierten Sand- und Aktivkohlefilter (31,0 %) detektiert. Detaillierte Ergebnisse sind in Lüddeke et al. (2015) publiziert.

### *Kläranlage Merklingen*

#### Rückhalt der Staphylokokken-Lebendzellzahlen (LZZ)

Während der Passage durch die Kläranlage Merklingen nahm die LLZ der Staphylokokken bis zu 5 log-Stufen ab (Abb. 133).

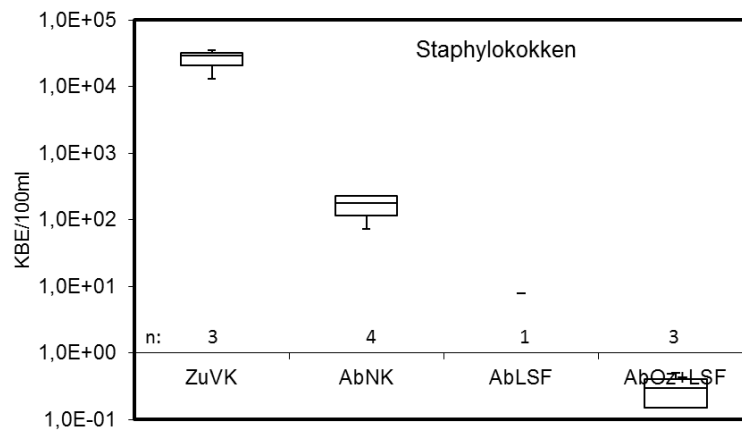


Abb. 133: *Staphylococcus*-Konzentrationen in den Abläufen der einzelnen Reinigungsstufen der Kläranlage Merklingen. n: Anzahl der Probenahmen

Da es nur eine Probenahme vor Inbetriebnahme der Ozonung im Vollstromverfahren gab (bei dieser wurde der Gesamtzulauf zur Anlage nicht beprobt), die Ozonung von mehreren Störungen unterbrochen wurde und der Langsamsandfilter eine Aufenthaltszeit von mehreren Wochen aufweist, ist eine differenzierte Beurteilung der Ozonung im Hinblick auf die Keimeliminierung nicht möglich.

#### Speziesdiversität

Wegen der guten Eliminierungseffektivität des Langsamsandfilters mit vorangeschalteter Ozonung konnten nur wenige *Enterococcus*- (3 Isolate aus dem Ablauf des Langsamsandfilters) und *Staphylococcus*-Isolate (27 Isolate aus dem Ablauf des

Langsamsandfilters) gewonnen werden. Deswegen ist bezüglich der Abundanz einzelner Spezies und der Diversität insgesamt keine statistisch abgesicherte Aussage möglich.

### Antibiotika-Resistenzniveau

Wie bereits bezüglich der Speziesdiversität erwähnt, ist aufgrund der zu geringen Anzahl an Isolaten keine Aussage hinsichtlich des Resistenzniveaus von *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken möglich.

### *Regenüberlaufbecken Mariatal*

#### Lebendzellzahl (LZZ) der Staphylokokken

Die Passage durch das Regenüberlaufbecken Mariatal führte zu keiner signifikanten Reduktion der Konzentration der Staphylokokken-LZZ unabhängig davon, ob im Ablauf ein Schräglamellenklärer installiert war oder nicht (Abb. 134).

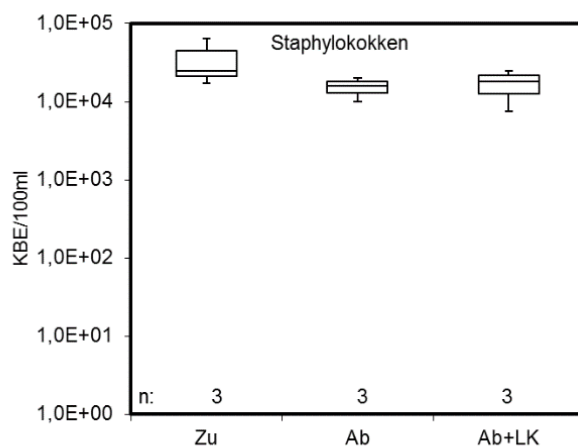


Abb. 134: *Staphylococcus*-Konzentrationen im Zu- und den beiden Abläufen (mit und ohne Lamellenklärer (LK)) des Regenüberlaufbeckens Mariatal. n: Anzahl untersuchter Proben

### Speziesdiversität

Die Anzahl untersuchter Enterokokken-Isolate war zu gering (Zulauf: 33; Ablauf ohne Lamellenklärer: 32; Ablauf mit Lamellenklärer: 30), um statistisch abgesicherte Aussagen hinsichtlich eines Einflusses vom Oberflächenabfluss im mit Niederschlag verdünnten Abwasser sehen zu können.

Der Einfluss vom Oberflächenabfluss war in der Speziesverteilung der Staphylokokken insofern sichtbar, dass der Anteil an Oxidase-positiven Isolaten, die im Freiland eine größere

Rolle spielen als im Rohabwasser, höher war als im Zulauf zur Kläranlage bei Trockenwetter (46,7 % der Isolate wurden als *S. lentus* oder *S. sciuri* identifiziert). Außerdem war der Anteil an *S. xylosus*-Isolaten innerhalb der Saprophyticus-Gruppe höher als im Rohabwasser bei Trockenwetter (75 % der Isolate, die in die Sciuri-Gruppe gehörten waren *S. xylosus*).

### Antibiotika-Resistenzniveau

Wenn man das Resistenzniveau von *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken bei den einzelnen Probenahmen betrachtet, erkennt man kein einheitliches Bild (Abb. 135). Die Anzahl der Isolate aus den einzelnen Probenahmen war zu gering, um statistisch abgesichert eine Veränderung im Resistenzniveau während der Passage durch das Regenüberlaufbecken nachweisen zu können.

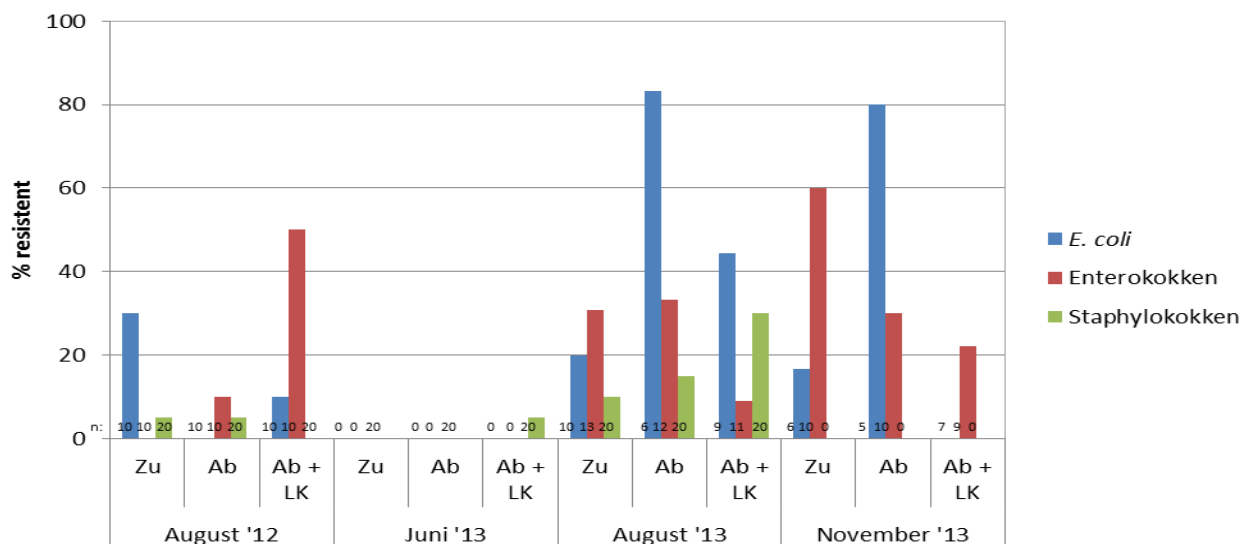


Abb. 135: Resistenzniveau von *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken in den Zu- und Abläufen (mit und ohne Lamellenklärer (LK)) des Regenüberlaufbeckens Mariatal gesplittet in die vier Probenahmen. n: Anzahl untersuchter Isolate

### *Retentionsbodenfilter Tettang*

Die Ergebnisse sind bei Scheurer et al. (2015) publiziert.

### Lebendzellzahlen (LZZ) der Staphylokokken

Die Passage durch den Retentionsbodenfilter in Tettang führte zu einer Reduktion der Konzentration der Staphylokokken-LZZ um 2 log-Stufen. Damit war die Retentionsleistung des Bodenfilters mit der biologischen Reinigungsstufe der Kläranlage Eriskirch vergleichbar. Bei diesem Vergleich bleibt allerdings zu berücksichtigen, dass bereits die



Zulaufkonzentrationen zum Retentionsbodenfilter (mit Niederschlag verdünntes Abwasser) geringer waren als im Zulauf zur Kläranlage Eriskirch bei Trockenwetter.

### Speziesdiversität

Während die Speziesverteilung der Enterokokken im Zulauf zum Retentionsbodenfilter Tettang eher der im Rohabwasser als dem Freiland ähnelte, lag die Speziesverteilung der Staphylokokken „zwischen“ der im Rohabwasser und der im Freiland detektierten: Der Anteil an Oxidase-positiven Isolatens der Sciuri-Gruppe lag bei 59,3 % und damit deutlich höher als im Rohabwasser. Außerdem wurden 40,9 % der Isolate, die in die Saprophyticus-Gruppe gehören, als *S. xylosus* identifiziert (Abb. 136).

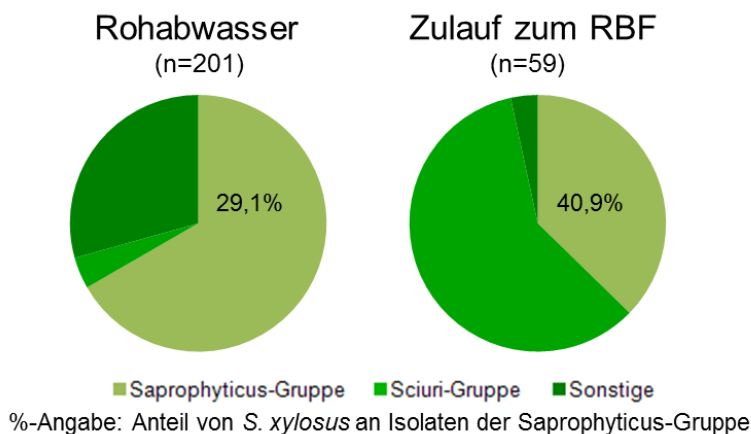


Abb. 136: Speziesdiversität der Staphylokokken im Rohabwasser und Zulauf zum Retentionsbodenfilter Tettang. n: Anzahl der untersuchten Isolate

### Antibiotika-Resistenzniveau

Während der Passage durch den Retentionsbodenfilter nahm der Anteil resistenter *E. coli* und Staphylokokken um 7,3 bzw. 10,1 % ab, während sich der Anteil resistenter Enterokokken nicht signifikant veränderte, wobei aber die Anzahl der untersuchten Isolate berücksichtigt werden sollte (Abb. 137).

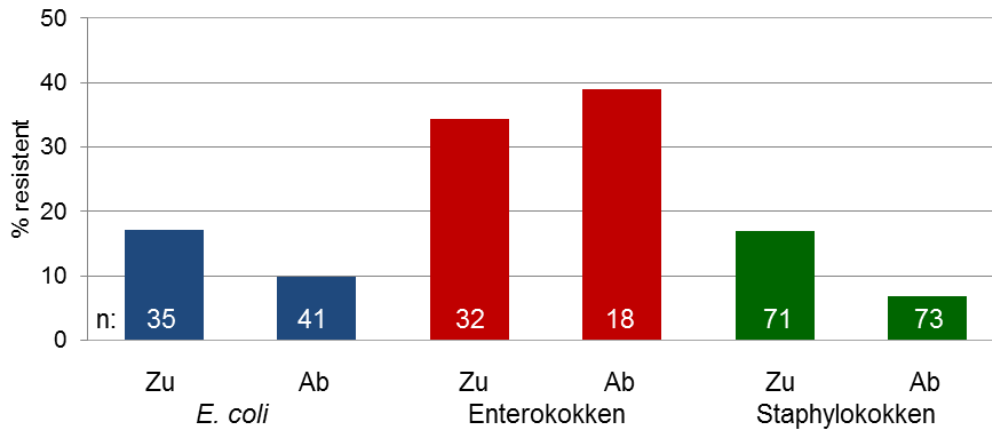


Abb. 137: Resistenzniveau von *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken im Zu- und Ablauf zum Retentionsbodenfilter in Tettngang. n: Anzahl untersuchter Isolate

## Diskussion

In allen drei Testkläranlagen wurde die größte Reduktion (zwischen 2 und 3 log-Stufen) der LZZ der Staphylokokken nach der biologischen Reinigung beobachtet. Generell scheint die sekundäre Reinigung die höchste Effektivität hinsichtlich des Rückhalts von Bakterien aufzuweisen (George et al. 2002; Hijnen et al. 2000), was möglicherweise auf Protozoenfraß und Sedimentation von an Belebtschlammflocken adsorbierten Bakterien zurückzuführen sein könnte. Der Rückhalt von kultivierbaren Staphylokokken (bis zu 4 log-Stufen) in den drei Testkläranlagen war höher als der von Faria et al. (2009) ermittelte (etwa 2 log-Stufen). Wenn man die einzelnen Reinigungsstufen genauer betrachtet, war teilweise die Passage durch die jeweiligen Schnell- bzw. Langsamsandfilter problematisch: So waren teilweise die LZZ der Staphylokokken im Ablauf bis zu 0,7 log-Stufen höher als in den jeweiligen Zuläufen. Die Betriebsweise der Filter, insbesondere die Rückspülintervalle wie auch das Filtermaterial selbst, scheinen die Rückhalteleistung der Filter zu beeinflussen. Die Untersuchungen von Foppen et al. (2010) haben gezeigt, dass Sphärizität, Beweglichkeit, Zeta-Potential, Fähigkeit zur Bildung von Zellaggregaten, Lipopolysaccharid-Zusammensetzung sowie Proteine auf der Zelloberfläche das „Anlagern“ von Bakterien an Quarzkörner beeinflussen. Zelloberflächen von Bakterien sind geladen, und möglicherweise kann ein höherer Rückhalt in der PAK-Stufe der Kläranlage Langwiese durch die zusätzliche Zudosierung von Fällmitteln erreicht werden.

Derzeit wird in der Wissenschaft diskutiert (Exner und Schwartz 2015), ob der Einsatz von Ozon in der Abwasserreinigung selektiv zu einer relativen Anreicherung von Antibiotika-resistenten Bakterien führt. In der Pilotanlage in Eriskirch war der Anteil Antibiotika-resistenter *E. coli* und Staphylokokken im Ablauf des Ozonreaktors höher als in dessen Zulauf, während der Anteil Antibiotika-resistenter Enterokokken abnahm. Ähnliche

Ergebnisse wurden aus dem BMBF-Projekt TransRisk berichtet; dort wurde eine Zunahme von *bla<sub>VIM</sub>*-Genen detektiert (Exner und Schwartz 2015). Simulationen der Ozonung der Pilotanlage im Labor haben allerdings gezeigt, dass die Empfindlichkeit gegen Ozon multikausal erklärt werden muss, wobei die Synthese von Pigment und extrapolymerer Substanzen einen größeren Einfluss zu haben scheint als der Besitz und die Expression eines Antibiotika-Resistenzgens (Heß und Gallert 2015a). Selbst wenn es durch eine Verschiebung der Abundanz einzelner Spezies zu Veränderungen im Resistenzniveau kam, überwog die keimeliminierende Wirkung des Ozons, so dass die absoluten Konzentrationen Antibiotika-resistenter *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken im Vergleich zum Flockungsfilter durch die Ozonung mit nachgeschalteter Filtration um etwa eine log-Stufe weiter reduziert werden konnten. Die Frage, die es allerdings in diesem Zusammenhang zu klären gilt, ist diejenige nach dem Schicksal der Zellen während der Ozonung. Würden diese zerstört, könnte die freie DNA inklusive der Resistenzgene während der nachgeschalteten Filterpassage von beispielsweise dort in Biofilmen organisierten Zellen quantitativ aufgenommen werden.

Die Hauptaufgabe von Regenüberlaufbecken ist nicht, die Bakterienfracht signifikant zu senken, was aufgrund der begrenzten Aufenthaltszeiten auch nicht möglich wäre. Durch den Einsatz eines Schräglamellenklärsers konnte diese nicht so extrem verlängert werden, dass Partikel in der Größe von Bakterien (wenige Mikrometer im Durchmesser) sedimentierten.

Die Passage durch den Retentionsbodenfilter in Tettnang führte zu einer absoluten Reduktion der Konzentration Antibiotika-resistenter *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken in der Größenordnung von 2,1 bis 2,9 log-Stufen. Im Gegensatz zu den Filtersystemen in den Kläranlagen Langwiese und Eriskirch wurde während der Passage durch den Retentionsbodenfilter bei keiner Probenahme ein Anstieg der LZZ der Staphylokokken detektiert. Möglicherweise spielen dort Prädation und die vermutlich deutlich längeren Aufenthaltszeiten eine entscheidende Rolle.

## **4.6 Biotests *in vitro* zur Bewertung der Anlagen**

### **4.6.1 Gentoxizität**

#### **Ames-Fluktuationstest**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Mutagene Wirkpotentiale wurden in 4-fach angereicherten SPE-Extrakten der Abwasserproben mit Hilfe des Ames-Fluktuationstests mit dem Bakterium *Salmonella thyphimurium* des Stammes YG7108 untersucht. Hierbei zeigten sich nur in

Ausnahmefällen positive Befunde mit ausschließlich geringen mutagenen Potentialen für die Proben der Kläranlagen sowie der Regenüberlaufbecken. Lediglich in der Kläranlage Eriskirch wurde im Mittel aller Probenahmen eine erhöhte Mutagenität in den Abwasserproben ermittelt (Abb. 138A). Dieses Ergebnis war insbesondere bei der Probenahme im Juli 2013 festzustellen (Abb. 138B). Im Ablauf der Vorklämung (VK) wurde zunächst eine 100 %ige Zytotoxizität für die Bakterien festgestellt. Vor allem die Proben NK (33,3 %), FF (31,3 %), OZ (58,3 %) und OZ AK (50,0 %) zeigten eine erhöhte Mutagenität, die deutlich über dem Schwellenwert für positive Befunde von 20,8 % lag. Dieser mutagene Effekt der Ozonbehandlung wurde durch den anschließenden Sandfilter um 100 % und mit Hilfe der Kombination aus Sandfilter und Aktivkohle um 79 % reduziert. Im Mittel aller Probenahmen zeigte die Ozonbehandlung eine erhöhte Mutagenität von 25,7 %, die mit dem anschließenden Sandfilter auf 4,17 % reduziert wurde.

Diese Ozon-induzierte Mutagenität konnte bereits in vorherigen Studien nachgewiesen werden. Magdeburg et al. (2014) beobachteten ebenfalls unter Verwendung des Bakterienstamms YG7108 eine Erhöhung der Mutagenität in Abwasserproben nach Ozonbehandlung und stellten gleichzeitig fest, dass sich dieser Effekt mit der Ozondosis und Dauer der Behandlung erhöht. Die saisonalen Schwankungen lassen sich möglicherweise durch äußere Randbedingungen, wie den Wetterverhältnissen oder Konzentrationsunterschieden von verantwortlichen (unbekannten) Substanzen oder deren toxischen Transformationsprodukten im Sommer, erklären. In dieser Studie konnte der Sandfilter als effektivste Technologie identifiziert werden, um durch die Ozonbehandlung induzierte mutagene Wirkpotentiale wirksam zu eliminieren, was die Notwendigkeit einer der Ozonung nachgeschalteten Weiterbehandlung deutlich unterstreicht.

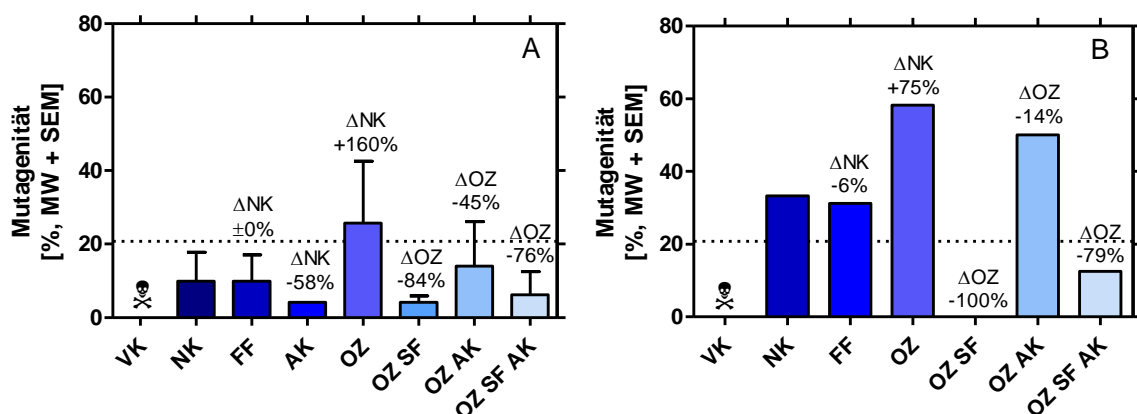


Abb. 138: Mutagene Wirkpotentiale in den 4-fach angereicherten Extrakten der KA Eriskirch im Ames-Test mit *Salmonella thyphimurium*, Stamm YG7108. Dargestellt ist die Anzahl der Revertanten im Mittel aller Probenahmekampagnen (A) sowie für die Probenahme im Juli 2013 (B) in % als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM). Gestrichelte Linie = Schwellenwert für positive Befunde. ☹ = 100 % Zytotoxizität

Die Untersuchungen der Zusatzprobenahme am RBF zeigte in den extrahierten Proben an den Probestellen 3, 5 und 6 in einer Horizonttiefe von 0 - 30 cm eine signifikant erhöhte Zytotoxizität an (Daten nicht abgebildet).

### SOS-Chromotest

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

In den Zuläufen (ZU) und Abläufen (AB) der Kläranlage Langwiese konnten genotoxische Potentiale gemessen werden (Tab. 24, Abb. 139). Das Ergebnis, der MGC, wurde als Konzentrationsfaktor ausgedrückt (z. B zeigt der Wert 12 eine 12fache Konzentration der Originalprobe an).

Tab. 24: Ergebnisse des SOS-Chromotests, ausgedrückt als MGC (die Konzentration, bei der der IF signifikant erhöht ist im Vergleich zur Lösemittelkontrolle – kleinere Werte deuten auf höhere genotoxische Potentiale hin), n.e. – kein Effekt - keine SOS-Induktion bis zur höchsten Konzentration (z. B. 12fach konzentriertes Wasser und Abwasser und 0,1 g Sediment dw/mL)

#### Proben von 2012

Probe	K3-Sediment	K4-Sediment	K3-Wasser	K4-Wasser
Genotox (MGC)	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Probe	KL-ZU	KL-AB	LL-AB	
Genotox (MGC – Verdünnungsfaktor des Abflusses)	6x	6x	12x	

#### Proben von 2013

Probe	OL-AB	PL-ZU	PL-AB
Genotox (MGC)	12	6	n.e.

#### Proben von 2014

Probe	QL-AB	RL-ZU	RL-AB
Genotox (MGC)	n.e.	12	n.e.

Daher spiegeln kleine Werte ein höheres toxisches Potential wider. Genotoxizität wurde in den meisten Zuläufen gemessen, ebenso wie in den Abläufen der Probenahmen K, L und O (kein Aktivkohlefilter zu diesen Zeitpunkten). In den Abläufen der Probenahmen P, Q und R konnten keine genotoxischen Effekte festgestellt werden (Aktivkohlefilter in Betrieb). Dies zeigt deutlich, dass durch die zusätzliche Reinigung genotoxische Potentiale reduziert wurden.

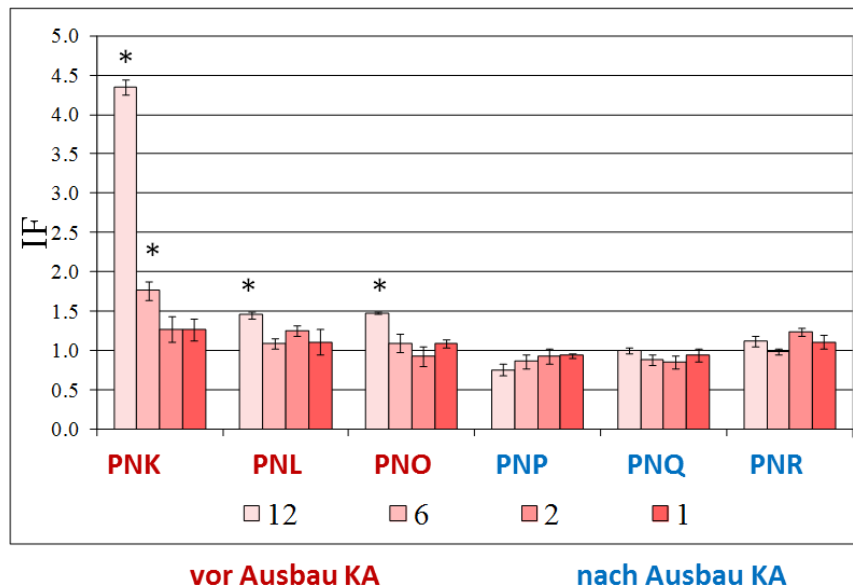


Abb. 139: Ergebnisse des SOS-Chromotests für Ablaufproben der KA Langwiese zu den Probenahmezeitpunkten K, L, O (vor Ausbau Kläranlage) und P, Q, R (nach Ausbau Kläranlage). Dargestellt sind die Dosis-Wirkungs-Kurven des induction factors (IF) für einen Schaden des SOS-DNA-Reporter-Beta-Galactosidase-Enzyms. Die Konzentrationen sind ausgedrückt als „Konzentrationsfaktoren“ 1x, 2x, 6x oder 12x (z. B. 12 = 12fach konzentrierte Probe). Signifikante genotoxische Effekte sind mit Sternchen markiert

## 4.6.2 Dioxinähnliche Toxizität

### Hefezell-basierter Test

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Dioxinähnliche Wirkpotentiale konnten weder in den nativen, noch in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Abwasserproben mit dem Yeast Dioxin Screen nachgewiesen werden. Aus diesem Grund kann keine Bewertung der Eliminationsleistung der Kläranlagen und Regenmischwassersysteme hinsichtlich der dioxinähnlichen Wirkpotentiale vorgenommen werden.

## **Reporterassay H4IIE-luc-Zellen**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

### *Kläranlage Langwiese*

Vor dem Ausbau der KA Langwiese konnten im Ablauf (Ab FF) noch dioxinähnliche Potentiale festgestellt werden (Abb. 140). Nach dem Ausbau mit einem Aktivkohlefilter lagen diese Werte unter der Bestimmungsgrenze. Dies zeigt, dass Aktivkohle sehr gut geeignet ist, diese Potentiale aus dem Abwasser herauszufiltern.

### *Kläranlage Eriskirch*

Durch den regulär vorhandenen Flockungsfilter (3. Reinigungsstufe) kommt es bereits zu einer deutlichen Reduktion der dioxinähnlichen Potentiale (Abb. 140). Die einzelnen Behandlungsstufen in der Modellanlage zeigen eine noch stärkere Reduktion, bis hin zu Werten unter der Bestimmungsgrenze. Ozon und Aktivkohle führen somit zu einer Abnahme der dioxinähnlichen Potentiale im Ablauf.

### *Kläranlage Merklingen*

Der Ablauf der Kläranlage Merklingen zeigt geringere dioxinähnliche Potentiale als der Zulauf (Abb. 140). Nach der Behandlung mit Ozon liegen diese sogar unter der Bestimmungsgrenze.

### *Regenüberlaufbecken Mariatal*

Beim Regenüberlaufbecken konnte keine Reduktion der dioxinähnlichen Potentiale festgestellt werden (Abb. 140).

### *Retentionsbodenfilter Tettnang*

Der Retentionsbodenfilter bewirkt eine Reduktion der dioxinähnlichen Potentiale (Abb. 140).

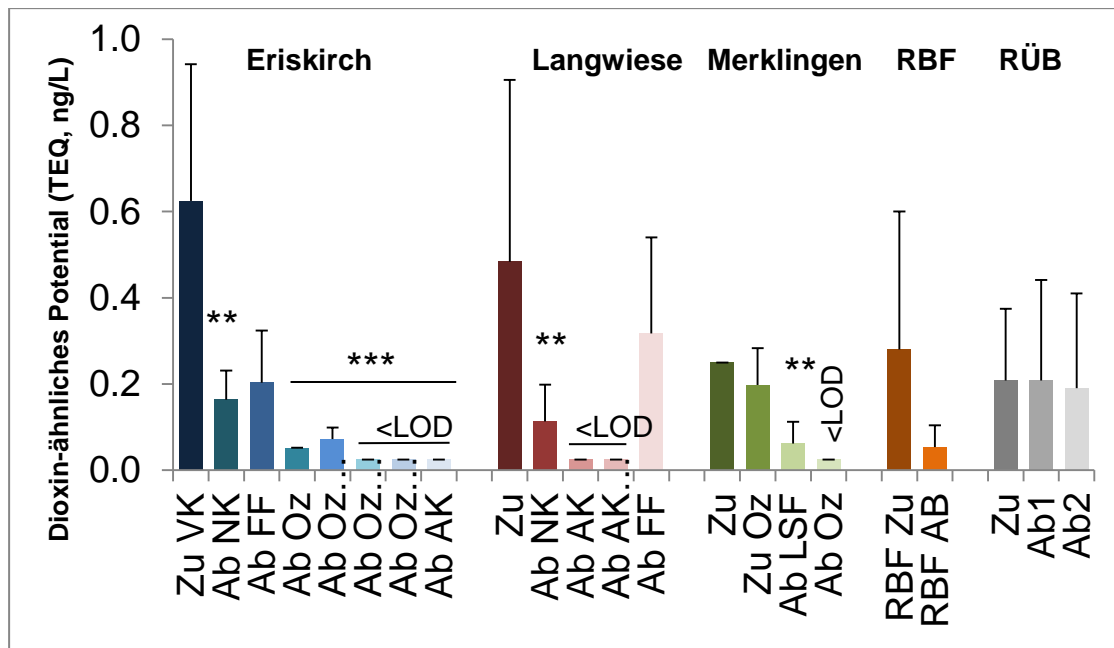


Abb. 140: Dioxinähnliche Potentiale an den 5 Testsystemen

### 4.6.3 Östrogenität

#### Hefe-basierter Reporterassay

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)

Östrogene Wirkpotentiale in den Abwasserproben der Versuchsanlagen wurden mit Hilfe des Yeast Estrogen Screen (YES) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. In den nativen Proben traten keine östrogenen Aktivitäten oberhalb der Nachweisgrenze des Tests auf (Daten nicht dargestellt).

In den Extrakten der Zulaufproben der KA Eriskirch (Abb. 141A), Langwiese (Abb. 141B), Merklingen (Abb. 141C) und des RÜB Mariatal (Abb. 141D) wurden erhöhte östrogene Aktivitäten nachgewiesen. In den Proben des RBF Tettang lagen die östrogenen Aktivitäten unterhalb der Nachweisgrenze des Tests (Daten nicht dargestellt).

In den drei Kläranlagen konnte mithilfe der konventionellen Reinigung (NK) die östrogene Aktivität um 48 % (KA Eriskirch), 76 % (KA Langwiese) und 52 % (KA Merklingen) bereits effektiv reduziert werden, so dass die verbleibende Östrogenrezeptor-Aktivierung bei 19 % (KA Eriskirch), 7 % (KA Langwiese) und 33 % (KA Merklingen) lag. Alle erweiterten Abwasserreinigungstechnologien reduzierten in allen drei Kläranlagen die östrogene Aktivität weiter um 69 - 92 %. In der KA Eriskirch wurden in der Pilotanlage Eliminationsraten zwischen 69 % (OZ SF AK) und 86 % (OZ SF und OZ AK) erreicht. In der KA Langwiese führte die Behandlung mit Pulveraktivkohle bzw. dem anschließenden Sandfilter zu einer



Reduktion der östrogenen Aktivität um 90 – 93 %. In der KA Merklingen konnte die östrogene Aktivität mit der Kombination aus Ozon und Sandfilter um weitere 70 % reduziert werden.

Diese Ergebnisse bestätigen Literaturdaten, die über eine effektive Elimination östrogenen Aktivitäten durch die konventionelle Abwasserreinigung (Kirk et al. 2002; Leusch et al. 2014) sowie durch erweiterte Abwasserreinigungstechnologien berichten. In einer Studie von Stalter et al. (2011) wurden Eliminationsraten von 69 – 98 % nach Ozonbehandlung, 88 – 95 % nach Ozonbehandlung in Kombination mit einem Sandfilter und 77 % nach Behandlung mit Pulveraktivkohle in Kombination mit einem Sandfilter ermittelt.

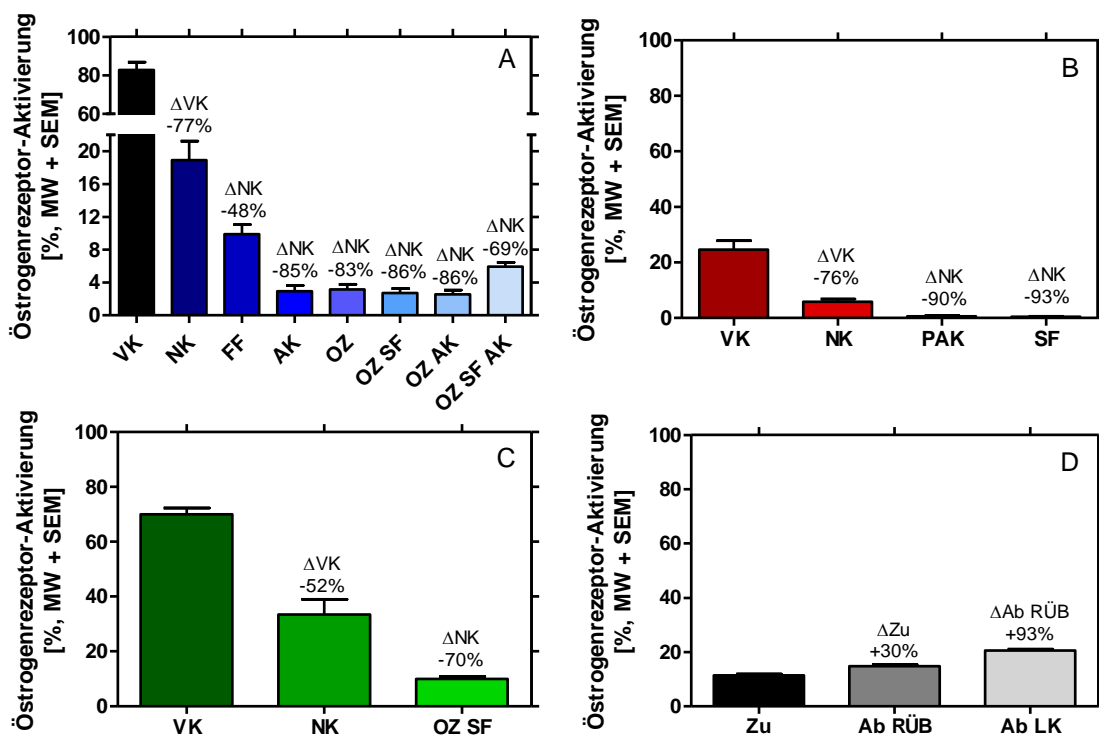


Abb. 141: Östrogene Wirkpotentiale in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Abwasserproben, ermittelt mit dem Yeast Estrogen Screen. Dargestellt ist die Aktivierung des Östrogenrezeptors aller Probenahmen an den KA Eriskirch (A), Langwiese (B) und Merklingen (C) sowie am RÜB Mariatal (D) als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM)

Im RÜB Mariatal, das ebenfalls einen Eintragspfad für abwasserbürtige und normalerweise in Kläranlagen gut eliminierbare Substanzen darstellt, konnte eine östrogene Aktivität von 11 % Rezeptor-Aktivierung festgestellt werden (Abb. 141D). Diese Aktivitäten deuten auf einen erhöhten Anteil an ungereinigtem kommunalem Abwasser in diesen Proben hin. Das konventionell arbeitende Bauwerk (Ab RÜB) führte zu keiner Reduktion der östrogenen Aktivität. Im Gegenteil stieg hier die Östrogenität um 30 % im Vergleich zum Zulauf an. Der parallel eingesetzte Lamellenklärer (Ab RÜB LK), der zu einer Verringerung der

Partikelfracht beitragen kann, zeigte im Vergleich zum konventionellen System bei dieser Untersuchung eine Verschlechterung, denn hier stieg die östrogene Aktivität im Vergleich zum Ablauf ohne den Lamellenklärer um 93 % an. Dieser Anstieg lässt sich durch die Abnahme anti-östrogener Aktivitäten in der Probe AB RÜB LK im Vergleich zur Probe Ab RÜB (Abb. 141D) erklären.

In den wässrigen Eluaten der sechs Probestellen der Zusatzuntersuchung am RBF lagen keine östrogenen Potentiale vor, ebenso wie in den extrahierten Proben.

### **Reporterassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa- Zelllinie**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

#### *Kläranlage Langwiese*

Geringere östrogene Potentiale konnten bereits im Ablauf der Nachklärung (Ab NK) gemessen werden (Abb. 142). Durch den Flockungsfilter konnte vor dem Ausbau (Ab FF) eine weitere Reduktion dieser Potentiale vermerkt werden. Durch die Behandlung mit Aktivkohle nach dem Ausbau lagen die Werte unter der Bestimmungsgrenze, stiegen jedoch nach dem Flockungsfilter wieder leicht an.

#### *Kläranlage Eriskirch*

Ebenso wie bei der KA Langwiese konnten im Ablauf der Nachklärung geringere östrogene Potentiale festgestellt werden (Abb. 142). Die einzelnen Behandlungsstufen in der Modellanlage führten daher nur noch zu leicht geringeren Werten.

#### *Kläranlage Merklingen*

Im Zulauf zur Ozonanlage (Zu Oz) konnte bereits eine signifikante Reduktion östrogener Potentiale im Vergleich zum Zulauf festgestellt werden (Abb. 142). Nach dem Langsandsandfilter und der Ozonbehandlung ist diese Reduktion noch stärker.

#### *Regenüberlaufbecken Mariatal*

Beim Regenüberlaufbecken konnte nur eine sehr geringe Reduktion der östrogenen Potentiale festgestellt werden (Abb. 142).

### Retentionsbodenfilter Tettang

Bereits in den Zulaufproben des Retentionsbodenfilters konnten nur geringe östrogene Potentiale gemessen werden, die im Ablauf noch etwas geringer ausfielen (Abb. 142).

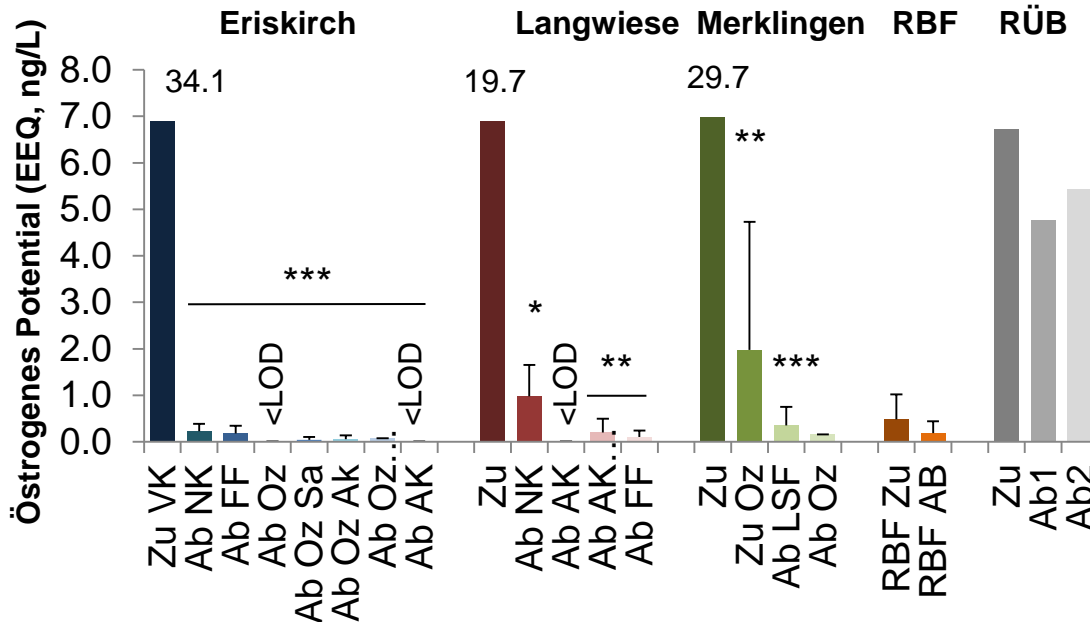


Abb. 142: Östrogene Potentiale an den 5 Testsystemen

### E-Screen-Assay

Kuch (Universität Stuttgart)

Bei dem E-Screen-Assay handelt es sich um einen Proliferationstest mit menschlichen Brustkrebszellen, der eine sehr niedrige Bestimmungsgrenze von  $< 0,1$  ng/L  $17\beta$ -Estradiol-Konzentrationsäquivalenten (EEQ) aufweist.

Mit dem E-Screen-Assay konnten über den gesamten Untersuchungszeitraum in den Kläranlagenzuläufen östrogene Gesamtaktivitäten zwischen 40 ng/L und 180 ng/L (EEQ in Konzentrationseinheiten der Bezugssubstanz  $17\beta$ -Estradiol) bestimmt werden. Die Eliminationsleistungen der konventionellen Abwasserbehandlung lagen für die Anlagen Eriskirch und Langwiese bei über 95 %; bei der kleineren KA Merklingen wurde diese Eliminationsleistung nicht ganz erreicht.

#### Kläranlage Langwiese

Im Zulauf der KA Langwiese wurde im Untersuchungszeitraum mit dem E-Screen-Assay eine mittlere östrogene Aktivität von 76 ng/L ( $17\beta$ -Estradiol-Äquivalentkonzentration = EEQ) ermittelt. Die konventionelle Abwasserreinigung der Langwiese eliminierte  $96,4 \% \pm 1,02 \%$

(Bilanzierungspaare Ablauf VK = Ablauf mechanische Vorklärung und Ablauf NK = Ablauf Nachklärung) (Abb. 143). Die in Langwiese betriebene Flockungsfiltration verringerte die östrogene Aktivität im Mittel um weitere 51 % (bezogen auf die Konzentrationen im Ablauf NK = Zulauf FF).

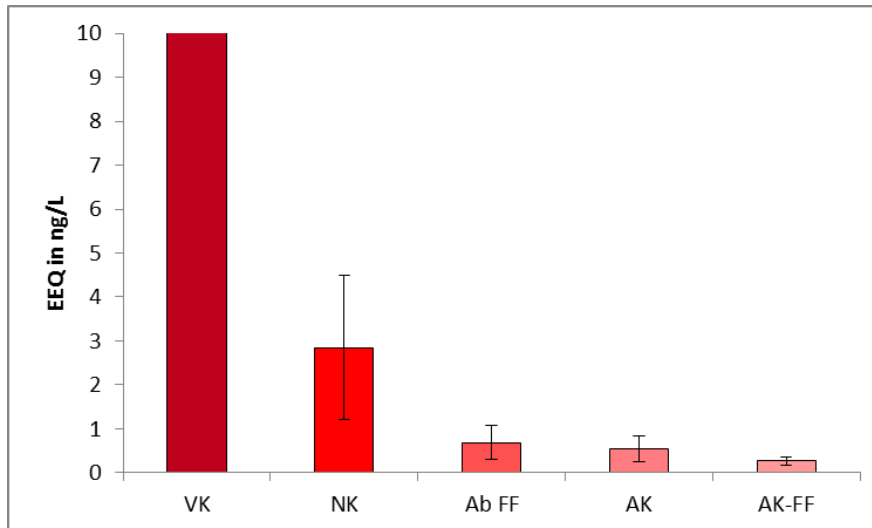


Abb. 143: KA Langwiese – Östrogene Gesamtaktivität in den Abwasserproben. Konventionelle Verfahrensschritte grau; weitergehende Abwasserreinigungstechnologien blau; Mittlerer EEQ im Ablauf der Vorklärung: 76 ng/L. AB VK: Ablauf Vorklärung (= Zulauf Biologie); AB NK: Ablauf Nachklärung (= konventioneller Ablauf); AB FF: Ablauf Flockungsfiler; AB AK: Ablauf Sedimentationsbecken Pulveraktivkohle; AB AK FF: Ablauf Flockungsfiltration nach Ablauf Sedimentationsbecken

Der in Langwiese großtechnisch verwirklichte Einsatz von Pulveraktivkohle führte zu einer weiteren Reduktion der mit dem E-Screen-Assay ermittelten östrogenen Aktivität um 68 % ± 13 % (Bezugsgröße Konzentrationen im Ablauf des Nachklärbeckens = Zulauf AK).

Zur Entfernung von abtreibender beladener Kohle werden Pulveraktivkohleanlagen immer mit einem nachgeschalteten Flockungsfiler betrieben. Dieser reduzierte die östrogene Aktivität um 86 % ± 5 % (Bezug Ablauf Nachklärung). Diese Elimination beruht in erster Linie auf der Entfernung von partikelgebundenen ausgetragenen östrogenaktiven Verbindungen.

#### *Kläranlage Eriskirch*

Die konventionelle Abwasserreinigung der KA Eriskirch entfernte im Untersuchungszeitraum im Mittel 97,9 ± 1,02 % der in die KA eingetragenen östrogenen Aktivität. Die ebenfalls zur konventionellen Abwasserbehandlung gehörende Flockungsfiltration (FF) verringerte die östrogene Aktivität um 14 % (Bezugsgröße Konzentrationen im Ablauf des Nachklärbeckens). Die mittleren EEQ-Werte im konventionellen Ablauf (= Ablauf Nachklärung) lagen bei 1,9 ng/L (0,9 ng/L – max. 3,9 ng/L), im Ablauf der Flockungsfiltration

(FF) bei 1,2 ng/L. Die Ermittlung der Eliminationsleistung beruht hierbei auf den korrespondierenden Wertepaaren des mechanisch gereinigten Zulaufs (= Ablauf VKB = Vorklärbecken) und des Ablaufs der Nachklärung bzw. dem Ablauf der Nachklärung (NK = Zulauf FF) und dem Ablauf der Flockungsfiltration. Als Erklärung für diese Reduktion kann in erster Linie die Entfernung partikelgebundener östrogenaktiver Substanzen vermutet werden, in untergeordnetem Maßstab auf dem Filter stattfindende biologische Abbauprozesse.

Alle in Eriskrich implementierten weitergehenden Abwasserreinigungsverfahren führten zu einer signifikanten weiteren Reduktion der mit dem E-Screen-Assay ermittelten östrogenen Aktivitäten (siehe Abb. 144).

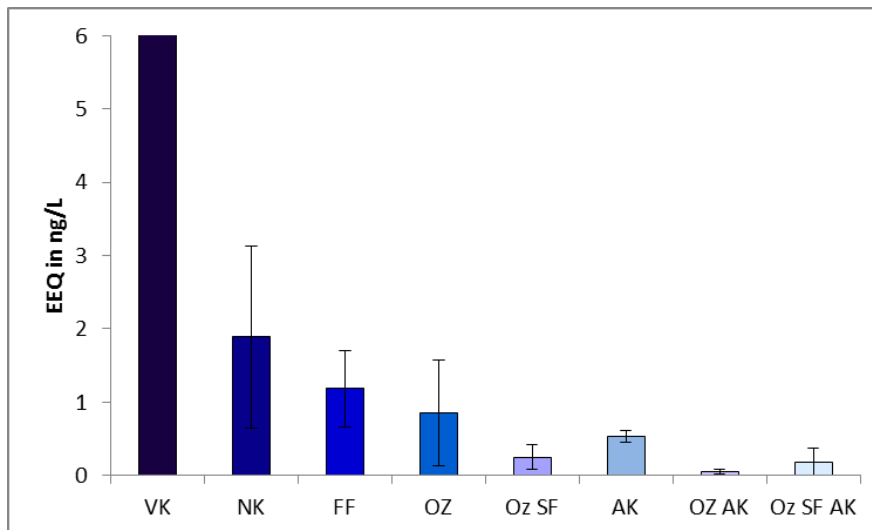


Abb. 144: KA Eriskrich – Östrogene Gesamtaktivität in den Abwasserproben. Konventionelle Verfahrensschritte grau; weitergehende Abwasserreinigungstechnologien blau; Mittlerer EEQ im Ablauf der Vorklärung: 100 ng/L; Ab VK: Ablauf Vorklärung (= Zulauf Biologie); Ab NK: Ablauf Nachklärung (= konventioneller Ablauf); Ab FF: Ablauf Flockungsfilter; Ab OZ: Ablauf Ozonung; Ab OZSF: Ablauf Verfahrenskombination Ozon + nachgeschalteter Sandfilter; Ab AK: Ablauf Aktivkohle (Eriskrich gran. AK-Filter); Ab OZAK: Ablauf Verfahrenskombination Ozon + nachgeschaltete granuliertete Aktivkohle; Ab OZSFAK: Ablauf OzAk + nachgeschaltete granuliertete Aktivkohle

In Bezug auf den Zulauf der weitergehenden Verfahren (konventioneller Ablauf Nachklärung = NK) wurden zusätzlich mindestens 71 % (Filter mit granulierter Aktivkohle) und bei den Verfahrenskombinationen bis zu 95 % eliminiert (siehe Abb. 145). Bei diesem Vergleich wird der Ablauf der Ozonbehandlung aufgrund der geringen Probenanzahl (N = 2) und der hohen Abweichung der beiden Einzelwerte nicht berücksichtigt. Dies wird nicht als problematisch angesehen, da der technische Einsatz einer *stand-alone*-Ozonung zwar prinzipiell möglich ist, aber nach Erachten immer mit einer nachgeschalteten Stufe verwirklicht wird (z. B. Entfernung/Reduktion von Rest-Ozon durch Sandfilter, Abklingbecken, Entfernung möglicher

reaktiver bzw. toxischer Transformationsprodukte durch nachgeschaltete Polzeifilter in Form von Sandfiltern oder Kohlefiltern). Der nachgeschaltete Einsatz von Filtern mit granulierter Aktivkohle ist ohne Verfahrenskombinationen möglich; auf Basis der Daten, die mit dem experimentellen Setup in Eriskirch ermittelt wurden, weisen die Verfahrenskombinationen eine im Vergleich zum GAK-Filter erhöhte Elimination der östrogenen Aktivität in sehr ähnlichen Größenbereichen auf.

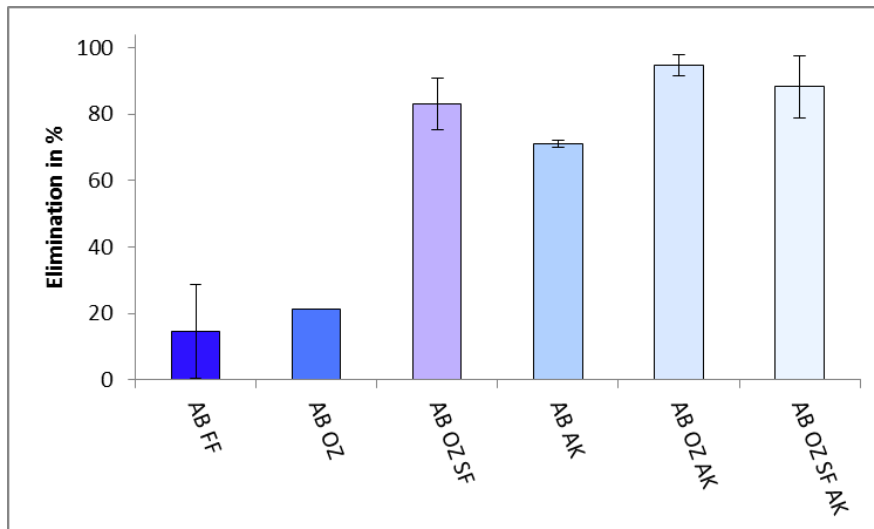


Abb. 145: KA Eriskirch – Prozentuale EEQ-Entnahme der Verfahrensschritte. Konventionelle Verfahrensschritte grau; weitergehende Abwasserreinigungstechnologien blau; Bezugsgröße für die Berechnung der Eliminationsleistung Ablauf NK = Zulauf weitere Verfahrensschritte; Ab VK: Ablauf Vorklärung (= Zulauf Biologie); Ab NK: Ablauf Nachklärung (= konventioneller Ablauf); Ab FF: Ablauf Flockungsfilter; Ab OZ: Ablauf Ozonung; Ab OZSF: Ablauf Verfahrenskombination Ozon + nachgeschalteter Sandfilter; Ab AK: Ablauf Aktivkohle (Eriskirch gran. AK-Filter); Ab OZAK: Ablauf Verfahrenskombination Ozon + nachgeschaltete granulierte Aktivkohle; Ab OZSFAK: Ablauf OZAK + nachgeschaltete granulierte Aktivkohle

### *Kläranlage Merklingen*

Im Untersuchungszeitraum lag die im Zulauf der KA Merklingen mit dem E-Screen-Assay ermittelten mittlere östrogene Aktivität bei 103 ng/L (84 ng/L – 184 ng/L), die mittlere Ablaufkonzentration lag bei 3 ng/L. Dies entspricht einer mittleren Elimination von 95,6 %. Die in Merklingen eingesetzte Ozon-Versuchsanlage führte bei einem Versuchsdurchlauf zu einer signifikanten Verringerung der östrogenen Aktivität um 76 % (Abb. 146). Der im Vollstrom betriebene Langsamsandfilter der KA Merklingen – diese leitet ihre Abwässer nicht in einen Vorfluter ein, sondern versickert – eliminierte bezogen auf den Ablauf der Nachklärung im Mittel 88 % der östrogenen Aktivität. Der Langsamsandfilter stellt hiermit eine Alternative zu technisch anspruchsvolleren weitergehenden Abwasserreinigungstechnologien dar.

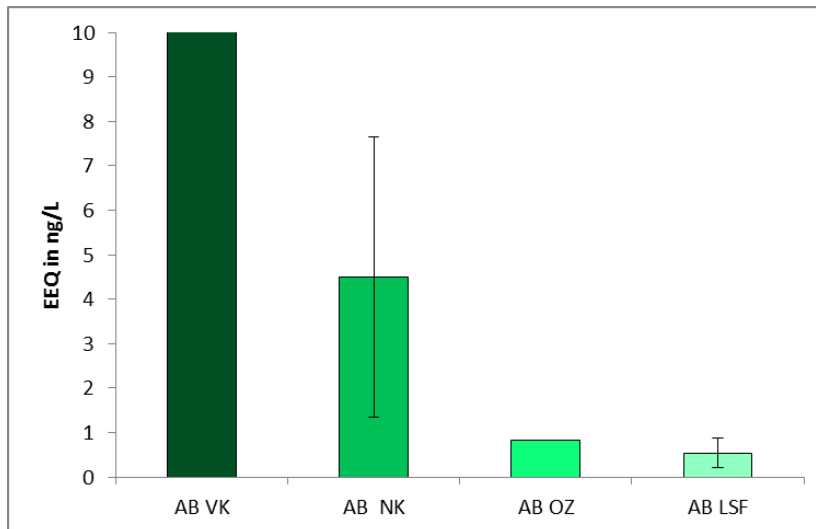


Abb. 146: KA Merklingen – Prozentuale EEQ-Entnahme konventioneller und weitergehender Verfahrensschritte. Konventionelle Verfahrensschritte grau; weitergehende Abwasserreinigungstechnologien blau; Bezugsgröße für die Berechnung der Eliminationsleistung Ablauf Nachklärung = Zulauf weitere Verfahrensschritte; Ab VK: Ablauf Vorklärung (= Zulauf Biologie); Ab NK: Ablauf Nachklärung (= konventioneller Ablauf = Zulauf Ozon und Zulauf Langsandsandfilter); Ab OZ: Ablauf Ozon; AB LSF: Ablauf Langsandsandfilter

#### Regenüberlaufbecken Mariatal

Im Regenüberlaufbecken (RÜB), welches ebenfalls einen Eintragspfad für abwasserbürtige und normalerweise in Kläranlagen gut eliminierbare Substanzen darstellt, wurden bei drei ereignisorientierten Beprobungen im Zulauf des Bauwerks mit dem E-Screen-Assay östrogene Aktivitäten von 5,7 ng/L bis zu 20 ng/L ermittelt.

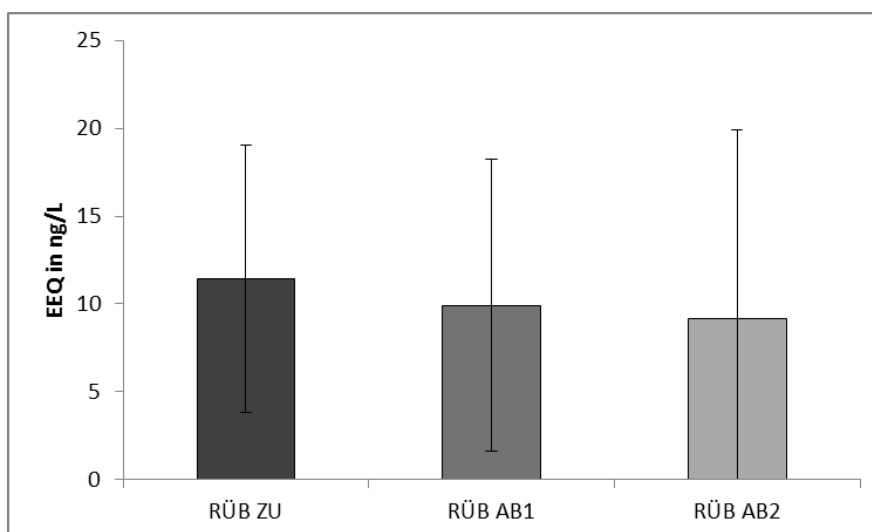


Abb. 147: Regenüberlaufbecken Mariatal. Östrogene Aktivität in Zu- und Ablaufproben; RÜB ZU: Zulauf RÜB; RÜB AB1: Ablauf RÜB konventionell; RÜB AB2: Ablauf RÜB mit Lamellenklärung

Diese Konzentrationen deuten auf den erhöhten Anteil an ungereinigtem kommunalem Abwasser in diesen Proben hin. Das konventionell arbeitende Bauwerk führt zu keiner Reduktion der östrogenen Aktivität (siehe Abb. 147). Ein parallel eingesetzter Lamellenklärer, der zu einer Verringerung der Partikelfracht beitragen kann, zeigte im Vergleich zum konventionellen System keine verbesserte Elimination der östrogenen Aktivität.

#### *Retentionsbodenfilter Tettang*

Bei Regenereignissen, die zu Mischwasserentlastungen führen, ist mit einem vermehrten Eintrag von Substanzen oder Substanzgruppen zu rechnen, die üblicherweise im konventionellen kommunalen Klärprozess effizient entfernt werden. Zu diesen Substanzen gehören auch die natürlichen und synthetischen Sexualhormone, die hauptsächlich durch die Zellantwort des E-Screen-Assays erfasst werden.

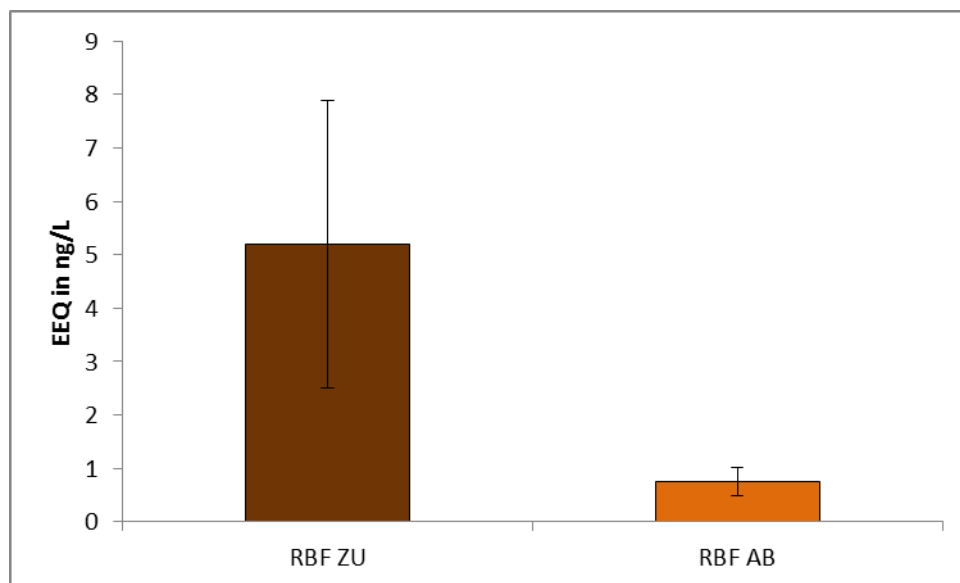


Abb. 148: Retentionsbodenfilter Tettang. Östrogene Aktivität in Zu- und Ablauf des Filters; RBF ZU: Zulauf Retentionsbodenfilter; RBF AB: Ablauf Retentionsbodenfilter

Eine technische Maßnahme zur Behandlung von Mischwasser stellen Retentionsbodenfilter (RBF) dar, die im Rahmen des Projekts untersucht wurden. Bei den drei ereignisorientierten Beprobungen wurden in den Zulaufproben des RBF mit dem E-Screen-Assay östrogene Aktivitäten zwischen 3,3 ng/L und 8,3 ng/L ermittelt (siehe Abb. 148). Nach der Passage des Bodenfilters wurden im Ablauf EEQ-Werte zwischen 0,6 ng/L und 1,1 ng/L bestimmt; dies entspricht einer mittleren Elimination von 83 %. Diese Eliminationsleistung liegt damit fast schon in der Größenordnung konventioneller Belebungsanlagen. Als Mechanismen sind die Abtrennung partikelgebundener östrogenaktiver



Substanzen, die Sorption an das Filtermaterial aber auch die biologische Transformation der natürlichen Sexualhormone anzunehmen.

## **Diskussion**

Der E-Screen-Assay stellt mit seiner niedrigen Bestimmungsgrenze ein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der östrogenen Gesamtaktivität in abwasser- und oberflächenwasserrelevanten Konzentrationsbereichen und zur Bewertung weitergehender Abwasserreinigungstechnologien dar.

Die auf den Kläranlagen implementierten weitergehenden Abwasserreinigungstechnologien führten in allen Fällen zu einer weiteren Reduktion der mit dem E-Screen-Assay ermittelten Aktivität und damit prinzipiell zu einer erheblichen Verringerung der in die aquatische Umwelt eingetragenen Frachten an östrogenen Aktivität. Der E-Screen-Assay liefert dabei aufgrund seiner ausgeprägten Sensitivität für das natürliche Hormon 17 $\beta$ -Östradiol (E2) und das synthetische Hormon Ethinylöstradiol (EE2) insbesondere Hinweise auf das Verhalten dieser Substanzen.

Auf Basis der mit dem E-Screen-Assay ermittelten Untersuchungsergebnisse erwiesen sich die Verfahrenskombinationen, die in Eriskirch getestet wurden, als sehr effizient. Bewertungen der dort ebenfalls implementierten Einzelverfahrensschritte wie z. B. *stand-alone*-Ozonung werden nicht vorgenommen, da nach derzeitigem Kenntnisstand großtechnische Umsetzungen mit Ozon oder auch Aktivkohle mit nachgeschalteten Systemen (z. B. Ozonzerstörung durch nachgeschalteten Abklingtank oder Sandfilter, z. B. Entfernung abtreibender Aktivkohle durch nachgeschalteten Sandfilter oder Flockungs-/ Filtrationskombinationen) kombiniert werden.

Der großtechnische Einsatz von Pulveraktivkohle in Langwiese führt ebenfalls zu einer erheblichen Reduktion der mit dem E-Screen-Assay ermittelten östrogenen Aktivität. Von einem Vergleich der Verfahren, die in Eriskirch im Pilotmaßstab und in Langwiese großtechnisch betrieben wurden, wird aus den obengenannten Gründen ebenfalls abgesehen. Aufgrund unterschiedlicher Abwasserzusammensetzungen und Randbedingungen sind Vergleiche von Verfahren, die an unterschiedlichen Kläranlagen getestet werden, nur bedingt möglich. Da sowohl die sorptiven als auch die oxidativen Verfahren und ihre Kombinationen ähnliche Eliminationsleistungen aufweisen und damit empfehlenswert sind, sollten bei der Planung einer großtechnischen Umsetzung auf kommunalen Kläranlagen vordergründig individuelle Gegebenheiten berücksichtigt werden (z. B. existierende Flockungsfilter, verfügbare Flächen etc.). Die Langsandsandfiltration der KA Merklingen stellt aufgrund der ausgeprägten Filterwirkung ebenfalls eine effiziente

Alternative zu den obengenannten Verfahren dar. Zusätzlich sind aufgrund der hohen Aufenthaltszeit im Filterbecken biologische Abbauprozesse zu erwarten. Das Verfahren ist allerdings aufgrund des erhöhten Flächenbedarfs und der hohen Aufenthaltszeiten nur in wenigen Fällen einsetzbar.

Östrogenaktive Substanzen wie z. B. E2 und EE2 werden im kommunalen Klärprozess sehr gut eliminiert. Dementsprechend können Entlastungsereignisse mit hohen Anteilen von ungereinigtem kommunalem Abwasser zu Frachtspitzen dieser Substanzen führen. Die im Rahmen der Projektierung untersuchten RÜB und Retentionsbodenfilter sind Bauwerke, die diese Frachtspitzen prinzipiell verringern oder nivellieren könnten. Die Ergebnisse zeigen, dass zumindest das untersuchte RÜB keine östrogene Aktivität eliminiert; die Aufrüstung mit Lamellenklären war ebenfalls erfolglos. Als Ursache für diesen Befund ist zu vermuten, dass mit dieser technischen Maßnahme kein Rückhalt der kleineren Partikelfractionen mit gebundenen östrogen wirksamen Verbindungen möglich ist. Zur Klärung dieser Fragestellung müsste eine detaillierte Untersuchung von Partikelgrößenfraktionen in Proben von Entlastungsereignissen erfolgen, wobei hier mit erheblichen Schwankungen zu rechnen ist.

Dahingegen zeigte der Retentionsbodenfilter (RBF) mit im Mittel 83 % eine effiziente Entfernung der östrogenen Gesamtaktivität, die wahrscheinlich zu einem großen Anteil auf der Entfernung der partikelgebundenen Anteile der Aktivität (Filterwirkung) und der Sorption östrogen wirksamer Verbindungen an spezifischen Materialien der Filterschichtung beruht. Mögliche biologische Abbauprozesse während der Filterpassage müssten durch detaillierte Untersuchungen bestätigt werden. Vor einer Verallgemeinerung sollten aber weitere Untersuchungen durchgeführt werden, die bauwerksspezifische Besonderheiten, Betriebsweisen oder andere äußere Bedingungen berücksichtigen.

#### **4.6.4 Anti-Östrogenität**

##### **Hefe-basierter Reporterassay**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Anti-östrogene Wirkpotentiale in den Abwasserproben wurden mithilfe des Yeast Anti Estrogen Screen (YAES) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. Im Vergleich zu den östrogenen und androgenen Wirkpotentialen traten in den Extrakten keine anti-östrogenen Wirkpotentiale oberhalb der Nachweisgrenze des Tests auf (Daten nicht dargestellt). In den nativen Abwasserproben war die anti-östrogene Aktivität jedoch deutlich erhöht.

In den nativen Zulaufproben der KA Eriskirch (Abb. 149A), Langwiese (Abb. 149B) und Merklingen (Abb. 149C) wurden erhöhte anti-östrogene Aktivitäten von 66 % und 47 % nachgewiesen. Während die konventionelle Reinigung in den Kläranlagen Eriskirch und Langwiese zu einer Reduktion der Aktivität um 39 und 24 % führte, stieg die Anti-Östrogenität in der Kläranlage Merklingen nach dieser Behandlung um 53 % an. Die erweiterten Abwasserreinigungstechnologien aller drei Kläranlagen (mit Ausnahme von OZ und OZ SF AK in der Kläranlage Eriskirch) führten zu einer erhöhten Anti-Östrogenität zwischen 11 – 35 % im Vergleich zur Nachklärung. Anti-östrogene Wirkpotentiale konnten demnach in den Kläranlagen nicht effektiv reduziert werden.

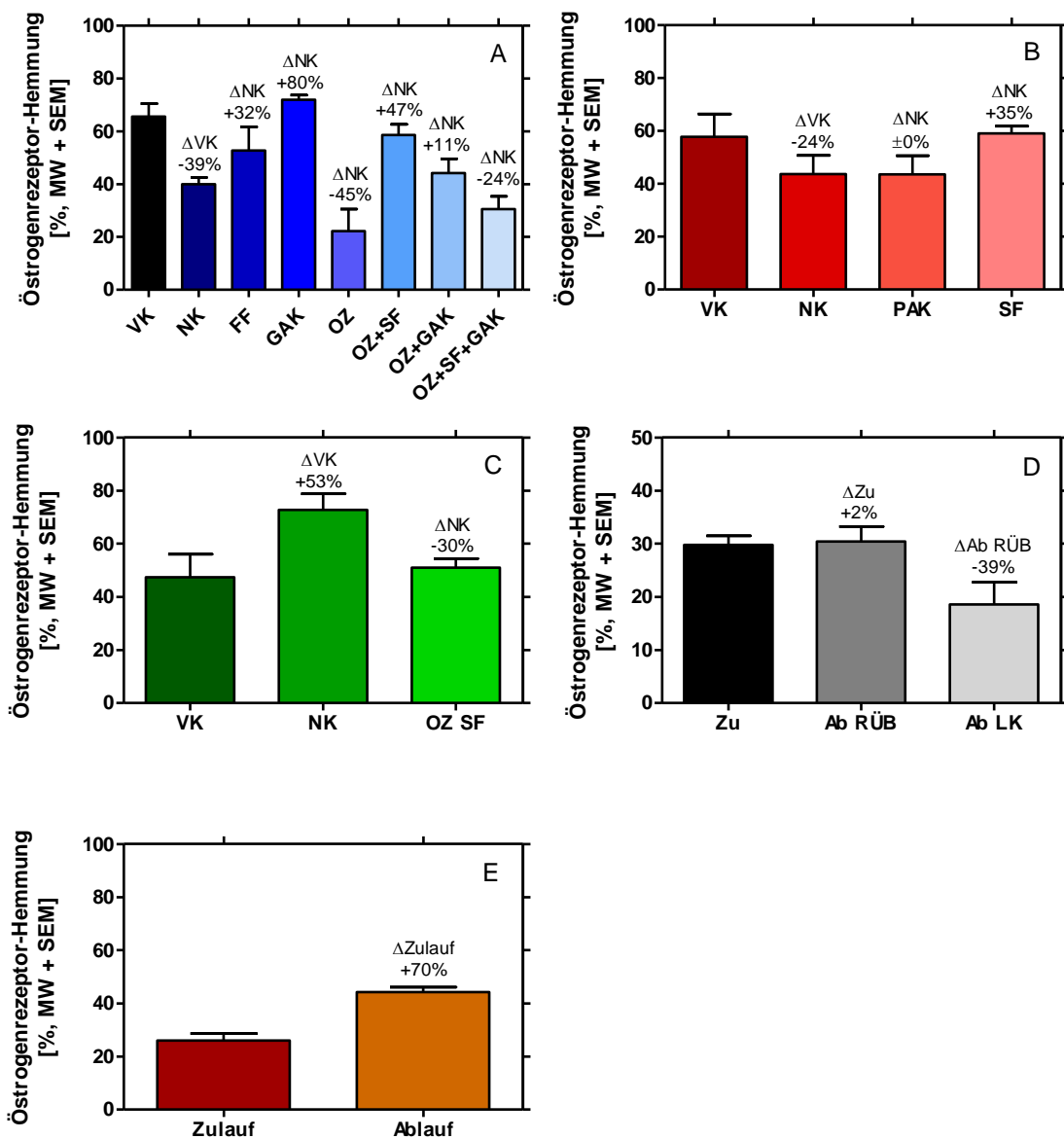


Abb. 149: Anti-östrogene Wirkpotentiale in den nativen Abwasserproben, ermittelt mit dem Yeast Anti Estrogen Screen. Dargestellt ist die Hemmung des Östrogenrezeptors aller Probenahmen von KA Eriskirch (A), KA Langwiese (B), KA Merklingen (C) RÜB Mariatal (D) und RBF Tettwang (E) als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM)

Im RÜB Mariatal lag die anti-östrogene Aktivität im Zulauf bei 30 % Rezeptor-Hemmung. Diese endokrine Aktivität konnte nicht durch die konventionelle Reinigung, jedoch durch den parallel eingesetzten Lamellenklärer um 39 % reduziert werden. Im RBF Tettang wurde eine anti-östrogene Aktivität von 26 % ermittelt, die im Ablauf um 70 % erhöht war. Da diese Restaktivität im RÜB Mariatal im Ablauf nach dem Lamellenklärer noch bei 20 % Rezeptor-Hemmung lag, zeigten sich die Regenentlastungssysteme in dieser Untersuchung ebenfalls als nicht effektiv bei der Reduktion anti-östrogener Wirkpotentiale.

Wie in dieser Untersuchung zeigte auch eine Studie von Stalter et al. (2011) kein klares Bild bei der Reduktion anti-östrogener Wirkpotentiale durch erweiterte Abwasserreinigungstechnologien. In anderen Studien konnte ebenfalls eine Zunahme der Anti-Östrogenität durch erweiterte Technologien wie beispielsweise Chlorung (Wu et al. 2009) festgestellt werden. Aufgrund der Tatsache, dass *In-vitro*-Assays den Nettoeffekt der Mixturen von Agonisten und Antagonisten in der Abwasserprobe detektieren, könnte die Zunahme der Anti-Östrogenität durch die effektive Reduktion östrogenen Aktivitäten erklärt werden. Alternativ könnte die Erhöhung der Anti-Östrogenität durch die Entstehung (unbekannter) anti-östrogener Transformationsprodukte nach der Behandlung der erweiterten Abwassertechnologien bedingt sein.

Die Diskrepanz zwischen den nativen und extrahierten Proben bei dieser Untersuchung wäre durch die selektive Extraktion von Substanzen mittels Festphasenextraktion (SPE) erklärbar. Möglicherweise handelt es sich bei den (unbekannten) Anti-Östrogenen um sehr polare Substanzen, die nicht mittels SPE angereichert werden konnten und demnach nur in nativen, nicht aber in extrahierten Proben nachgewiesen werden konnten.

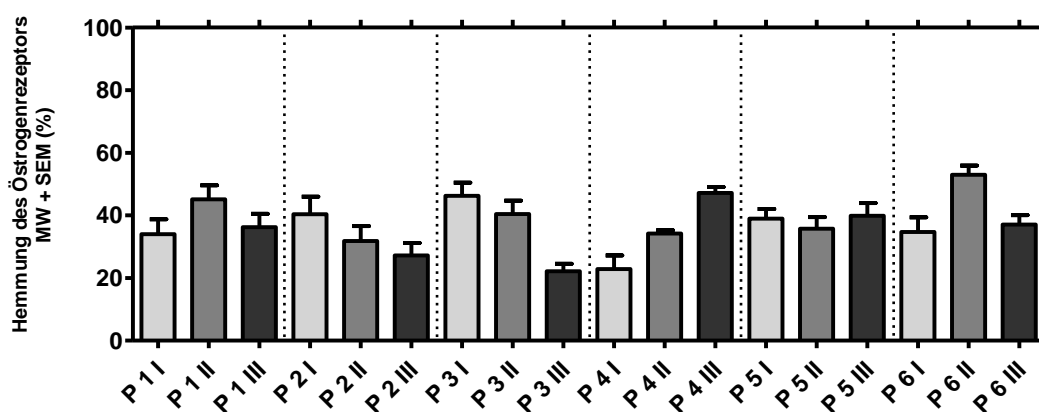


Abb. 150: Anti-östrogene Potentiale in wässrigen Eluaten in Boden-/Sedimentproben des Retentionsbodenfilters Tettang, ermittelt mit dem Yeast Anti Estrogen Screen (YAES). Dargestellt ist die prozentuale Hemmung des Östrogenrezeptors der Probenahme vom September 2015 als Mittelwert + Standardfehler. P1 – P6 codieren die sechs Einstichstellen, I: Horizonttiefe 0 – 30 cm, II: Horizonttiefe 30 – 60 cm, III: Horizonttiefe 60 – 90 cm

In den wässrigen Eluaten der sechs Probestellen der Zusatzuntersuchung am RBF lagen erhöhte anti-östrogene Potentiale vor (22,2 - 52,9 % Hemmung des Östrogenrezeptors, Abb. 150). Bei der Untersuchung zeigte sich kein eindeutiger Trend hinsichtlich des Auftretens endokriner Aktivitäten an den unterschiedlichen Probestellen bzw. in den Bodenhorizonten. Während die anti-östrogene Aktivität bei den Probestellen 2 und 3 mit zunehmender Horizonttiefe sank, stieg diese bei Probestelle 4 mit zunehmender Horizonttiefe an. Bei den Probestellen 1 und 6 konnte in der mittleren Horizonttiefe die höchste endokrine Aktivität festgestellt werden, wohingegen die anti-östrogene Aktivität bei Probestelle 4 auf einem ähnlichen Niveau lag.

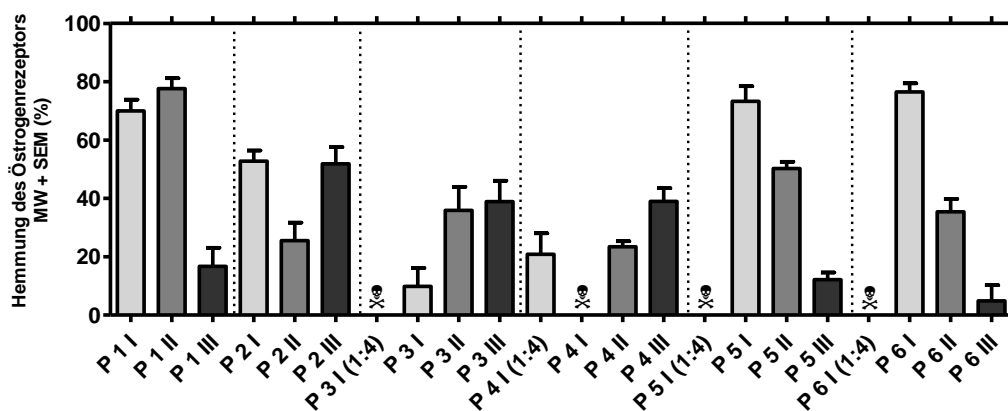


Abb. 151: Anti-östrogene Potentiale in Extrakten in Boden-/Sedimentproben des Retentionsbodenfilters Tettang, ermittelt mit dem Yeast Anti Estrogen Screen (YAES). Dargestellt ist die prozentuale Hemmung des Östrogenrezeptors der Probenahme vom September 2015 als Mittelwert + Standardfehler. P1 – P6 codieren die sechs Einstichstellen, I: Horizonttiefe 0 – 30 cm, II: Horizonttiefe 30 – 60 cm, III: Horizonttiefe 60 – 90 cm, ☠ = 100 % Zytotoxizität

Bei der Ermittlung anti-östrogener Potentiale in den extrahierten Proben konnte eine hohe Zytotoxizität im obersten Horizont der Probestellen 3, 4, 5 und 6 festgestellt werden, weshalb diese im Verhältnis 1:4 zusätzlich verdünnt getestet wurden (Abb. 151).

In den Extrakten traten anti-östrogene Aktivitäten auf. Die Hemmung des Östrogenrezeptors lag zwischen 4,86 (PS 6 III) und 77,7 % (PS 1 II, Abb. 151). Die höchste Anti-Östrogenität wurde an den Probenstellen 1, 5 und 6 ermittelt. Während die anti-östrogene Aktivität bei diesen Probestellen mit zunehmender Horizonttiefe sank, stieg diese bei den Probestellen 3 und 4 mit zunehmender Tiefe an. Bei Probestelle 2 konnte in der mittleren Horizonttiefe die niedrigste endokrine Aktivität festgestellt werden.

**Reportergenassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa- Zelllinie**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

*Kläranlage Langwiese*

Die im Zulauf gemessenen anti-östrogenen Potentiale reduzierten sich bereits vor dem Ausbau im Ablauf (Abb. 152). Nach dem Ausbau konnten Potentiale gemessen werden.

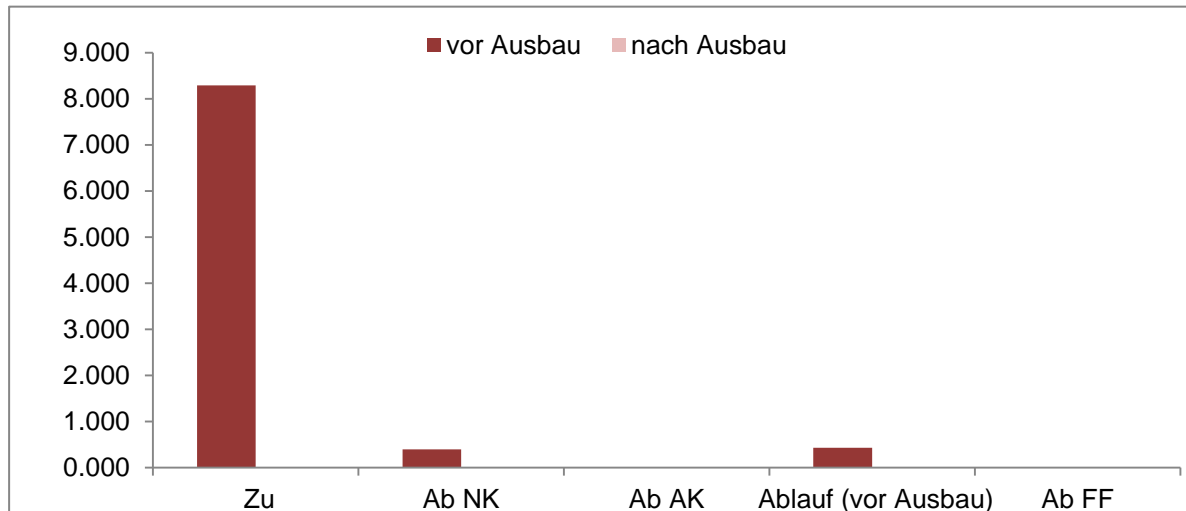


Abb. 152: Anti-östrogene Potentiale im Zulauf und den Abläufen der Kläranlage Langwiese

*Kläranlage Eriskirch*

Auch in der Kläranlage Eriskirch reduzierten sich die anti-östrogenen Potentiale bereits im regulären Ablauf (Abb. 153). Im Ablauf der Modellanlage wurden keine Potentiale gemessen.

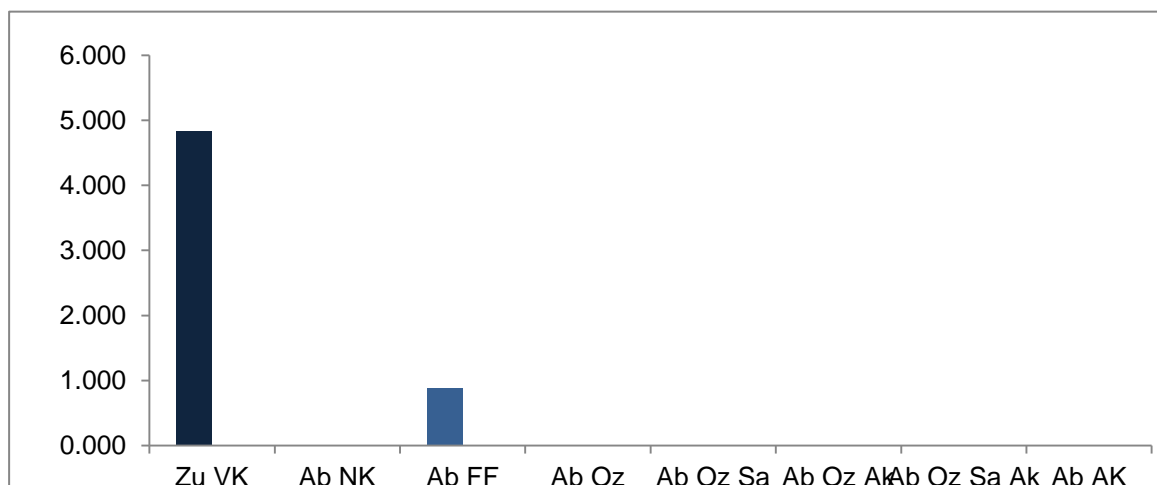


Abb. 153: Anti-östrogene Potentiale im Zulauf, dem regulären Ablauf und den Abläufen der Modellanlage der Kläranlage Eriskirch

## 4.6.5 Androgenität

### Hefe-basierter Reportergenassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Androgene Wirkpotentiale in den Abwasserproben der Versuchsanlagen wurden mithilfe des Yeast Androgen Screen (YAS) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. In den nativen Abwasserproben traten keine androgenen Aktivitäten oberhalb der Nachweisgrenze des Tests auf (Daten nicht dargestellt).

In den Extrakten der Zulaufproben der Kläranlage Eriskirch (Abb. 154A), Langwiese (Abb. 154B) und Merklingen (Abb. 154C) wurden erhöhte androgene Aktivitäten von 43 %, 22 % und 36 % nachgewiesen.

In den drei Kläranlagen führte die konventionelle Abwasserbehandlung (NK) zu einer hoch signifikanten Reduktion der androgenen Aktivität um 95 - 99 %. Die verbleibende androgene Aktivität lag demnach bei 2 % (KA Eriskirch), 0,7 % (KA Langwiese) und 0,3 % (KA Merklingen) und damit an der Nachweisgrenze des Tests. Aufgrund dieser sehr effektiven Elimination der Androgenität durch die konventionelle Reinigung führte die Behandlung aller erweiterten Abwasserreinigungstechnologien zu keiner weiteren Reduktion der androgenen Aktivität.

Diese Ergebnisse entsprechen, wie bei den östrogenen Wirkpotentialen, den Literaturdaten, die von einer effektiven Elimination androgener Aktivitäten durch die konventionelle Abwasserreinigung berichten (Leusch et al. 2014; Liu et al. 2009).

In beiden Regenentlastungssystemen lag die androgene Aktivität im Zulauf mit 2 % im RÜB Mariatal und 4 % im RBF Tettngang deutlich unter der ermittelten Aktivität in den Zuläufen der Kläranlagen. Wie bei der Untersuchung der östrogenen Wirkpotentiale konnten die androgenen Wirkpotentiale im RÜB Mariatal durch die konventionelle Reinigung nicht reduziert werden, die Androgenität stieg um 101 % im Vergleich zum Zulauf an.

Der parallel eingesetzte Lamellenklärer reduzierte die androgene Aktivität im Vergleich zur konventionellen Reinigung zwar um 32 %, lag mit einer Restaktivität von 3 % jedoch auf dem Niveau des Zulaufs. Auch im Ablauf des RBF Tettngang stieg die androgene Aktivität im Ablauf um 28 % im Vergleich zum Zulauf an. Beide Regenentlastungssysteme konnten die androgene Aktivität demnach nicht reduzieren.

In den wässrigen Eluaten der sechs Probestellen der Zusatzuntersuchung am RBF lagen keine androgenen Potentiale vor, ebenso in den extrahieren Proben.

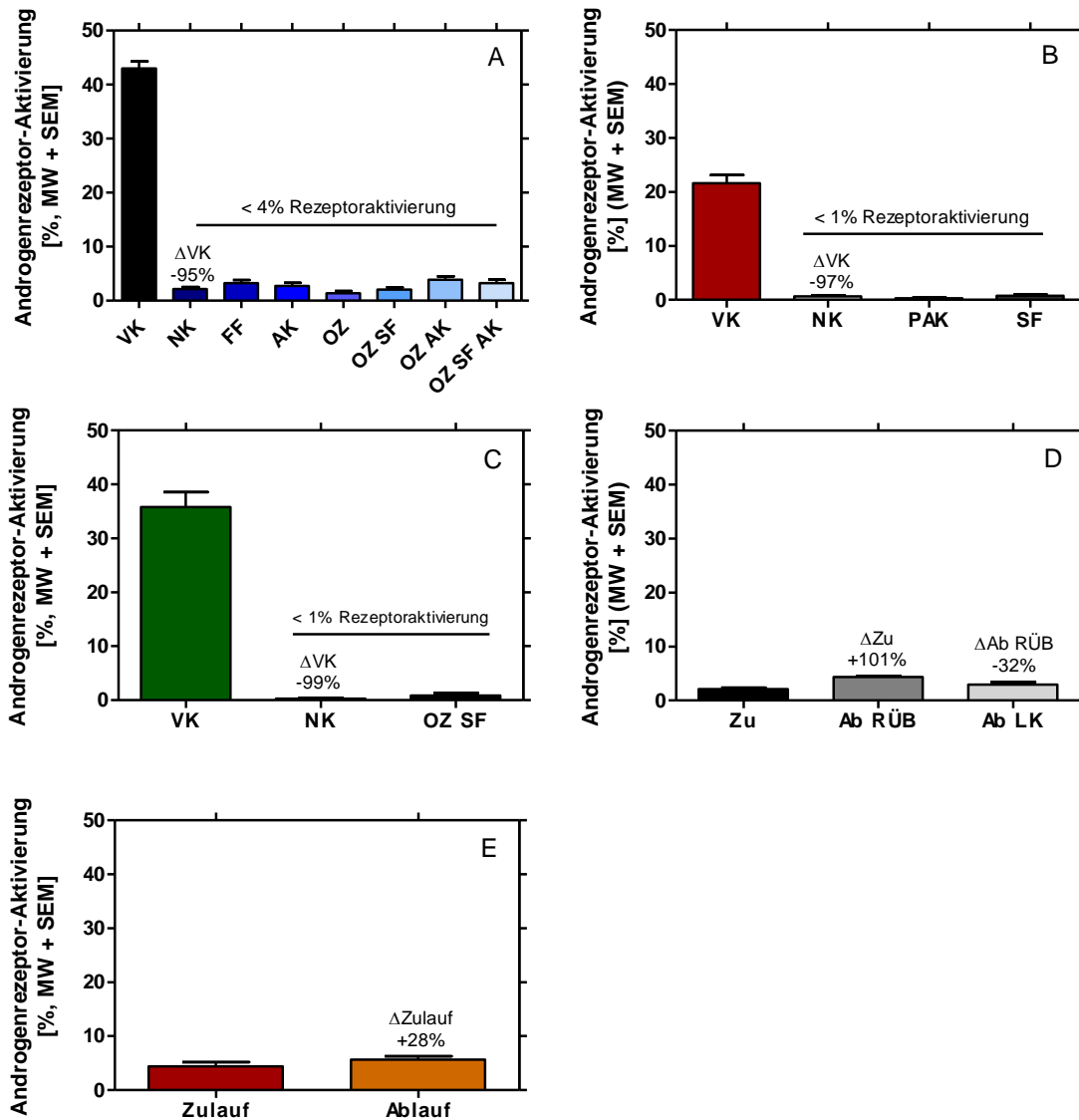


Abb. 154: Androgene Wirkpotentiale in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Abwasserproben, ermittelt mit dem Yeast Androgen Screen. Dargestellt ist die Aktivierung des Androgenrezeptors aller Probenahmen an den KA Eriskirch (A), Langwiese (B) und Merklingen (C) sowie an den RÜB Mariatal (D) und RBF Tettang (E) als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM)

### Reporterassay mit MDA-kb2-Zellen

Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)

#### Kläranlage Langwiese

Bei den androgenen Potentialen lagen die Werte im Zulauf nach dem Ausbau höher als vor dem Ausbau (Abb. 155). Nach der Nachklärung ist dieser Wert bereits verschwindend gering, weshalb durch die Aktivkohle nach Ausbau keine wesentliche Reduktion vermerkt werden kann.



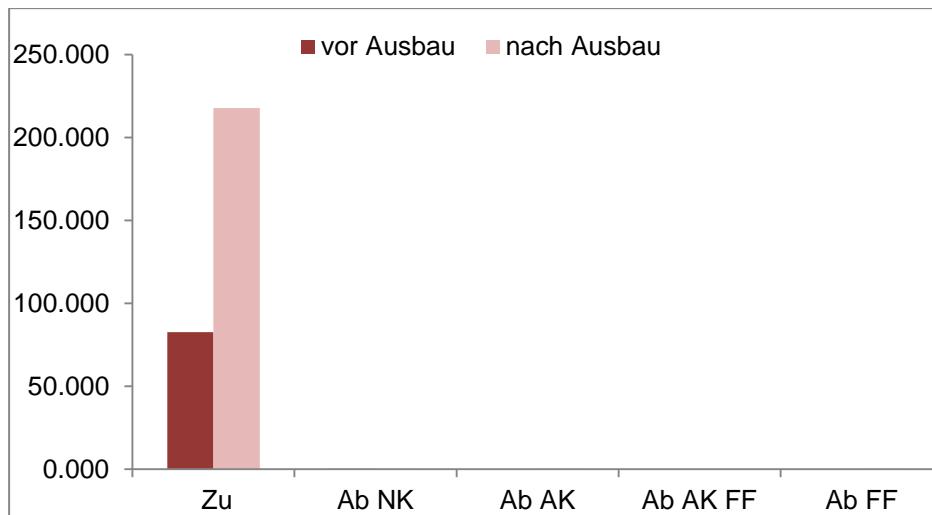


Abb. 155: Androgene Potentiale im Zulauf und den Abläufen der Kläranlage Langwiese

### *Kläranlage Eriskirch*

Auch in der KA Eriskirch werden die androgenen Potentiale bereits nach der Nachklärung nur noch in sehr geringen Konzentrationen gemessen (Abb. 156).

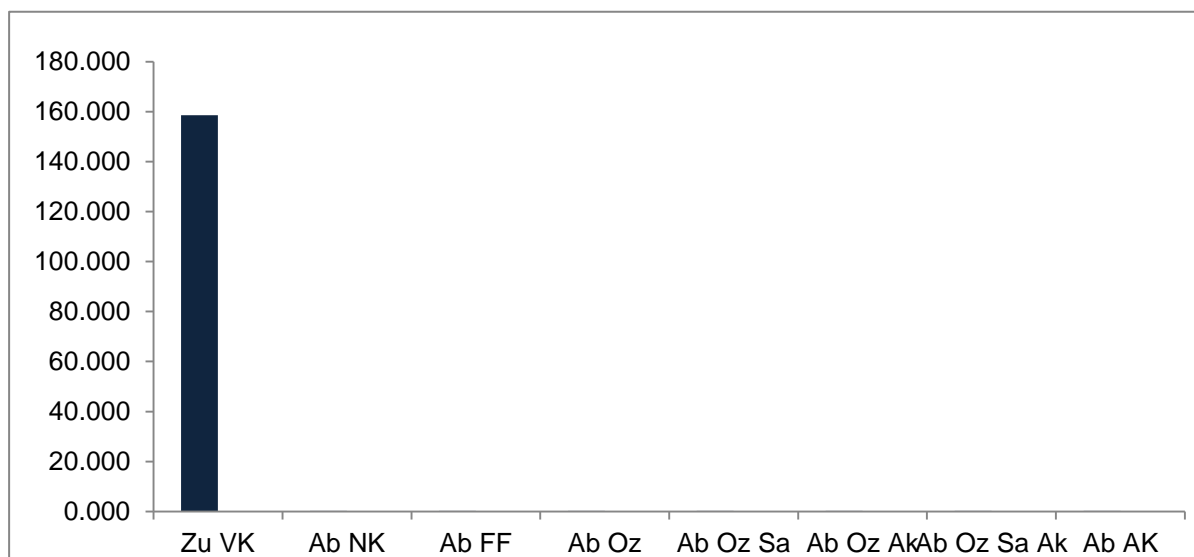


Abb. 156: Androgene Potentiale im Zulauf, dem regulären Ablauf und den Abläufen der Modellanlage der Kläranlage Eriskirch

## 4.6.6 Anti-Androgenität

### Hefe-basierter Reporterassay

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)

Mit dem Yeast Anti-Androgen Screen konnten weder in den nativen noch in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Abwasserproben erhöhte anti-androgene Wirkpotentiale nachgewiesen werden. Aus diesem Grund kann keine Bewertung der Eliminationsleistung der Kläranlagen und Regenmischwassersysteme hinsichtlich der anti-androgenen Wirkpotentiale vorgenommen werden.

Auch in den wässrigen Eluatn der sechs Probestellen der Zusatzuntersuchung am RBF lagen keine anti-androgenen Potentiale vor.

Bei der Ermittlung anti-androgener Potentiale in den extrahierten Proben konnte eine hohe Zytotoxizität im obersten Horizont der Probestellen 3, 4, 5 und 6 festgestellt werden, weshalb diese im Verhältnis 1:4 zusätzlich verdünnt getestet wurden (Abb. 157).

In den Extrakten traten anti-androgene Aktivitäten auf. Die Hemmung des Androgenrezeptors lag zwischen 10,4 (PS 4 I) und 57,9 % (PS 2 I, Abb. 157). Hinsichtlich der Horizonttiefen zeigte sich erneut kein eindeutiger Trend. Die Anti-Androgenität sank nur bei Probestelle 6 mit zunehmender Horizonttiefe. Bei den Probestellen 3, 4 und 5 nahm die endokrine Aktivität mit zunehmender Horizonttiefe zu. Bei Probestelle 2 konnte in der mittleren Horizonttiefe die geringste endokrine Aktivität festgestellt werden, wohingegen die anti-androgene Aktivität bei Probestelle 1 in allen Horizonttiefen auf dem gleichen Niveau lag.

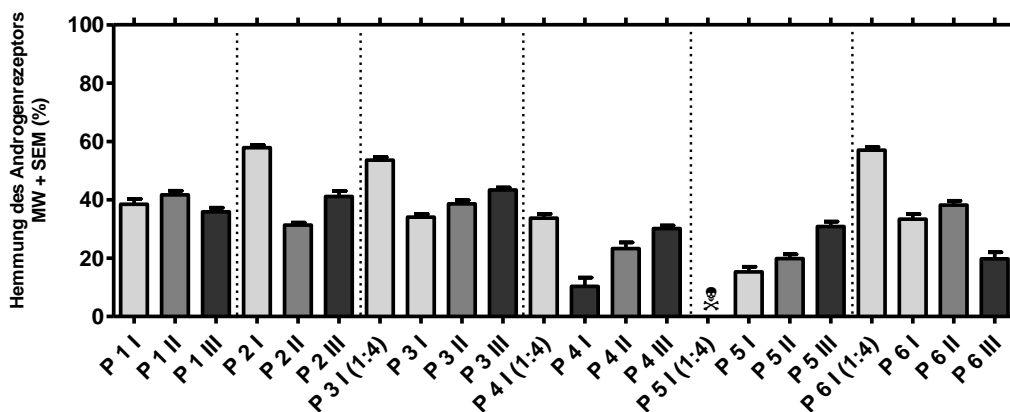


Abb. 157: Anti-androgene Potentiale in Extrakten in Boden-/Sedimentproben des Retentionsbodenfilters Tettang, ermittelt mit dem Yeast Anti Androgen Screen (YAAS). Dargestellt ist die prozentuale Hemmung des Androgenrezeptors der Probenahme vom September 2015 als Mittelwert + Standardfehler. P1 – P6 codieren die sechs Einstichstellen, I: Horizonttiefe 0 – 30 cm, II: Horizonttiefe 30 – 60 cm, III: Horizonttiefe 60 – 90 cm, ☠ = 100 % Zytotoxizität

## Reportergenassay mit MDA-kb2-Zellen

Bláha, Beníšek (Recetox Universität Brno)

### Kläranlage Langwiese

Wie bereits bei den androgenen Potentialen beschrieben, werden auch die anti-androgenen Potentiale bereits im Ablauf der Nachklärung (Ab NK) in sehr geringen Mengen gemessen (Abb. 158).

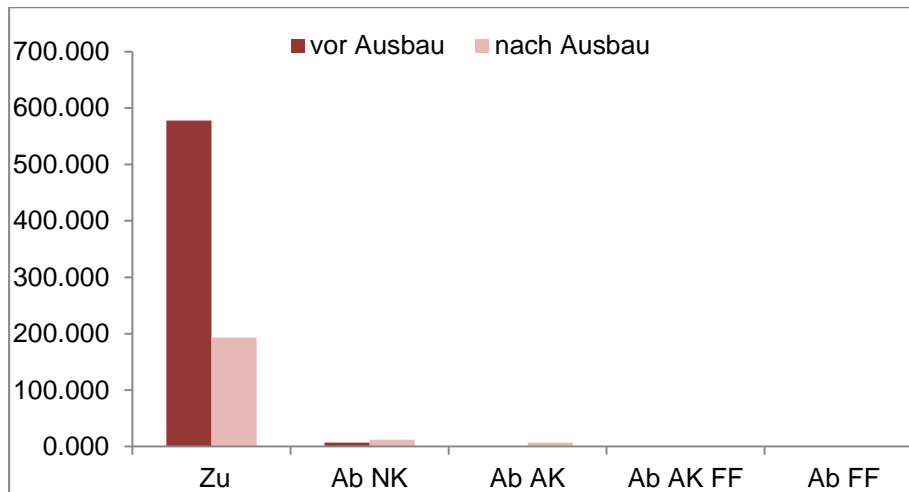


Abb. 158: Anti-androgene Potentiale im Zulauf und den Abläufen der Kläranlage Langwiese

### Kläranlage Eriskirch

Auch hier folgen die Ergebnisse der anti-androgenen Potentiale denen der androgenen Potentiale, mit einer Reduktion bereits im Ablauf der Nachklärung (Ab NK, Abb. 159).

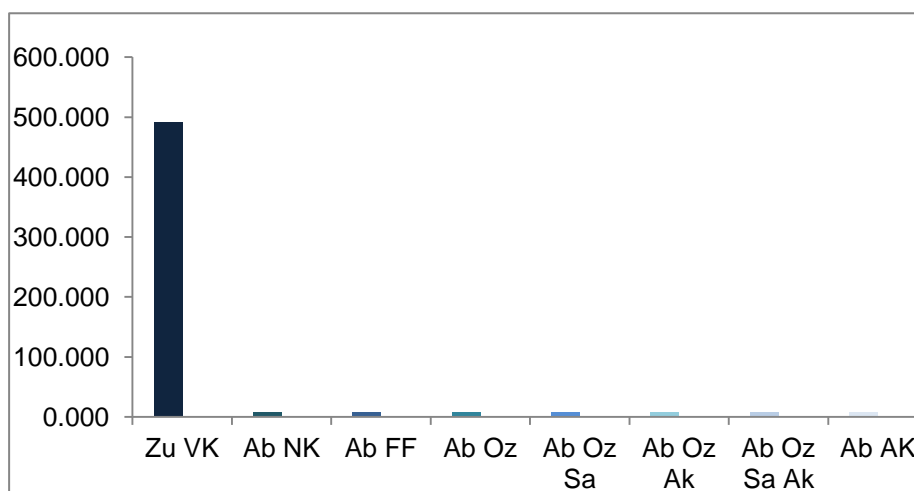


Abb. 159: Anti-androgene Potentiale im Zulauf, dem regulären Ablauf und den Abläufen der Modellanlage der Kläranlage Eriskirch

## 4.7 Biotests *in vivo* zur Bewertung der Anlagen

### 4.7.1 Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest mit dem Zebraärbling *Danio rerio*; FET)

Thellmann, Tribskorn (Universität Tübingen)

#### Kläranlage Langwiese

Für die Proben der Kläranlage Langwiese in Ravensburg konnten bezüglich der Mortalität keine Unterschiede zwischen der Kontrolle und den behandelten Abwasserproben ermittelt werden (Abb. 160). Ein anderes Bild zeigte sich bei der Schlupfrate, welche einen subletalen Endpunkt darstellt. Hier war eine deutliche Erhöhung der Schlupfraten nach dem Ausbau mit der PAK-Stufe zu erkennen (Abb. 161). In Bezug auf die anderen untersuchten Endpunkte konnten bei den exponierten Embryonen lediglich schwache Reaktionen beobachtet werden, welche im Bereich der biologischen Variabilität eingeordnet werden können.

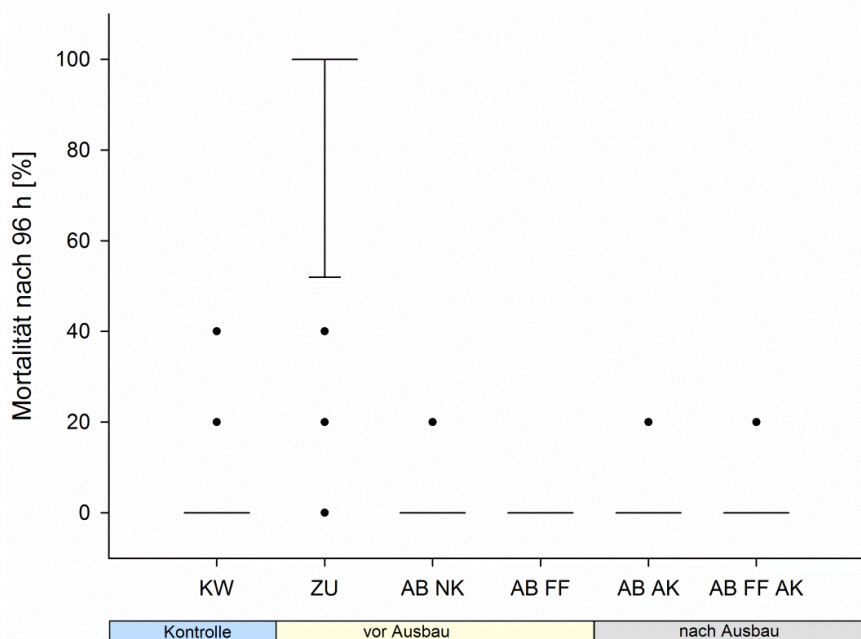


Abb. 160: Mortalitätsraten der exponierten Zebraärblingsembryonen nach 96-stündiger Exposition gegenüber Proben der Kläranlage Langwiese: KW = Wasserkontrolle; ZU = Zulauf nach mech. Vorklärung; AB NK = Ablauf Nachklärung; AB FF = Ablauf Flockungsfilter; AB AK = Ablauf Pulveraktivkohlefilter (PAK); AB FF AK = Ablauf Flockungsfilter nach PAK. Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Fisher's Exact Tests mit anschließender Bonferroni-Holm-Korrektur ausgewertet

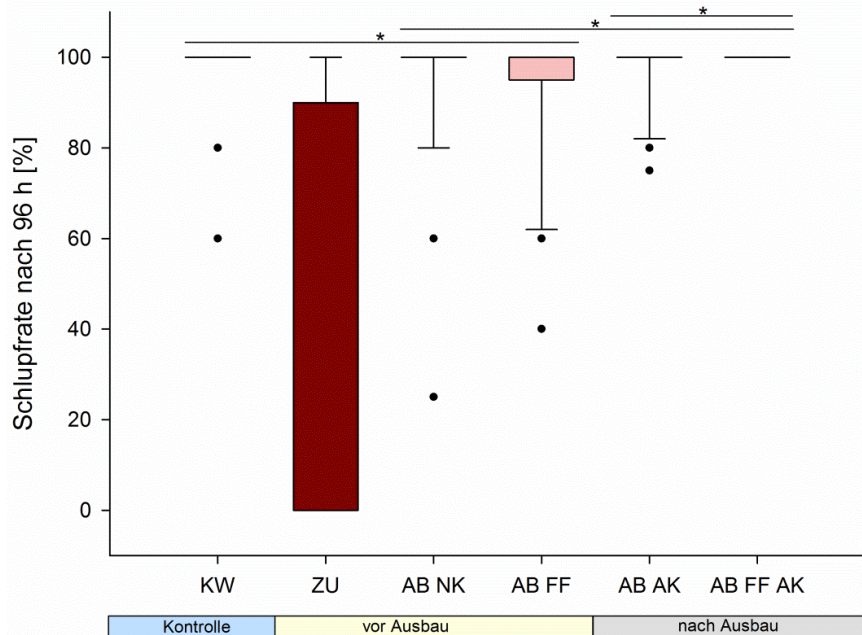


Abb. 161: Schlupfraten der exponierten Zebraärblingsembryonen nach 96-stündiger Exposition gegenüber Proben der Kläranlage Langwiese: KW = Wasserkontrolle; ZU = Zulauf nach mech. Vorklärung; AB NK = Ablauf Nachklärung; AB FF = Ablauf Flockungsfilter; AB AK = Ablauf Pulveraktivkohlefilter (PAK); AB FF AK = Ablauf Flockungsfilter nach PAK. Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Fisher's Exact Tests mit anschließender Bonferroni-Holm-Korrektur ausgewertet

### *Kläranlagen Eriskirch und Merklingen*

In den Kläranlagen Eriskirch und Merklingen konnten zwischen allen untersuchten Abläufen keine Unterschiede beobachtet werden. Sowohl die Mortalitätsraten als auch die Raten der Entwicklungsdefizite waren sehr gering, so dass diesbezüglich alle beobachteten Reaktionen nicht als Effekte eingestuft werden können, sondern im Bereich der biologischen Variabilität einzuordnen sind. Beim Endpunkt Schlupfrate zeigten alle in den Ablaufproben exponierten Tiere eine hohe Schlupfrate zwischen 95 und 100 Prozent, sodass auch hier keine Unterschiede zwischen den Abläufen zu erkennen waren. Tendenziell gesehen verursachten jedoch die Kombinationen mit dem Sandfilter am wenigsten Effekte in den exponierten Embryonen. Exemplarisch sind die Schlupfraten der in der KA Eriskirch exponierten Tiere dargestellt (Abb. 162).

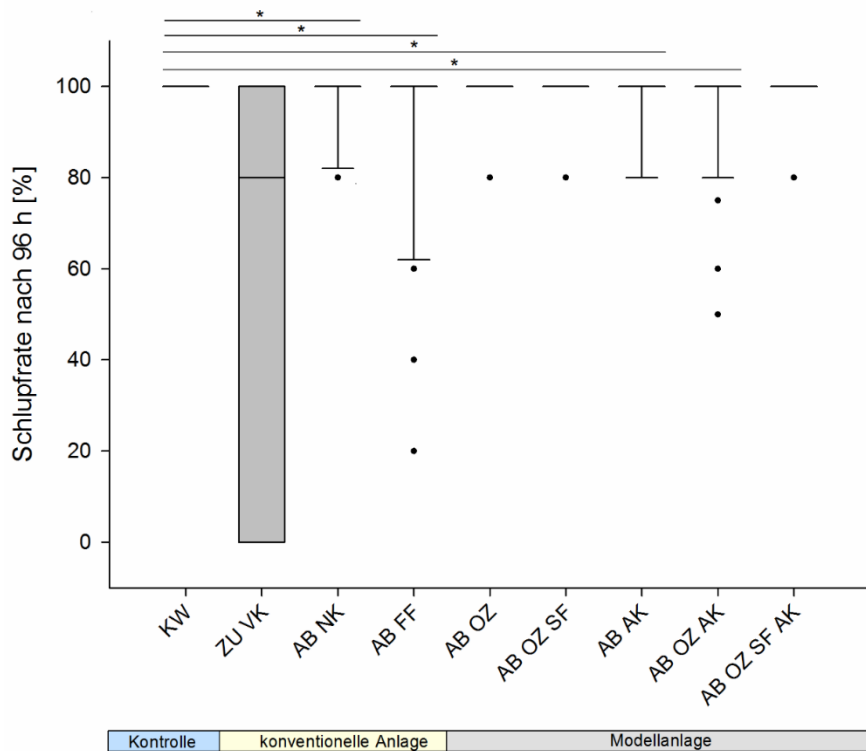


Abb. 162: Schlupfraten der exponierten Zebrabärblingsembryonen nach 96-stündiger Exposition gegenüber Proben der Kläranlage Eriskirch: KW = Wasserkontrolle; ZU = Zulauf nach mech. Vorklärung; AB NK = Ablauf Nachklärung; AB FF = Ablauf Flockungsfilter; AB OZ = Ablauf Ozonierung, AB OZ SF = Ablauf Ozonierung + Sandfilter; AB AK = Ablauf granulierte Aktivkohle; AB OZ AK = Ablauf Ozonierung + AK; AB OZ SF AK = Ablauf Ozonierung + Sandfilter + AK Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Fisher's Exact Tests mit anschließender Bonferroni-Holm-Korrektur ausgewertet

*Regenüberlaufbecken Mariatal*

Die Proben aus dem Regenüberlaufbecken Mariatal verursachten in keinem der durchgeführten Testdurchläufe embryotoxische Effekte. Bei den exponierten Embryonen konnten sowohl in den Zulaufproben als auch in den beiden untersuchten Ablaufproben (vor und nach dem Lamellenklärer) hohe Schlupfraten sowie geringe Mortalitätsraten und niedrige Raten an Entwicklungsdefiziten (ähnlich der Kontrolle) beobachtet werden.

*Retentionsbodenfilter Tettang*

Auch in den Proben des Retentionsbodenfilters in Tettang konnten in keiner der untersuchten Proben embryotoxische Effekte nachgewiesen werden. Sowohl in den Zulauf- als auch in den Ablaufproben zeigten die exponierten Embryonen hohe Schlupfraten sowie geringe Mortalitätsraten und niedrige Raten an Entwicklungsdefiziten, vergleichbar zu denen der Kontrolle.

## Diskussion

Kommunale Kläranlagen erhalten Abwässer von privaten Haushalten, der Industrie sowie von medizinischen Einrichtungen und damit auch einen Cocktail aus diversen Pharmazeutika, Reinigungsmitteln und Chemikalien aus der Industrie. Die Auswirkungen dieser Stoffe wurden bereits in zahlreichen Studien beschrieben (Carlsson et al. 2013; van den Brandhof und Montforts 2010).

Mit Ausnahme der Zulaufproben führte keine der in der KA Langwiese untersuchten Ablaufproben zu erhöhten Mortalitäten in den exponierten Zebrabärblingsembryonen. Die Mortalitätsraten der Ablaufproben bewegten sich bei den meisten der durchgeführten Testdurchläufe im Bereich der biologischen Variabilität und können daher nicht als Effekte gewertet werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die KA Langwiese bzgl. der Embryotoxizität bereits vor Ihrem Ausbau durch eine Pulveraktivkohlestufe (PAK) eine gute Reinigungsleistung aufweisen konnte. Ein anderes Bild zeigte sich bei der Schlupfrate, welche einen subletalen Endpunkt darstellt. Hier konnte bereits in der konventionellen Reinigung eine deutliche Erhöhung der Schlupfraten von der Nachklärung bis hin zur Flockungsfiltration beobachtet werden, welche durch den Ausbau mit PAK noch verstärkt wurde, was zeigt, dass der Einsatz der PAK-Stufe zu einer weiteren Reduktion von embryotoxischen Substanzen geführt hat. Ein Beispiel für eine Substanz, welche sich bereits in niedrigen Konzentrationen negativ auf Zebrabärblingsembryonen auswirken kann, ist Diclofenac. In einer Studie von van den Brandhof und Montforts (2010) konnte gezeigt werden, dass Diclofenac zu reduzierten Schlupfraten sowie Deformationen führen kann. In der im Rahmen von SchussenAktivplus durchgeführte chemischen Analytik konnte eine deutliche Reduktion von Diclofenac und anderen Pharmazeutika durch die PAK-Stufe beobachtet werden, so dass die deutliche Erhöhung der Schlupfraten wahrscheinlich auf die adsorptiven Eigenschaften bzw. die Eliminationsleistung der Kohle zurückzuführen ist.

Bei der Untersuchung der Proben aus der KA Eriskirch waren zwischen allen untersuchten Abläufen keine Unterschiede erkennbar. Eine mögliche Erklärung lässt sich evtl. in der Größe sowie in der Abwasserfracht der Anlage finden. Die KA Eriskirch ist für eine Reinigung von 50.000 Einwohnerwerten ausgelegt, wodurch sie nicht einmal ein Drittel der Kapazität der KA Langwiese erreicht. Hinzu kommt, dass die Abwässer der Gemeinden Eriskirch und Meckenbeuren sowie der Stadt Tettngang aufgrund ihrer Größe wahrscheinlich geringere Anteile an Industrie- und Krankenhausabwässern aufweisen als das der KA Langwiese.

Dennoch deuten die Daten auf eine gute Reinigungsleistung sowohl in der konventionellen Anlage als auch in der Versuchsanlage hin.

Auch in der KA Merklingen waren zwischen allen untersuchten Abläufen keine signifikanten Unterschiede zu erkennen, was ebenfalls auf eine gute Reinigungsleistung sowie eine

andere Zusammensetzung des Rohabwassers schließen lässt. Zu erwähnen bleibt hier noch ein Störfall im März 2014, bei dem die 24 h Sammelproben der Nachklärung und der Ozonierung (nicht in der Statistik mit einbezogen) zu hohen Mortalitäten bei den exponierten Embryonen führten. In den Proben des nachgeschalteten Sandfilters derselben Probenahme konnten jedoch keine Effekte mehr beobachtet werden, so dass hier von einer guten Eliminationsleistung des Sandfilters ausgegangen werden kann. Die erhobenen Daten deuten auf eine gute Reinigungsleistung sowohl in der konventionellen Anlage als auch in der Versuchsanlage hin.

Die Proben aus dem Regenüberlaufbecken Mariatal und dem Retentionsbodenfilter in Tettang verursachten in keinem der durchgeführten Testdurchläufe embryotoxische Effekte. Da es sich bei beiden Anlagen um Regenentlastungssysteme handelt, bei denen verdünnte Mischwasserproben untersucht wurden, sind die geringen Effekte mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die starke Verdünnung durch das Regenwasser zu erklären.

#### **4.7.2 Reproduktionstoxizität bei der Zwergdeckelschnecke**

##### ***Potamopyrgus antipodarum***

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Reproduktionstoxische Wirkpotentiale in den nativen Abwasserproben der Versuchsanlagen wurden mit Hilfe des Reproduktionstests mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* ermittelt. In den Zulaufproben der KA Eriskirch und Merklingen wurde eine hohe Mortalität der Schnecken festgestellt, weshalb diese Proben im Verhältnis 1:8 und 1:16 mit Hälterungsmedium verdünnt getestet werden mussten.

In allen untersuchten Abwasserproben traten reproduktionstoxische Wirkpotentiale auf, das heißt, die Anzahl der Embryonen war im Vergleich zur Negativkontrolle signifikant verringert (Abb. 163). In der KA Eriskirch wurde die hohe Reproduktionstoxizität der Zulaufprobe zwar durch die konventionelle Abwasserreinigung um 36 % reduziert, die Embryonenzahl war jedoch gegenüber der Laborkontrolle noch immer signifikant niedriger (Abb. 163A). Alle erweiterten Reinigungstechnologien führten im Vergleich zur konventionellen Reinigung zu einer weiter verringerten Anzahl der Embryonen zwischen 12 – 48 % und damit zu einer erhöhten Reproduktionstoxizität. In der KA Langwiese (Abb. 163B) war die Anzahl der Nachkommen im Vergleich zur im Verhältnis 1:16 verdünnten Vorklärung um 14 % reduziert. Nach der Behandlung mit Aktivkohle bzw. der Kombination aus Aktivkohle und dem Sandfilter stieg die Anzahl der Embryonen jedoch wieder um 17 bzw. 24 % an. In der KA Merklingen (Abb. 163C) war das Bild ähnlich. Auch hier stieg die Reproduktionstoxizität bei den Schnecken nach der konventionellen Behandlung um 11 %, wurde durch die



Kombination aus Ozon und Sandfilter jedoch wieder um 5 % reduziert. In den Kläranlagen konnte demnach keine effektive Reduktion der Reproduktionstoxizität weder durch die konventionelle Reinigung noch die erweiterten Reinigungsmaßnahmen festgestellt werden.

In beiden Regenentlastungssystemen sank die Anzahl der Embryonen im Ablauf der Nachklärung im Vergleich zum Zulauf um 22 bzw. 33 % (Abb. 163D und 163E). Im RÜB Mariatal stieg die Anzahl der Embryonen in der Probe nach dem zusätzlichen Lamellenklärer jedoch um 11 % im Vergleich zur konventionellen Reinigung an. In beiden Regenentlastungssystemen konnte demnach ebenfalls keine effektive Reduktion der Reproduktionstoxizität nachgewiesen werden.

Die Beeinflussung der Embryonenzahl bei der Zwergdeckelschnecke durch Abwasser konnte bereits in anderen Studien nachgewiesen werden. Allerdings zeigte sich in den meisten Fällen eine gegenüber der Kontrollgruppe signifikante Erhöhung der Embryonenzahl im konventionell gereinigten Abwasser, ausgelöst durch dessen östrogene Aktivität, sowie eine Abnahme der Embryonenzahl in den mit erweiterten Reinigungstechnologien (Aktivkohle, Ozon, Ozon plus Sandfilter) behandelten Abwasserproben, parallel zum Rückgang der östrogenen Aktivität (Jobling et al. 2004; Magdeburg et al. 2014; Stalter et al. 2011). Dagegen beobachteten Gust und Mitarbeiter (Gust et al. 2014; Gust et al. 2010) in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen an den Kläranlagen eine signifikante Reduktion der Embryonenzahl bei *P. antipodarum* um bis zu 70 % nach Exposition gegenüber konventionell gereinigtem Abwasser von vier verschiedenen Kläranlagen. In diesen Fällen scheint die verringerte Reproduktion in den Abwasserproben das Resultat einer generellen Toxizität zu sein. Die hohe Mortalität in den Zulaufproben unterstützt diese Annahme.

Die *In-vivo*-Tests der Boden-/Sedimentproben der Zusatzuntersuchung am RBF mit der Zwergdeckelschnecke ergaben für 8 Proben eine erhöhte Toxizität (> 20%). Die Mortalität lag bei diesen Proben zwischen 20 und 75 % (Abb. 164), wobei in den Proben von den Stellen 5 und 6 die meisten Tiere starben. Die Mortalität sank bei den Probestellen 3 und 6 mit zunehmender Horizonttiefe. Bei Probestelle 4 konnte in der mittleren Horizonttiefe die höchste Mortalität festgestellt werden, wohingegen diese Horizonttiefe bei Probestelle 5 die geringste Mortalität zeigte.

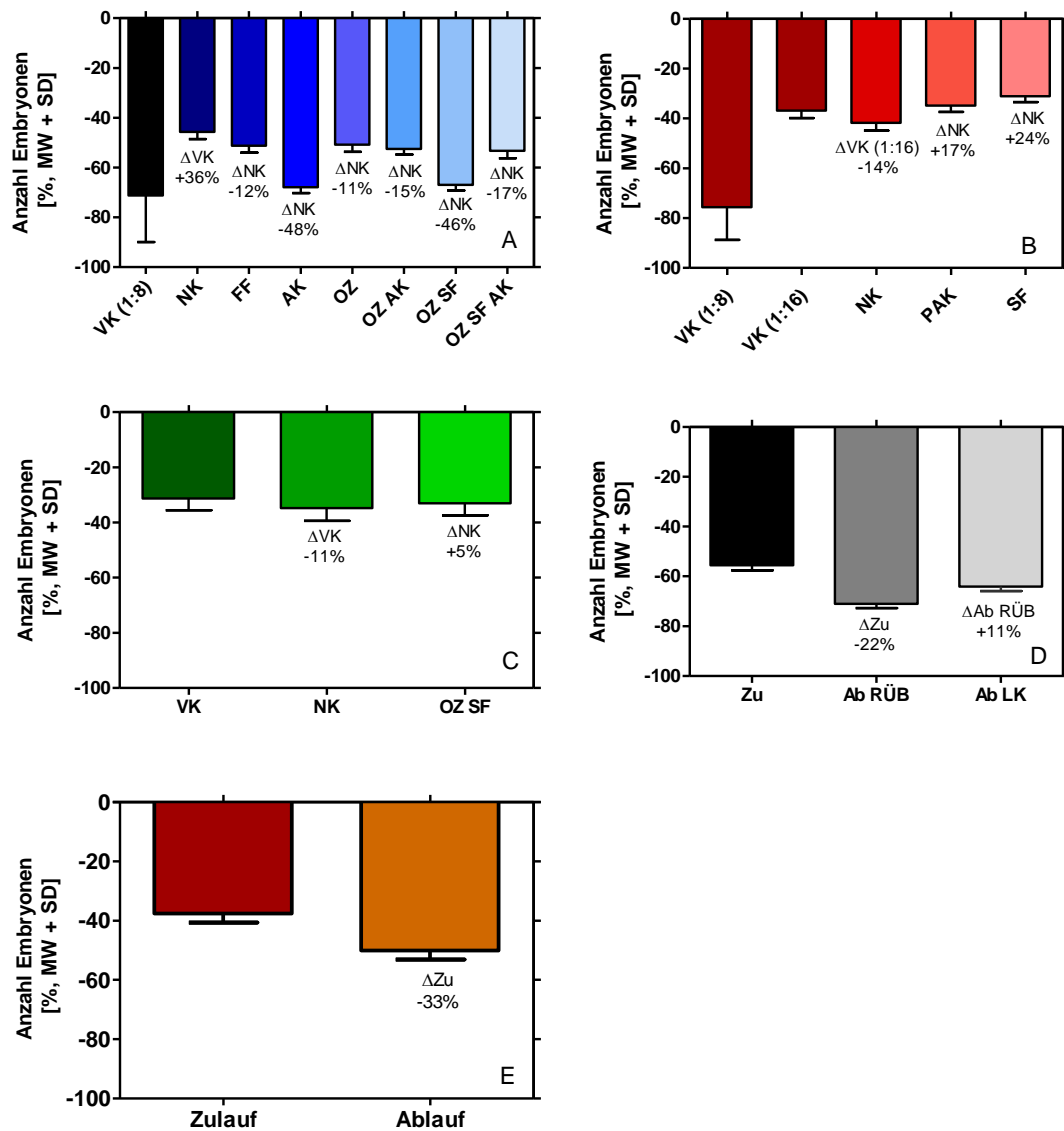


Abb. 163: Reproduktionstoxische Wirkpotentiale in den nativen Abwasserproben, ermittelt mit dem Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Dargestellt ist die prozentuale Abweichung der Anzahl der Embryonen aller Probenahmen an den KA Eriskirch (A), Langwiese (B) und Merklingen (C) sowie am RÜB Mariatal (D) und dem RBF Tettngang (E) nach 28 Tagen im Vergleich zur Laborkontrolle als Mittelwert (MW) + Standardabweichung (SD)

Bei der Reproduktion zeigte sich bei Probestelle 6, die am nächsten zum Zulauf 2 mit dem größeren Abwassereintrag lag, in einer Horizonttiefe von 0-30 cm mit 80 % weniger gebildeter Embryonen im Vergleich zur Negativkontrolle eine hohe Reproduktionstoxizität (Abb. 165). In allen übrigen Probestellen und Horizonttiefen variierte die Anzahl der Embryonen zwischen 0,14 und 17,5 % mehr bzw. weniger im Vergleich zur Negativkontrolle.

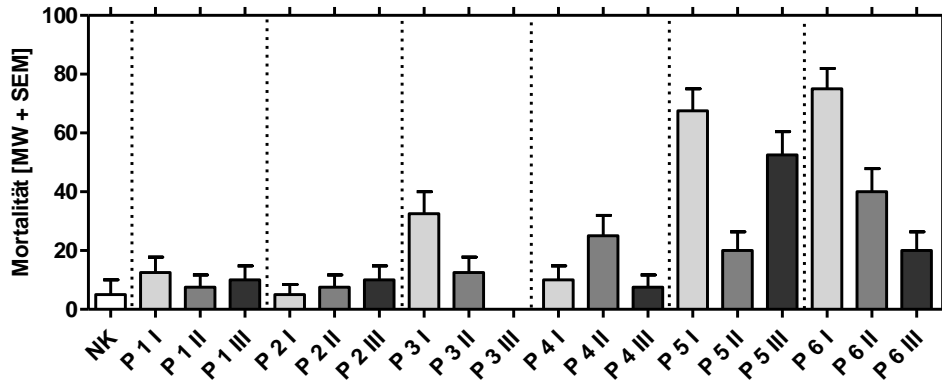


Abb. 164: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Mortalität in Boden-/Sedimentproben des Retentionsbodenfilters Tettang in % als Mittelwert + Standardfehler. P1 – P6 codieren die sechs Einstichstellen, I: Horizonttiefe 0 – 30 cm, II: Horizonttiefe 30 – 60 cm, III: Horizonttiefe 60 – 90 cm

Anhand dieser Ergebnisse lässt sich feststellen, dass insbesondere die Probestellen 5 und 6 die höchsten endokrinen und toxischen Effekte zeigten. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da diese Probestellen nahe am Zulauf 2 des RBF lagen, durch den 90 % des Abwassers und damit ein hoher Anteil von Schadstoffen eingeleitet werden.

Eine weitere Erwartung war die Abnahme der endokrinen Aktivität und Toxizität mit zunehmender Horizonttiefe. Dies konnte bei vorhandenen hohen Aktivitäten bzw. einer hohen Toxizität festgestellt werden, jedoch nicht immer bei geringen oder leicht erhöhten Effekten.

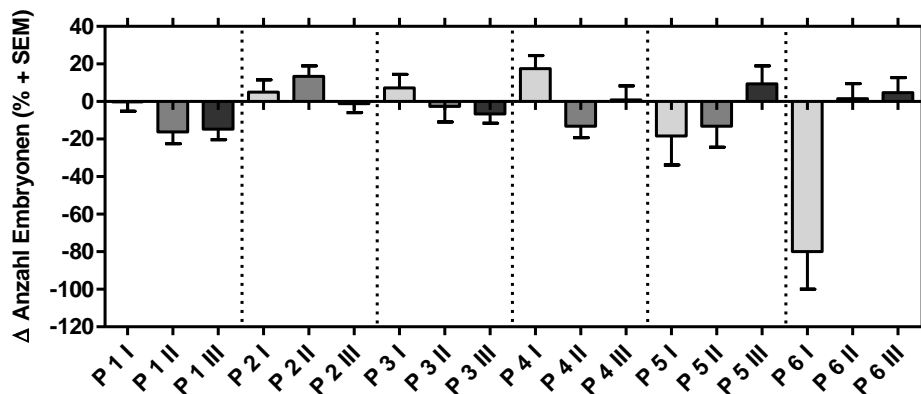


Abb. 165: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Anzahl der Embryonen in Boden-/Sedimentproben des Retentionsbodenfilters Tettang im Vergleich zur Negativkontrolle in % als Mittelwert + Standardfehler. P1 – P6 codieren die sechs Einstichstellen, I: Horizonttiefe 0 – 30 cm, II: Horizonttiefe 30 – 60 cm, III: Horizonttiefe 60 – 90 cm

## 4.8 Wirkungen bei Fischen (Kläranlage Eriskirch)

### 4.8.1 Histopathologische Untersuchungen

Maier, Triebkorn (Universität Tübingen)

Fische, die gegenüber dem Wasser der Modellanlage der KA Eriskirch exponiert waren, zeigten vor allem in der Leber einen deutlich besseren Zustand als Tiere, die im regulären Kläranlagenablauf gehalten wurden (Abb. 166). Dies war bei beiden Expositionen (2103 und 2014) der Fall. In Kiemen und Nieren war zwar lediglich eine Tendenz zur Verbesserung sichtbar, dennoch lässt sich festhalten, dass durch die zusätzliche Reinigung mit Ozon, Aktivkohle und Sandfilterung eine Verbesserung der Fischgesundheit eingetreten ist.

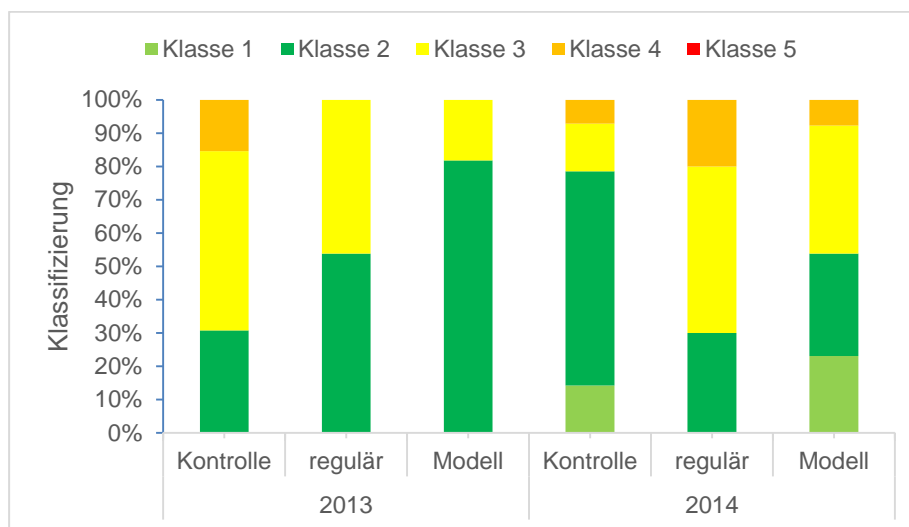


Abb. 166: Klassifizierung des histo(patho)logischen Zustands der Leberproben aus Regenbogenforellen, die in Aquarien in der KA Eriskirch exponiert waren

### 4.8.2 Stressproteinanalysen

Henneberg, Köhler, Triebkorn (Universität Tübingen)

Die Level der Stressproteinfamilie Hsp70 wurde in Lebern, Nieren und Kiemen der exponierten Regenbogenforellen bestimmt. In allen Organen zeigten sich keine Unterschiede zwischen dem regulären KA-Ablauf FF und dem Ablauf der Modellanlage (Abb. 167).

Da zwischen den Hsp70-Leveln der Forellen aus dem Ablauf FF und dem Ablauf der Modellanlage keine Unterschiede festgestellt wurden, ist davon auszugehen, dass weder der Ablauf FF noch der Ablauf der Modellanlage proteotoxische Stressoren enthielt. Das heißt, dass der Ablauf der KA Eriskirch auch ohne eine zusätzliche Reinigungsstufe (Ozonierung, Sandfilterung und GAK) keine proteotoxischen Wirkungen entfaltetete.

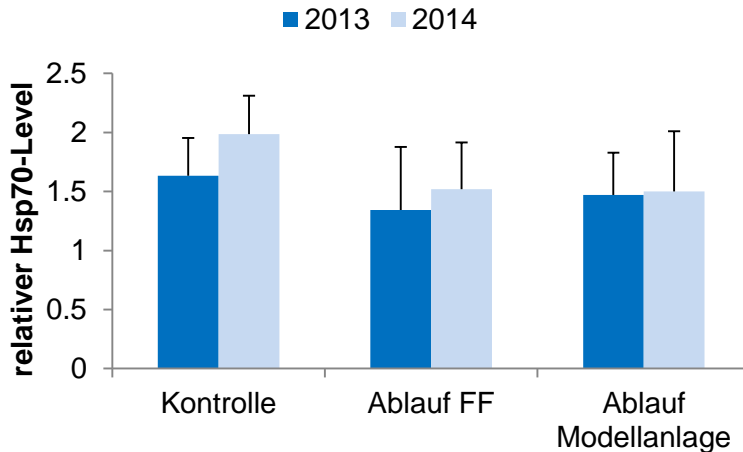


Abb. 167: Relative Hsp70-Level in Lebern von Regenbogenforellen, die an der KA Eriskirch exponiert waren. Der Modellanlagen-Ablauf bestand 2013 aus einer Mischung von (1) Ozonierung + Sandfilter + GAK (granulierte Aktivkohle) und (2) Ozonierung + GAK im Verhältnis 1:1. 2014 änderte sich die Mischung: (1) Ozonierung + Sandfilter, (2) Ozonierung + GAK und (3) GAK im Verhältnis 1:1:1

### 4.8.3 Nachweis des Biotransformationsenzym Cyp1A1

Maier, Triebskorn (Universität Tübingen)

Die Aktivität des Biotransformationsenzym Cytochrom P4501A1 wurde mit Hilfe des EROD-Assays nachgewiesen. Die EROD-Aktivität gilt hierbei als Biomarker für Biotransformationsleistungen und dioxinähnliche Wirkungen. Sie ist bei Fischen, die im Ablauf der Modellanlage der KA Eriskirch im Vergleich zu Forellen, die im konventionell gereinigten Abwasser gehalten wurden, sowohl 2013 als auch 2014 sehr deutlich reduziert, was für eine Entnahme dioxinähnlicher Verbindungen durch die Modellanlage spricht (Abb. 168).

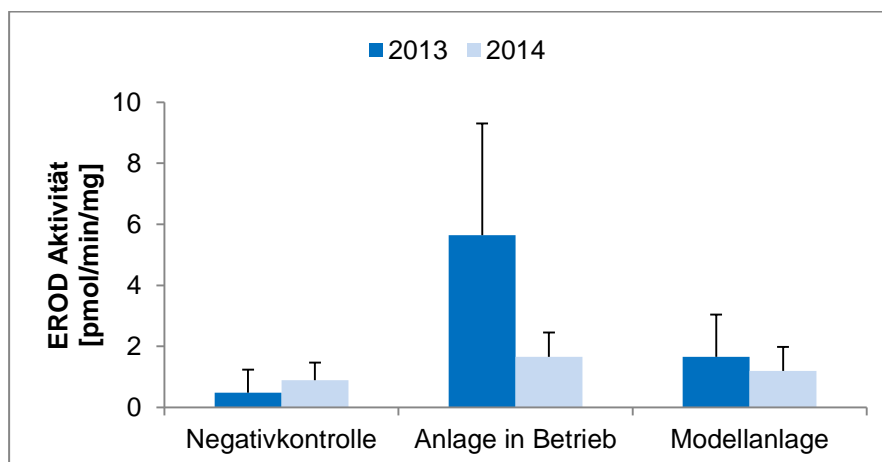


Abb. 168: EROD-Aktivität bei weiblichen Regenbogenforellen aus Aquarien in der KA Eriskirch

#### 4.8.4 Nachweis gentoxischer Effekte

Maier, Tribskorn (Universität Tübingen)

Die Anzahl an Mikrokernen (Biomarker für gentoxische Wirkungen) war bei Fischen, die gegenüber Wasser der Modellanlage der KA Eriskirch exponiert waren, geringer als bei Tieren, die im regulären KA-Ablauf gehalten wurden (Abb. 169). Die Werte lagen im Bereich der Kontrolltiere, was für eine Reduktion gentoxischer Wirkungen durch die eingesetzten neuen Technologien spricht.

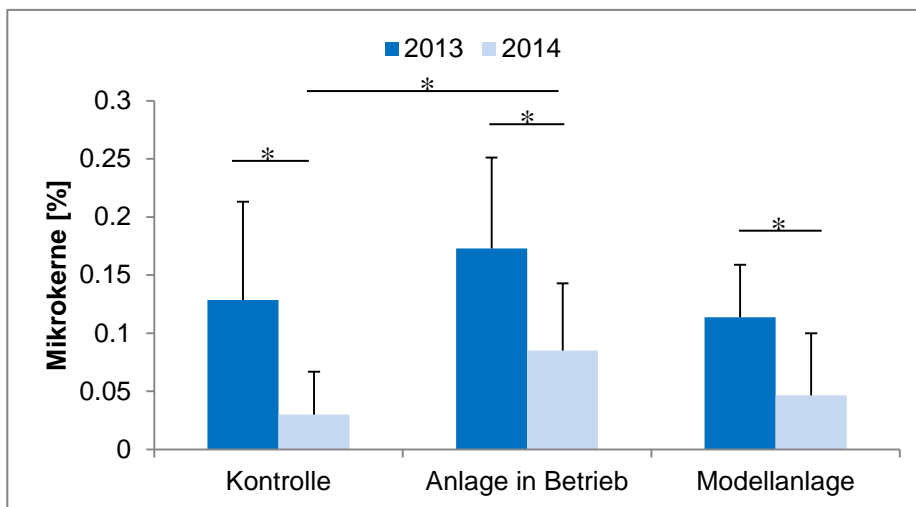


Abb. 169: Anzahl Mikrokerne in Erythrozyten von Regenbogenforellen aus Aquarien in der KA Eriskirch

#### 4.8.5 Vitellogenin-Nachweise

Henneberg, Tribskorn (Universität Tübingen)

Bei den Regenbogenforellen, die an der KA Eriskirch gegenüber dem konventionellen Ablauf (Ablauf FF) bzw. dem Ablauf aus der Modellanlage exponiert waren, zeigten die Weibchen leichte Unterschiede zwischen den Gruppen und zwischen den Jahren (Abb. 170). Die Männchen zeigten sehr geringe oder keine Induktion von Vitellogenin. Signifikante Unterschiede konnten nicht festgestellt werden.

Bei weiblichen Fischen, die gegenüber dem Ablauf der Modellanlage exponiert waren, traten deutlicher Unterschiede zwischen den 2013 und 2014 ermittelten Werten auf. Grund hierfür könnte die unterschiedliche Zusammensetzung des Modellablaufs sein, der 2013 mehr ozoniertes Abwasser enthielt als 2014.

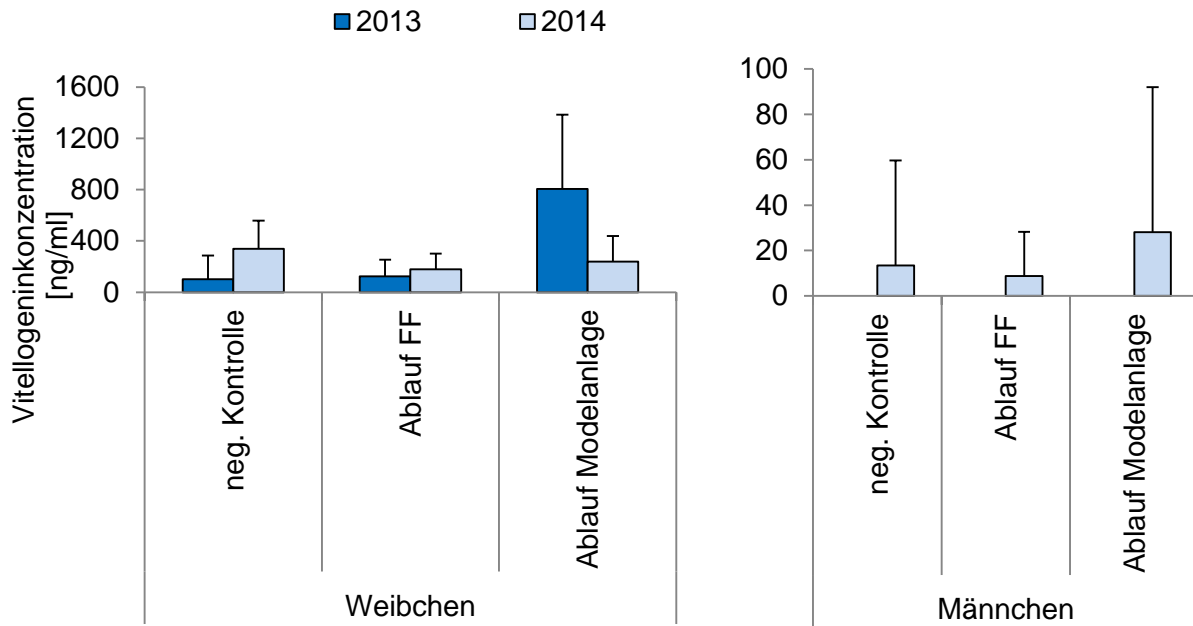


Abb. 170: Vitellogeninkonzentrationen in Blutproben von Regenbogenforellen, die an der KA Eriskirch exponiert waren. Der Modellanlagen Ablauf bestand 2013 aus einer Mischung von (1) Ozonierung + Sandfilter + GAK (granulierte Aktivkohle) und (2) Ozonierung + GAK im Verhältnis 1:1. 2014 änderte sich die Mischung: (1) Ozonierung + Sandfilter, (2) Ozonierung + GAK und (3) GAK im Verhältnis 1:1:1

Dies könnte dazu geführt haben, dass mehr Transformationsprodukte mit einer östrogenen Aktivität im Ablauf auftraten (Bila et al. 2007), auf welche die Weibchen reagierten. Da jedoch die Männchen keine deutliche Induktion von Vitellogenin zeigten, ist generell davon auszugehen, dass die östrogene Aktivität beider KA-Abläufe als gering einzustufen ist. Dafür sprechen auch die Ergebnisse der chemischen Analytik, die nur geringe Konzentrationen von östrogen-aktiven Substanzen messen konnten (Bisphenol A: Ablauf FF 39-110 ng/L und Ablauf Modellanlage 11-160 ng/L; EE2 >1ng/L in beiden Abläufen. Siehe auch Abschnitt 3.1.1 KA Eriskirch).

Die Unterschiede, die bei den Weibchen in der Kontrolle zwischen den Jahren 2013 und 2014 auftraten, sind wahrscheinlich auf die geringere Größe (bzw. das geringere Alter) der Tiere 2013 zurückzuführen. 2013 lag das durchschnittliche Gewicht der Forellen bei  $16,3 \pm 2,7$  (SD) Gramm und 2014 bei  $89 \pm 21,8$  (SD) Gramm. Die Gonadenentwicklung ist abhängig von der Fischgröße; je größer ein Fischweibchen ist, desto weitersind im Allgemeinen die Gonaden entwickelt, welche wichtig für die Induktion von Vitellogenin sind (Copeland et al. 1986).

## 4.9 Zusammenfassende statistische Datenauswertung (Anlagenbewertung)

*Schwarz, Seifan, Köhler, Tribskorn (Universität Tübingen)*

### 4.9.1 Spurenstoffentnahme: Alle Anlagen 2012 – 2014

Bei der Gesamtanalyse der Spurenstoffdaten für alle Anlagen zeigte sich eine große Anzahl an Korrelationen, so dass für die weitergehenden Analysen Stellvertreter für bestimmte Stoffgruppen festgelegt werden mussten. Insbesondere das Arzneimittel Diclofenac und der summarische Parameter SAK 254 repräsentieren hierbei in den durchgeführten Analysen eine Vielzahl weiterer Spurenstoffe und Ersatzparameter. Erwartungsgemäß zeigten der Zulauf nach Vorklärung und der Ablauf der Nachklärung höhere Konzentrationen als die weiterführend gereinigten Abläufe – was in den ersten Analysen die Unterschiede zwischen den Reinigungsstufen maskierte. Um ein differenzierteres Bild für die einzelnen Reinigungsschritte zu erhalten, wurden deshalb die Daten für den Zulauf nach Vorklärung und den Ablauf der Nachklärung aus der nächsten RDA ausgeschlossen (Abb. 171). Die erste Achse war hierbei insbesondere von den Anlagen Eriskirch und Langwiese bestimmt (15,8 % der Variation, 42,9 % der erklärbaren Variation). Das Muster der Anlage Langwiese wies auf erhöhte Werte des Kontrastmittels Iomeprol und des Antidiabetikums Metformin hin, besonders im Ablauf der Aktivkohlestufe vor dem Sandfilter. Die zweite Achse trennte die untersuchten Reinigungsstufen voneinander (29,7 % der Variation, 80,5 % der erklärbaren Variation) und zeigte so eine deutliche Reduktion der meisten Spurenstoffe (stellvertretend durch Diclofenac und SAK 254 dargestellt) durch die weitergehenden Reinigungsstufen. Besonders die Ozonierung, in Kombination mit den diversen nachgeschalteten Stufen, war im Hinblick auf die im Modell untersuchten Stoffe sehr effektiv in der Reduktion von Spurenstoffen. Aktivkohle war bei der Entfernung der meisten Stoffe ähnlich effektiv; die erhöhten Werte von Metformin und Iomeprol können eher als charakteristisch für die Anlage Langwiese an sich gesehen werden. Der Retentionsbodenfilter zeigte ein Muster vergleichbar mit dem der Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung.



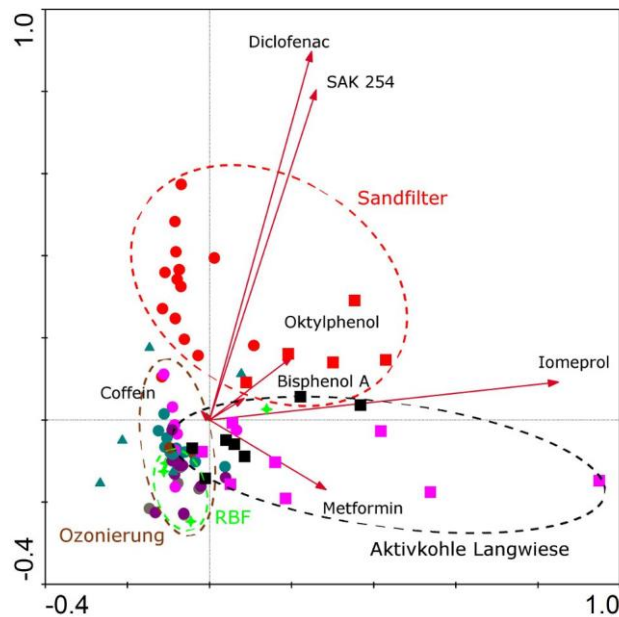


Abb. 171: RDA zur Spurenstoffanalytik an den Kläranlagen Merklings (Dreiecke), Eriskirch (Kreise) und Langwiese (Quadrate), sowie am Retentionsbodenfilter Tettwang (Sterne). Zulauf und Ablauf der Nachklärung sind nicht dargestellt. Rot: Flockungsfilter/Sandfilter, braun: Ozon, türkis: Ozon + Sandfilter, grau: Ozon + Aktivkohle + Flockungsfilter, lila: Ozon + Aktivkohle, violett: Aktivkohle, schwarz: Aktivkohle + Sandfilter, grün: Retentionsbodenfilter. Die erste Achse (horizontal) wird vornehmlich durch die Trennung der Anlagen Eriskirch und Langwiese bestimmt, die zweite Achse (vertikal) durch die Reinigungsstufen. Es zeigt sich eine deutliche, weitere Reduktion der hauptsächlichen Spurenstoffe (repräsentiert durch Diclofenac und SAK<sub>254</sub>) durch weitergehende Reinigungsschritte im Vergleich zum herkömmlichen Sandfilter. Für die Kläranlage Langwiese (mit Aktivkohle) sind sichtbar höhere Werte von Iomeprol und Metformin zu verzeichnen. Der Retentionsbodenfilter zeigt Werte, die den Abläufen der Kläranlagen mit weitergehender Reinigung entsprechen

#### 4.9.2 Spurenstoffentnahme: Nur KA Langwiese 2012 - 2016

Die Analyse der Spurenstoffdaten der Anlage Langwiese zeigte im ersten Schritt eine hohe Anzahl an hoch korrelierten Variablen, weshalb die Auswahl an Stoffdaten für die RDA stark eingeschränkt wurde. Insbesondere der Summenparameter SAK<sub>254</sub> zeigte eine hohe Korrelation mit zahlreichen physikalischen Parametern und Spurenstoffen, weshalb er stellvertretend für diese Variablen in der weiteren Analyse stand. Die Auswahl an Parametern wurde auf SAK<sub>254</sub>, Kalium, 4-M-Benzotriazol, Sulfamethoxazol, Iopamidol, Iopromid, Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat, PFBA, PFOA und PFOS eingeschränkt. Die Redundanzanalyse zeigte eine sichtbare Auftrennung und Gruppierung anhand der Parameter Probenahmejahr und Reinigungsstufe (Abb. 172). Die erste Achse ist vornehmlich durch das Probenahmejahr bestimmt und erklärt 35,6 % der Variation (64,2 % der erklärbaren Variation). Die zweite Achse ist durch die Reinigungsstufen bestimmt und erklärt gemeinsam mit der ersten Achse 52,4 % der Variation (94,5 % der erklärbaren Variation). Die dritte Achse trennt die Nachklärung von den anderen Reinigungsstufen und

erklärt kumulativ mit den vorherigen Achsen 55,1 % der Variation (99,3 % der erklärten Variation). Die vierte Achse ist von untergeordneter Bedeutung, insgesamt werden maximal 55,4 % der Variation durch die Umweltvariablen erklärt. Das sich ergebende Bild zeigte, erwartungsgemäß, die höchsten Konzentrationen an Spurenstoffen im Zulauf nach Vorklärung und die zweithöchsten im Ablauf der Nachklärung. Die Werte für den ehemaligen

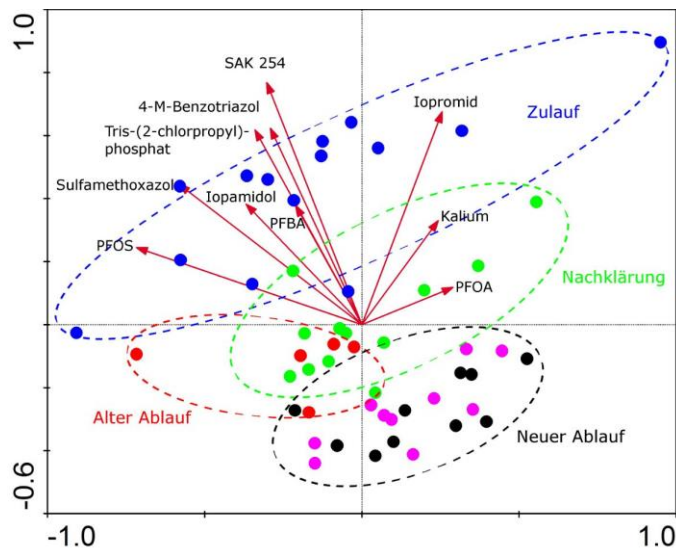


Abb. 172: RDA zur Spurenstoffanalytik der Kläranlage Langwiese. Der Zulauf nach Vorklärung ist in blau, der Ablauf der Nachklärung in grün, der frühere Ablauf des Flockungsfilters (ohne Aktivkohle) in rot, der Ablauf der Aktivkohlestufe in violett und der neue Ablauf des Flockungsfilters nach Aktivkohle in schwarz dargestellt. Dargestellt ist die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal. Insgesamt zeigen sich die höchsten Konzentrationen an Spurenstoffen im Zulauf. Die Konzentrationen im ehemaligen Ablauf befinden sich auf einem Niveau leicht unter der Nachklärung, während die Konzentrationen in den Abläufen nach Aktivkohlestufe noch stärker reduziert sind

Ablauf waren geringer als diejenigen für die Nachklärung, aber noch deutlich höher als die für die weiteren Reinigungsstufen. Zwischen dem Ablauf der Aktivkohlestufe und dem neuen Ablauf des Flockungsfilters nach Aktivkohle war keine Auftrennung zu erkennen.

#### 4.9.3 Keimentnahme: Alle Anlagen 2012 – 2014

Da bei den mikrobiologischen Parametern nur wenige Endpunkte untersucht wurden, war hier keine Reduktion der Anzahl der Parameter für die statistische Auswertung erforderlich. Der Zulauf und der Ablauf der Nachklärung zeigten erwartungsgemäß deutlich höhere Werte als die Kläranlagenabläufe (nicht gezeigt), weshalb diese beiden Stufen aus den weiteren Analysen ausgeschlossen wurden. Die RDA zeigte eine klare Trennung der konventionellen Reinigung mittels Sandfilter von den weiterführenden Reinigungsstufen. Die untersuchten Aktivkohlestufen der Kläranlage Langwiese zeigten in Bezug auf *E. coli* und Staphylokokken einige auffällige Messwerte (Abb. 173). Ozonierung erwies sich bei der Entfernung mikrobi-

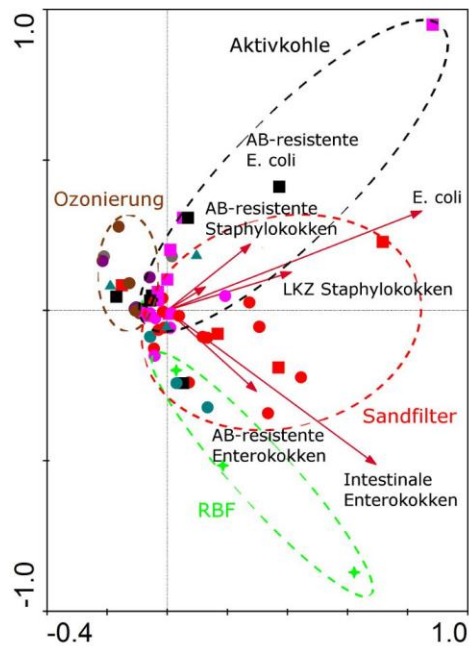


Abb. 173: RDA zur Entnahme von Keimen an den Kläranlagen Merklingen (Dreiecke), Eriskirch (Kreise) und Langwiese (Quadrate), sowie am Retentionsbodenfilter Tettngang (Sterne). Zulauf und Ablauf der Nachklärung sind nicht dargestellt. Rot: Flockungsfilter/Sandfilter, braun: Ozon, türkis: Ozon + Sandfilter, grau: Ozon + Aktivkohle + Flockungsfilter, lila: Ozon + Aktivkohle, violett: Aktivkohle, schwarz: Aktivkohle + Sandfilter, grün: Retentionsbodenfilter. Es zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen der herkömmlichen und weiterführenden Reinigung. Aktivkohle zeigte mehrere erhöhte Werte bei Staphylokokken und *E. coli*, der Retentionsbodenfilter bei Enterokokken. Die Ozonierung liefert bei der Entfernung von Keimen die eindeutig besten Ergebnisse

logischer Verunreinigungen als deutlich effektivste Technologie. Beim Retentionsbodenfilter Tettngang, der bei Spurenstoffen und Effektpotentialen sehr ähnliche Reinigungsleistung zu den Kläranlagen zeigte, fanden sich auffällige Werte insbesondere bei intestinalen Enterokokken.

Die Erklärbarkeit der Daten war verhältnismäßig gering, mit 8,3 (60,1 % der erklärbaren Variation) durch die erste und 12,9 % (93,1 % der erklärbaren Variation) durch die ersten beiden Achsen. Dies könnte mit darin begründet liegen, dass für die meisten gemessenen Parameter (AB-Resistenzen und LKZ Staphylokokken) nur Daten für die Hauptprobenahmen, nicht aber für die Begleitprobenahmen vorhanden waren. Um genauere Erkenntnisse zu erhalten, wurde für die Anlagen in Eriskirch und Langwiese jeweils getrennt eine Analyse durchgeführt.

Die Anlage in Eriskirch zeigte unter Einzelbetrachtung die bereits beobachtete Tendenz, dass die Keimbelastung durch weiterführende Abwasserbehandlung im Vergleich zur konventionellen dritten Reinigungsstufe weiter verbessert wird (Abb. 174). Ozon liefert hierbei noch bessere Resultate als Aktivkohle. Die erste Achse wird vorwiegend durch diese Reinigungsstufen bestimmt und erklärt 14,1 % der Variation (52,7 % der erklärbaren

Variation). Die zweite Achse wird vorwiegend vom Probenahmejahr bestimmt und erklärt gemeinsam mit der ersten Achse 25,1 % der Variation (93,6 % der erklärbaren Variation).

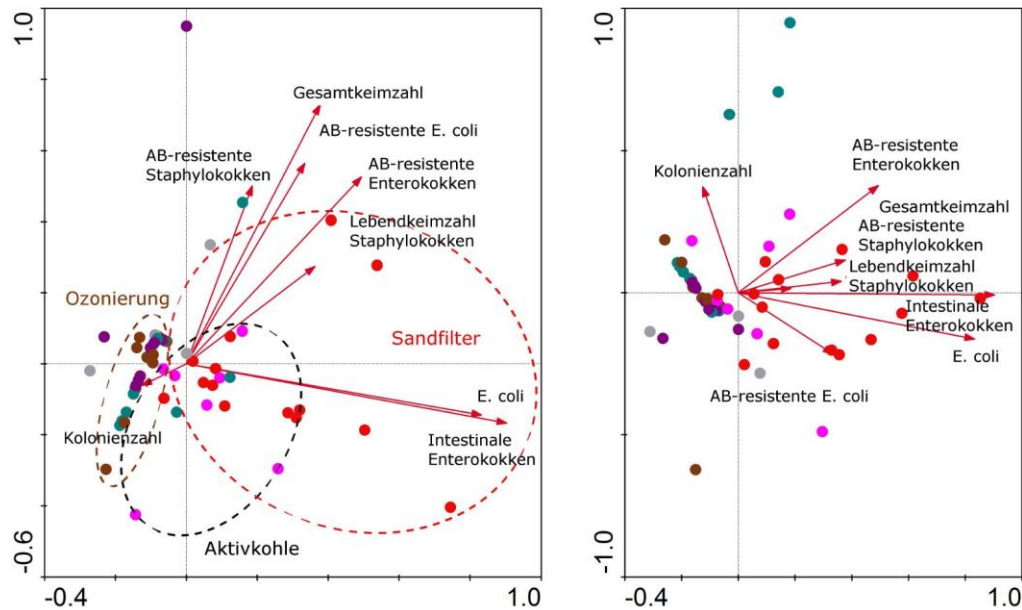


Abb. 174: RDA zur Reduktion von Keimen auf der Kläranlage Eriskirch. Zulauf und Ablauf der Nachklärung sind nicht dargestellt. Rot: Flockungsfilter/Sandfilter, braun: Ozon, türkis: Ozon + Sandfilter, grau: Ozon + Aktivkohle + Flockungsfilter, lila: Ozon + Aktivkohle, violett: Aktivkohle. Links sind die erste und zweite, rechts die erste und dritte Achse dargestellt. Es zeigt sich bereits eine deutliche Reduktion der mikrobiologischen Parameter durch Aktivkohle, und noch stärker durch Ozonierung im Vergleich zum herkömmlichen Ablauf nach Sandfilter

Die Nachklärung an der Anlage Langwiese lieferte ein Ergebnis, das in vielen Parametern mit dem konventionellen Ablauf vergleichbar ist. Bei *E. coli* und intestinalen Enterokokken ist jedoch eine Reduktion durch den Flockungsfilter zu verzeichnen (Abb. 175). Man erkennt eine deutliche Reduktion der mikrobiologischen Parameter durch die zusätzliche Aktivkohlestufe. Die erste Achse wird hier vom Probenahmejahr bestimmt und erklärt 27,1 % der Variation (64,9 % der erklärbaren Variation); die zweite Achse trennt die Reinigungsstufen voneinander und erklärt mit der ersten Achse 39,4 % der Variation (94,4 % der erklärbaren Variation).

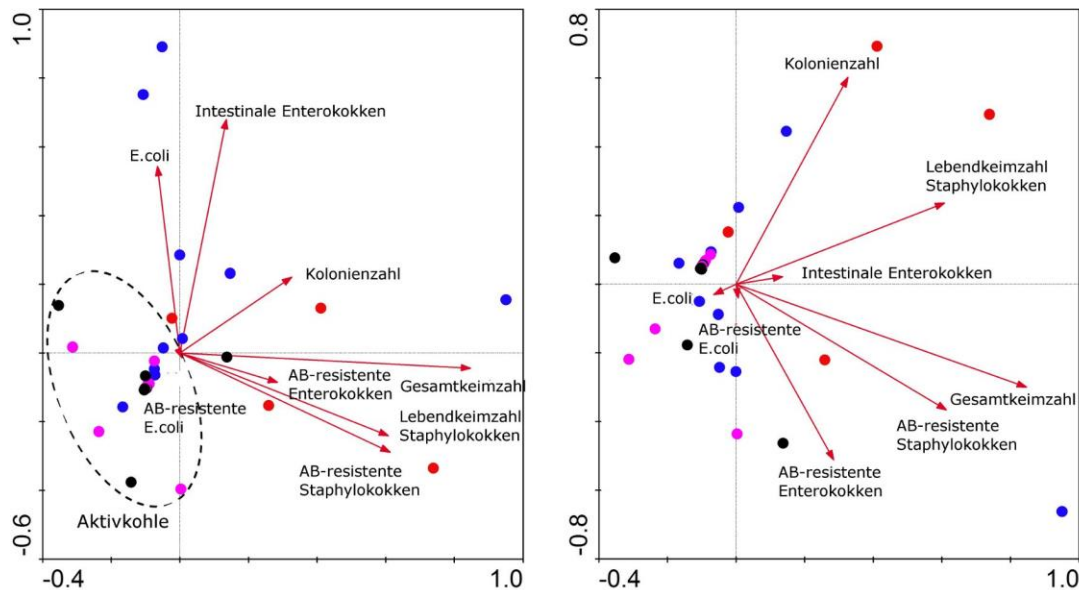


Abb. 175: RDA zur Entnahme von Keimen auf der Kläranlage Langwiese. Der Zulauf ist nicht dargestellt. Blau: Ablauf Nachklärung, Rot: Flockungsfilter/Sandfilter, violett: Aktivkohle, schwarz: Aktivkohle + Sandfilter. Dargestellt ist links die erste und zweite, rechts die erste und dritte Achse. Es lässt sich vorwiegend eine Reduktion der mikrobiologischen Parameter durch die Aktivkohlestufe erkennen. Die Nachklärung und der Sandfilter ohne Aktivkohle unterscheiden sich vor allem bei den Parametern *E. coli* und Intestinale Enterokokken

#### 4.9.4 Entnahme von Effektpotentialen: Alle Anlagen 2012 – 2014

Unter Einbezug aller Anlagen zeigte sich ein starker Einfluss des Zulaufs und des Ablaufs der Nachklärung auf die gemessenen Effektpotentiale (nicht dargestellt). Diese beiden Reinigungsstufen wurden für die folgende Analyse entfernt, um eine bessere Differenzierung zwischen den weitergehenden Reinigungsstufen zu erlauben (Abb. 176). Die Analyse zeigte vor allem eine deutliche Abgrenzung des konventionellen Ablaufs mit Sandfilter von den weitergehenden Reinigungsstufen, vor allem in Bezug auf die dioxinähnlichen Wirkpotentiale. Die erste Achse erklärt alleine 15,4 % der Variation (55,6 % der erklärbaren Variation), gemeinsam mit der zweiten Achse 20,9 % (75,5 % der erklärbaren Variation) und mit der dritten 24,5 % (88,6 % der erklärbaren Variation). Insgesamt ist das Bild weit weniger deutlich als bei den für die Daten aus der Spurenstoffanalytik erzielten Ergebnissen.

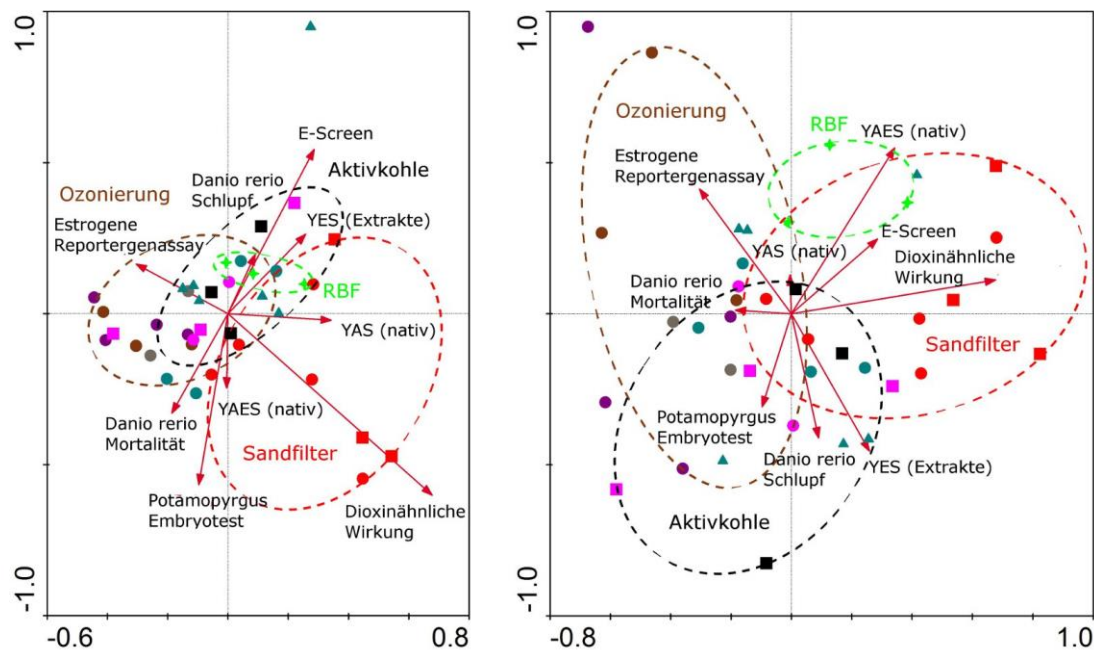


Abb. 176: RDA zur Effektpotentialanalytik an den Kläranlagen Merklingen (Dreiecke), Eriskirch (Kreise) und Langwiese (Quadrate), sowie am Retentionsbodenfilter Tettngang (Sterne). Zulauf und Ablauf der Nachklärung sind nicht dargestellt. Rot: FlockungsfILTER/Sandfilter, braun: Ozon, türkis: Ozon + Sandfilter, grau: Ozon + Aktivkohle + FlockungsfILTER, lila: Ozon + Aktivkohle, violett: Aktivkohle, schwarz: Aktivkohle + Sandfilter, grün: Retentionsbodenfilter. Dargestellt sind links die erste und zweite, sowie rechts die erste und dritte Achse. Die Analyse zeigt eine deutliche Trennung des konventionellen Ablaufs mit Sandfilter von den weiterführenden Reinigungsstufen

*Entnahme von Effektpotentialen: Kläranlage Langwiese 2012 - 2016*

Es wurde eine gesonderte Analyse der Daten zu Kläranlage Langwiese durchgeführt. Die Abläufe der Anlage wurden zwei Jahre länger beprobt als die der anderen Anlagen, was zu einer verbesserten Datenlage führt. Zudem kann durch die Beschränkung auf eine Anlage zusätzliche nicht erklärbare Umweltvariation entfernt werden, was potentiell eine deutlichere Unterscheidung der Reinigungsstufen erlaubt. Die erste Analyse der Daten zu Effektpotentialen zeigte erwartungsgemäß einen starken Einfluss des Zulaufs (Abb. 177). Die erste Achse ist vornehmlich durch das Probenahmejahr bestimmt und erklärt 50,3 % der Variation (74,8 % der erklärbaren Variation). Mit der zweiten Achse, hauptsächlich durch die Reinigungsstufen bestimmt, werden 63 % der Variation (93,7 % der erklärbaren Variation) erklärt. Insgesamt sind maximal 67 % der Variation durch die eingespeisten Umweltvariablen zu erklären. Da der starke Einfluss des Zulaufs weitergehende Unterschiede zwischen den Reinigungsstufen maskierte, wurde er für die folgende Analyse ausgeschlossen. Zudem wurde die Palette an Endpunkten leicht reduziert (Ausschluss von YES (nativ), YAS (Extrakt), YAES (Extrakt) und YAAS (nativ)).

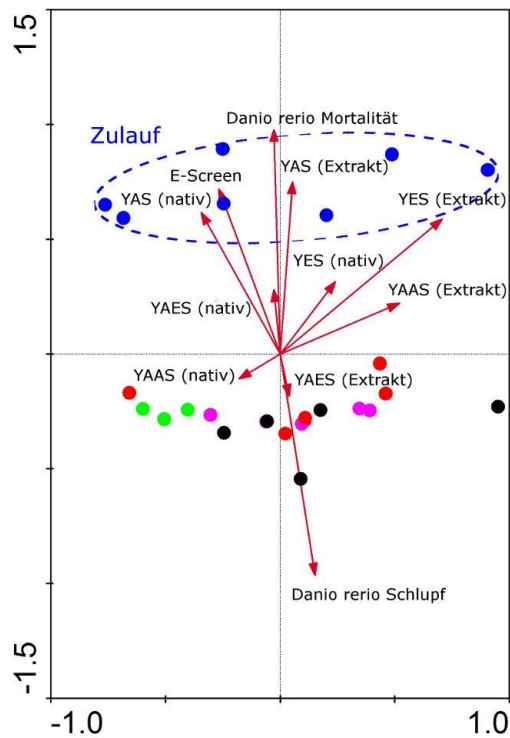


Abb. 177: RDA zur Effektpotentialanalytik der Kläranlage Langwiese. Der Zulauf nach Vorklärung ist in blau, der Ablauf der Nachklärung in grün, der frühere Ablauf des Flockungsfilters (ohne Aktivkohle) in rot, der Ablauf der Aktivkohlestufe in violett und der neue Ablauf des Flockungsfilters nach Aktivkohle in schwarz dargestellt. Dargestellt ist die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal. Es ist eine deutliche Trennung des Zulaufs von den restlichen Reinigungsstufen zu erkennen, eine weitere Auftrennung ist nicht ersichtlich

Die weitergehende Analyse der Reinigungsstufen, unter Ausschluss des Zulaufs nach Vorklärung ergab eine deutlich bessere Auftrennung der einzelnen Reinigungsstufen (Abb. 178). Die erste Achse wird weiterhin primär vom Probenahmejahr bestimmt und erklärt 62 % der Variation (76 % der erklärbaren Variation), die zweite Achse trennt den Ablauf der Nachklärung von den weitergehenden Reinigungsstufen und erklärt gemeinsam mit der ersten Achse 77,3 % der Variation (94,7 % der erklärbaren Variation). Die dritte Achse erlaubt zusätzlich eine Auftrennung der Reinigungsstufen Flockungsfiler und Aktivkohle – insgesamt werden somit 81,5 % der Variation (99,8 % der erklärbaren Variation) durch die Achsen erklärt. Es ist eine deutliche Auftrennung der Gruppen „Nachklärung“, „alter Ablauf“ und „neuer Ablauf“ zu erkennen. Während die Werte der meisten gemessenen Parameter im Ablauf der Nachklärung am höchsten sind, können in den Abläufen mit Aktivkohle verbesserte Werte der Schlupfrate von *D. rerio* beobachtet werden, jedoch auch erhöhte Anti-Östrogenität. Die Werte des „alten Ablaufs“ ohne Aktivkohlestufe zeigen insbesondere höhere Androgenität.

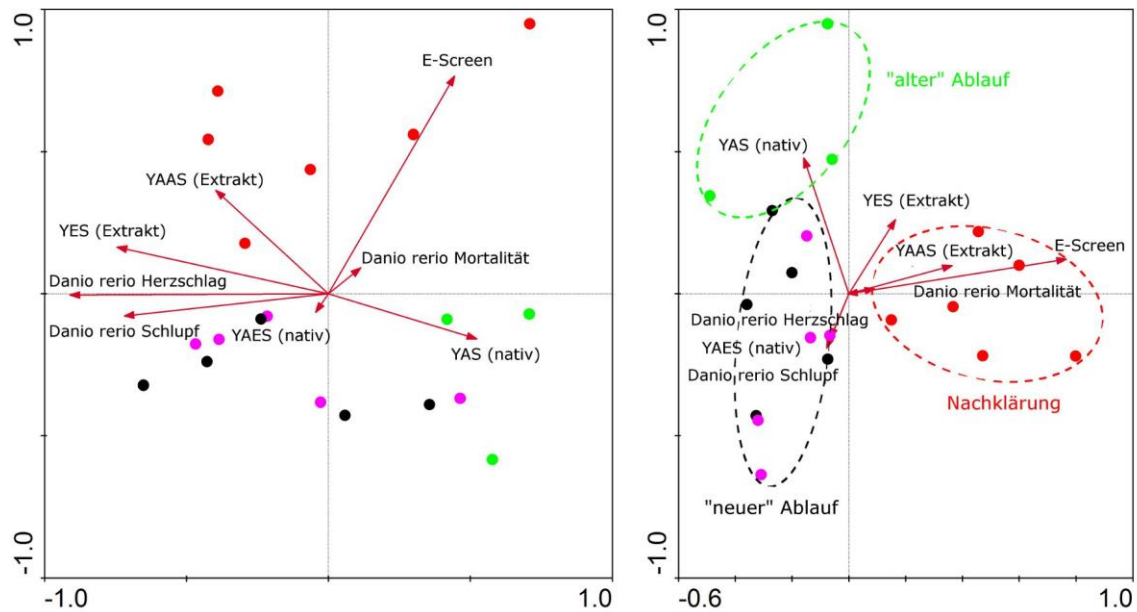


Abb. 178: RDA zur Effektpotentialanalytik an der Kläranlage Langwiese unter Ausschluss des Zulaufs nach Vorklärung. Der Ablauf der Nachklärung ist in grün, der frühere Ablauf des Flockungsfilters (ohne Aktivkohle) in rot, der Ablauf der Aktivkohlestufe in violett und der neue Ablauf des Flockungsfilters nach Aktivkohle in schwarz dargestellt. Links dargestellt ist die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal, rechts die zweite Achse horizontal und die dritte Achse vertikal. Die rechte Grafik erlaubt eine gute Auftrennung der Reinigungsstufen nach Nachklärung (rechts), „altem Ablauf“ (links oben) und „neuem Ablauf“ (links unten)

### 4.10 Zusammenfassung Anlagenbewertung

*Triebskorn (Universität Tübingen), Gallert (KIT, Hochschule Emden/Leer), Jedele (Jedele & Partner, Stuttgart), Lüddeke (LUBW, Institut für Seenforschung, Langenargen), Scheurer (TZW Karlsruhe), Vogel (ehem. RP Tübingen)*

Mit allen in den Kläranlagen untersuchten Technologien war eine **sehr effiziente Verminderung von Spurenstoffen, Wirkpotentialen und Indikatorkeimen** möglich. Es konnten im Mittel mehr als 80 % an Spurenstoffen und Wirkpotentialen und mehr als drei Zehnerpotenzen an Keimen entnommen werden. Die absolute Entnahmeleistung der verschiedenen Verfahren oder Verfahrenskombinationen ist jedoch abhängig von den betrachteten Spurenstoffen, Wirkendpunkten und Keimarten.

Im Vergleich zur **Ozonung** in Kombination mit einem Sandfilter oder granulierter Aktivkohle zeigte die **Pulveraktivkohlestufe** plus Sandfilter in Ravensburg bessere Entnahmewerte für einige Substanzen wie z. B. 1H-Benzotriazol, Metoprolol und verschiedene Röntgenkontrastmittel, jedoch eine schlechtere Reduktion von Stoffen wie z. B. Carbamazepin und Diclofenac.



Für die **Entnahme von Keimen** ist die Ozonung mit nachgeschalteter Filtration am effektivsten und erreicht mindestens eine log-Stufe geringere Werte als die Pulveraktivkohleanwendung. Die Konzentration an Enterokokken im Kläranlagenablauf konnte sowohl durch Pulveraktivkohle als auch durch die Kombination aus **Ozon plus Sandfilter und/oder granulierten Aktivkohle** im Median unter den Grenzwert der Badegewässerrichtlinie reduziert werden. Obgleich die absolute Anzahl an Antibiotikaresistenten Bakterien deutlich reduziert wird, steigt der prozentuale Anteil resistenter Keime beim Einsatz weitergehender Reinigungsmaßnahmen auf Kläranlagen meistens an.

Pulveraktivkohle führt nicht zur Bildung von Transformationsprodukten, die eine potentielle toxikologische Relevanz besitzen können. Sie ist allerdings für die Entnahme von Keimen deutlich weniger effizient als eine Ozonung, die wegen möglicher Transformationsprodukte immer eine nachgeschaltete Filtration benötigt (Sandfilter, optimal Kornkohle). Der Erfolg der Nachbehandlung kann durch Wirktests nachgewiesen werden.

Bei der praktischen Anwendung der Pulveraktivkohle sind die Kriterien **Verfügbarkeit und Qualität der Kohle** gesondert zu beachten.

Durch die zusätzliche und weitergehende Abwasserreinigung wurden sehr effizient vor allem **dioxinähnliche, gentoxische und östrogene, aber auch entwicklungstoxische Wirkpotentiale**, die auf Gewässerorganismen wirken können, entnommen.

**Fische zeigten nach Hälterung in** Abwasser, das mit Pulveraktivkohle oder Ozon weitergehend behandelt wurde, einen **besseren Gesundheitszustand** als Tiere, die im konventionell gereinigten Abwasser gehalten wurden.

## **II. AUSWIRKUNGEN DES AUSBAUS DER KLÄRANLAGE LANGWIESE AUF DAS ÖKOSYSTEM DER SCHUSSEN**

### **4.11 Limnologische Analytik**

*Peschke, Triebskorn (Universität Tübingen)*

Die Ergebnisse der limnochemischen Untersuchungen sind in Tab. 25 entsprechend der Gewässergüteklassifizierung nach LAWA (2003) bewertet dargestellt.

Tab. 25: Zusammenfassende Bewertung der Gewässergüte nach LAWA (2003) für die Flüsse Schussen und Argen. Mittelwerte für Sommer- (Lufttemperatur über 15 °C) und Herbstprobenahmen (Lufttemperatur unter 15 °C) vor (PN K - PN O; 05/2012 bis 07/2013) und nach (PN P bis PN S; 11/2013 bis 06/2015) Ausbau der Kläranlage (KA) Langwiese. Grün: guter Zustand; gelb: Grenzwerte überschritten

	Schussen								Argen		
	Vor KA - Ausbau				Nach KA - Ausbau				Vor KA - Ausbau	Nach KA - Ausbau	
	PS0	PS1	PS3	PS6	PS0	PS1	PS3	PS6	PS4	PS4	
Sommer	Wassertemperatur (°C)	15,4	16,0	16,0	16,8	14,4	14,1	14,6	14,9	14,3	14,7
	Lufttemperatur (°C)	20,1	21,4	23,0	23,0	21,5	21,5	21,0	21,0	19,7	22,3
	Sauerstoffgehalt (mg/l)	9,78	9,71	9,76	8,72	10,21	10,12	9,83	8,98	10,66	10,26
	Sauerstoffsättigung (%)	102,65	102,30	102,38	92,43	105,80	102,60	101,00	91,87	109,80	108,50
	Leitfähigkeit (µS/cm)	652	618	630	677	594	591	598	620	471	507
	pH-Wert	8,26	8,24	8,23	8,19	8,20	8,22	8,22	7,96	8,27	8,23
	Nitrit-N (mg/l)	0,024	0,026	0,023	0,030	0,019	0,020	0,019	0,020	0,009	0,010
	Nitrat-N (mg/l)	3,094	2,931	3,251	3,326	2,867	2,867	3,233	3,700	0,846	0,800
	Ammonium-N (mg/l)	0,053	0,055	0,037	0,054	0,040	0,047	0,043	0,057	0,025	0,040
	Ortho-Phosphat-P (mg/l)	0,053	0,045	0,053	0,060	0,060	0,073	0,087	0,090	0,037	0,033
	Chlorid (mg/l)	23	23	25	28	22	23	24	32	13	10
	Gesamthärte (°dH)	21	20	20	19	20	21	20	20	17	17
Karbonathärte (°dH)	21	21	21	21	19	18	18	17	17	15	
Herbst	Wassertemperatur (°C)	10,6	10,6	11,0	11,6	6,6	6,7	6,9	7,0	9,4	6,0
	Lufttemperatur (°C)	8,0	8,0	9,0	8,0	4,0	4,0	4,0	4,0	7,1	3,0
	Sauerstoffgehalt (mg/l)	10,29	9,10	10,32	8,80	11,30	10,60	10,30	9,90	8,59	10,40
	Sauerstoffsättigung (%)	97,80	85,80	97,60	85,00	97,00	92,00	91,00	87,00	78,70	101,00
	Leitfähigkeit (µS/cm)	650	697	675	670	637	642	646	653	518	497
	pH-Wert	8,14	8,25	8,19	8,06	8,30	8,20	8,40	8,20	8,22	8,30
	Nitrit-N (mg/l)	0,012	0,012	0,012	0,015	0,017	0,016	0,017	0,014	0,006	0,003
	Nitrat-N (mg/l)	2,938	2,938	3,842	3,616	2,900	2,700	3,400	3,600	1,130	1,100
	Ammonium-N (mg/l)	0,039	0,039	0,039	0,039	0,020	0,040	0,020	0,040	0,039	0,020
	Ortho-Phosphat-P (mg/l)	0,065	0,065	0,065	0,065	0,025	0,025	0,025	0,025	0,065	0,025
	Chlorid (mg/l)	25	24	29	29	20	21	23	24	12	9
	Gesamthärte (°dH)	23	24	23	24	26	24	26	25	25	22
Karbonathärte (°dH)	16	16	16	18	25	20	21	23	16	20	

Außer den Werten für Nitrat-N können die limnochemischen und physikochemischen Daten von allen Probestellen in den Sommer- und Herbstprobenahmen vor und nach Ausbau der Kläranlage nach LAWA (2003) als gut bis sehr gut eingestuft werden. Hierbei liegen die Messwerte an der Argen (PS 4) meistens unter denjenigen der Schussen. Hinsichtlich der Nitrat-N-Gehalte sind alle Probestellen der Schussen vor und nach Ausbau der Kläranlage als kritisch belastet zu bewerten. Dies ist höchstwahrscheinlich auch auf diffuse Nährstoffeinträge aus stickstoffhaltigen Düngemitteln zurückzuführen (BMU 2012). Somit sind die Lebewesen im Ökosystem einer andauernden Hintergrundbelastung durch Nitrat ausgesetzt. Bisher liegen kaum Studien zu chronischen Effekten von erhöhten Nitratkonzentrationen auf die Fließgewässerfauna vor. Laboruntersuchungen mit Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) zur Bewertung akuter Toxizität von Nitrat zeigten einen signifikanten Anstieg der Mortalität von Fischeiern und frischgeschlüpften Fischen bei Nitratkonzentrationen von 1,1 bis 4,5 mg Nitrat-N/L bei 30-tägiger Exposition (Camargo et al. 2005).

## 4.12 Spurenstoffe (Auswirkungen auf das Gewässer)

*Scheurer, Richter, Sacher (Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe)*

Wie in Kapitel 4.3 dargestellt, können die an den Kläranlagen erprobten Technologien zu einem reduzierten Spurenstoffeintrag in die Schussen führen. Eine Erfolgskontrolle der neu implementierten Abwasserbehandlungsmaßnahmen lässt sich am schnellsten durch die Untersuchung von Wasserproben feststellen. Daher wurde die Schussen an den Probestellen PS 0, 1, 3 und 6 regelmäßig beprobt. Als Referenzgewässer diente die Argen (PS 4). Die Lage der Probestellen ist. Abb. 4 zu entnehmen.

### Abwasser und Oberflächenwasser

Der Ausbau der Kläranlage Langwiese führte zu einem reduzierten Konzentrationsniveau im behandelten Abwasser, es wurde aber oftmals keine vollständige Elimination auf Werte unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze erreicht. Folglich konnte die Anzahl der im Mittel in der Schussen detektierten Spurenstoffe unterhalb der Kläranlage nur leicht reduziert werden. Dieser Effekt war auch an der Schussenmündung (PS 6) noch zu beobachten, allerdings nicht an den beiden oberhalb der Kläranlage gelegenen Probenahmestellen PS 0 und PS 1. Oberhalb der Kläranlageneinleitung (PS 1) waren vergleichsweise wenige Spurenstoffe permanent nachweisbar. So wiesen lediglich 1*H*-Benzotriazol, 4-Methylbenzotriazol, 5-Methylbenzotriazol, EDTA, N,N-Dimethylsulfamid, Carbamazepin, Diclofenac, Metoprolol, N-Acetyl-4-aminoantipyrin, N-Formyl-4-aminoantipyrin, 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin, Acesulfam und Saccharin eine 100%ige Detektionshäufigkeit auf.

Aus Abb. 179 wird deutlich, dass über die Projektlaufzeit insgesamt deutlich mehr Verbindungen mit mindestens einem Positivbefund in Schussen und Argen nachgewiesen werden konnten, als dies im Mittel in einer Probe der Fall war. Unterhalb der Kläranlage Langwiese waren beispielsweise vor dem Kläranlagenausbau im Mittel 36, nach dem Ausbau 34 Spurenstoffe nachweisbar. Betrachtet man allerdings alle dort durchgeführten Probenahmen, war für insgesamt 53 Verbindungen mindestens ein Positivbefund zu verzeichnen. Besonders auffällig war dies am Referenzgewässer, wo zwischen 8 und 21 Verbindungen in Einzelproben in Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze detektiert wurden, integral betrachtet aber insgesamt 33 Verbindungen nachgewiesen werden konnten.

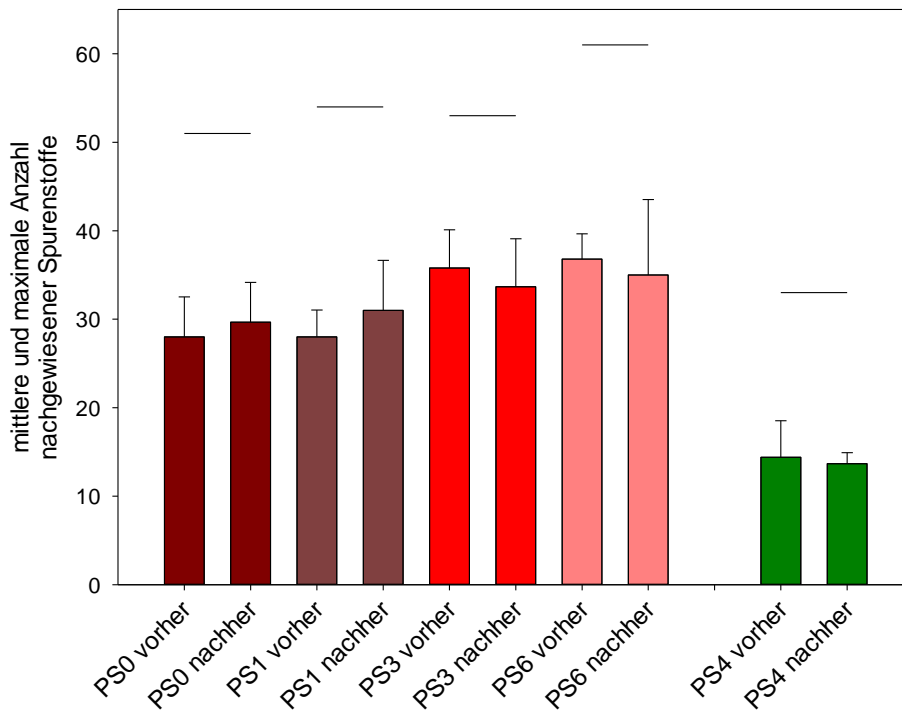


Abb. 179: Mittlere Anzahl der nachgewiesenen Spurenstoffe an den Probenahmestellen an Schussen und Argen vor und nach dem Ausbau der Kläranlage in Ravensburg. Linien über den Balken zeigen die Anzahl an Spurenstoffen an, die mindestens einmal in einer Konzentration über der Bestimmungsgrenze an dieser Probenahmestelle detektiert wurden

Im Verlauf der Schussen war ein ansteigendes Konzentrationsniveau für die untersuchten Spurenstoffe festzustellen, wie dies auch für andere durch Abwasser beeinflusste Fließgewässer der Fall ist. Der Konzentrationsanstieg durch den stetigen Eintrag der 19 Kläranlagen entlang der Schussen ist somit ausgeprägter als die Verdünnung durch den Zufluss gering belasteter Nebenflüsse. In Abb. 180 sind die relativen Konzentrationen von 14 Spurenstoffen vor dem Kläranlagenausbau in Ravensburg an den vier Probenahmestellen entlang der Schussen dargestellt. Die Normierung erfolgte im Intervall (0 bis 1) mit 1 als der höchsten mittleren Konzentration. Es wird deutlich, dass für fast alle Verbindungen die höchsten Konzentrationen an der Schussenmündung gemessen wurden. Verbindungen, die bereits an PS 0 oder PS 1 vergleichsweise hohe relative Konzentrationen aufwiesen, sind entweder sehr gut biologisch abbaubar (Coffein und Saccharin) oder können andere Eintragsquellen als kommunales Abwasser haben (EDTA) und sind somit keine guten Indikatoren für kommunales Abwasser. Vergleicht man die Konzentrationen, die an der Schussenmündung gemessen wurden, mit denen einer mündungsnahen Messstation am Rhein (Düsseldorf) im Jahr 2013 liegen diese auf einem ähnlichen Niveau (ARW 2014). So wurden beispielsweise für Carbamazepin, Diclofenac und 1*H*-Benzotriazol in der Schussen (PS 6)  $0,05 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ ,  $0,08 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$  und  $0,34 \pm 0,07 \mu\text{g/L}$  gemessen; am Rhein  $0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ ,  $0,07 \pm 0,03 \mu\text{g/L}$  und  $0,43 \pm 0,11 \mu\text{g/L}$ .

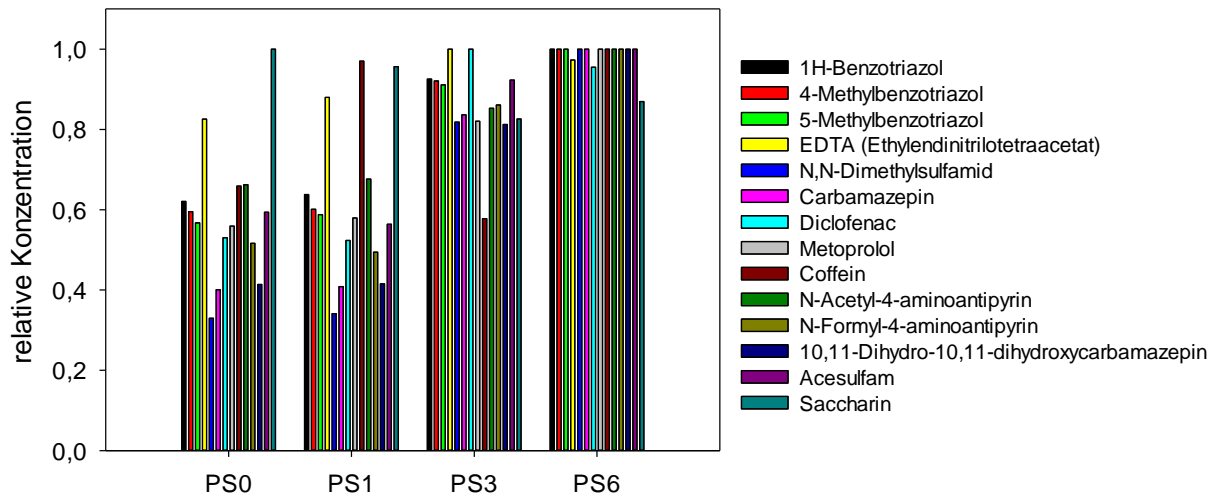


Abb. 180: Normierte Konzentrationen von 14 Spurenstoffen, die mit 100%iger Detekthäufigkeit vor dem Kläranlagenausbau an Probenahmestelle PS 0 gemessen wurden, an vier Probenahmestellen entlang der Schussen

In Abb. 181 sind die Konzentrationen für fünf Spurenstoffe oberhalb und unterhalb der Einleitung der Kläranlage sowie im Abwasser selbst dargestellt. Betrachtet man die Ablaufkonzentrationen der Kläranlage und die Konzentrationen in der Schussen unterhalb der Einleitung, sind diese um einen Faktor 10 bis 17 geringer.

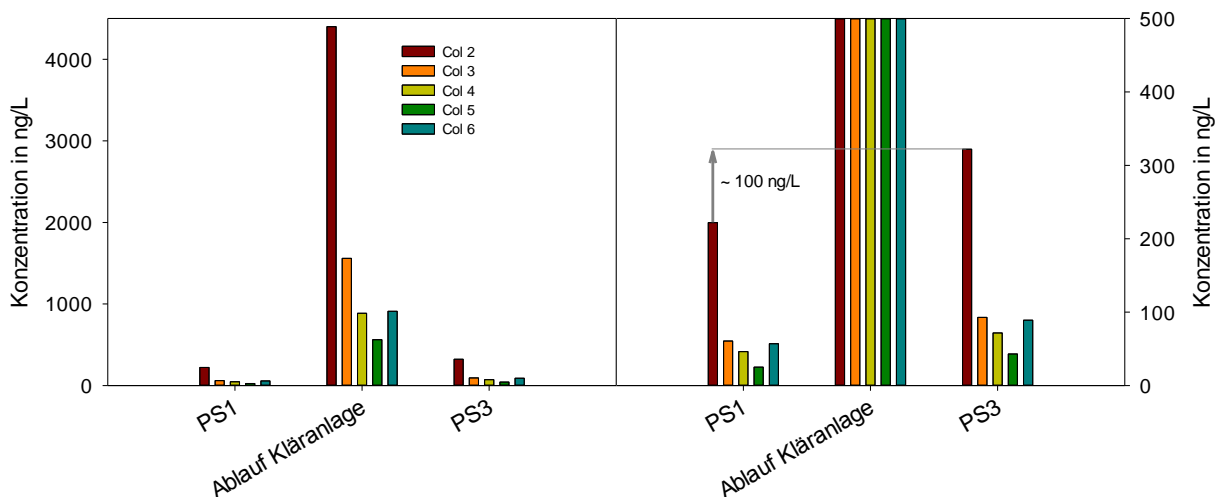


Abb. 181: Links: Konzentrationen ausgewählter Spurenstoffe an den Probenahmestellen oberhalb (PS 1) und unterhalb (PS 3) der Einleitung durch die Kläranlage Ravensburg sowie im Abwasser. Rechts: Ausschnitt zur Verdeutlichung der Konzentrationserhöhung im Fließgewässer durch die Abwassereinleitung am Beispiel von 1H-Benzotriazol

Allerdings weist bereits die Probenahmestelle PS 1 oberhalb der Abwassereinleitung eine deutliche Belastung mit Spurenstoffen auf. So wurde beispielsweise für 1H-Benzotriazol lediglich eine Erhöhung der Konzentration um 100 ng/L nach der Einleitung beobachtet, was

unter Berücksichtigung der mittleren Ablaufkonzentrationen von ca. 4,4 µg/L einem Verdünnungsfaktor von ca. 45 entspricht. Die Konzentrationserhöhung in der Schussen selbst kann im Falle von 1*H*-Benzotriazol auch sehr gut durch die behandelte Abwassermenge und den Abfluss des Fließgewässers plausibilisiert werden. Bei einem mittleren täglichen Kläranlagenablauf von 43.000 m<sup>3</sup> werden pro Sekunde knapp 500 Liter in die Schussen abgeschlagen, was bei einer durchschnittlichen Ablaufkonzentration von ca. 4,4 µg/L einer ungefähren absoluten Menge von 2.200 µg/s entspricht. Die Schussen besitzt einen mittleren Abfluss von 8.000 L/s, was einer durchschnittlichen Konzentrationserhöhung an 1*H*-Benzotriazol durch die Kläranlageneinleitung von 275 ng/L entspricht. Dies korrespondiert recht gut mit der tatsächlich beobachteten Erhöhung von 100 ng/l.

Besonders geeignet, um die unmittelbaren Auswirkungen einer Vollstrombehandlung mit Pulveraktivkohle auf die chemische Gewässerqualität zu überprüfen, war ein Vergleich unterhalb der Kläranlageneinleitung an Probenahmestelle 3 von Proben vor und nach dem Kläranlagenausbau.

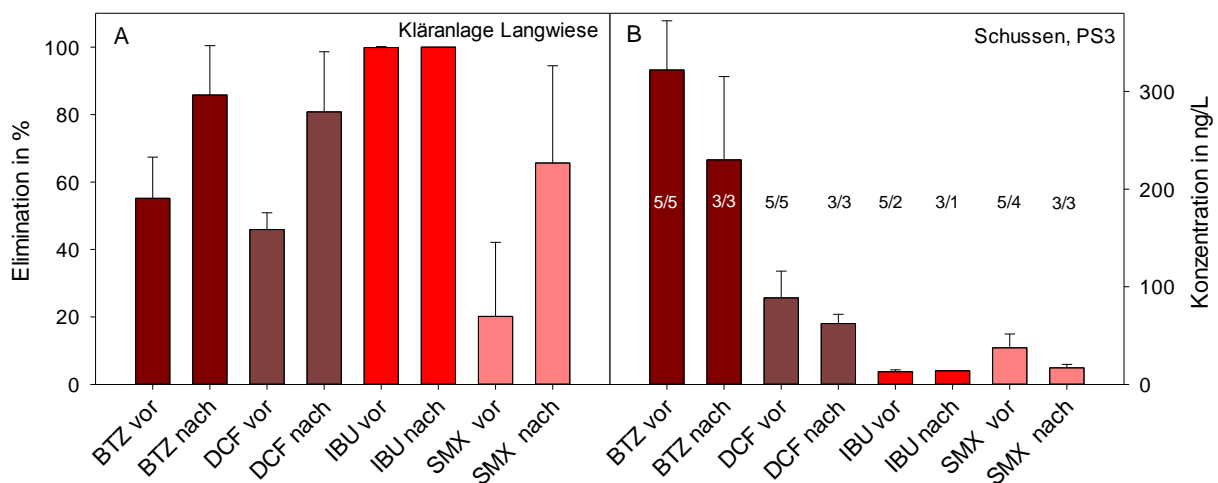


Abb. 182: Elimination von 1*H*-Benzotriazol (BTZ), Diclofenac (DCF), Ibuprofen (IBU) und Sulfamethoxazol (SMX) in der Kläranlage Langwiese sowie gemessene Konzentrationen in der Schussen unterhalb der Einleitung der Kläranlage jeweils vor und nach dem Ausbau. Anzahl Messungen / Werte > BG

In Abb. 182 ist nochmals die Elimination von verschiedenen Spurenstoffen jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese dargestellt. Diese wurde durch die Implementierung der 4. Reinigungsstufe zum Teil deutlich erhöht. Dieser Effekt spiegelte sich entsprechend in den Spurenstoff-Konzentrationen an der Probenahmestelle unterhalb der Einleitung wider, wo beispielsweise für 1*H*-Benzotriazol vor dem Ausbau  $0,32 \pm 0,05$  µg/L gemessen wurden, nach dem Ausbau noch  $0,23 \pm 0,09$  µg/L. Verringerte Konzentrationen im Oberflächengewässer konnten auch für nahezu alle weiteren

Verbindungen mit hoher Detektionshäufigkeit an dieser Probenahmestelle beobachtet werden.

Die zuvor erwähnten positiven Auswirkungen des Kläranlagenausbaus in Ravensburg werden auch bei der Betrachtung der 17 Leitparameter deutlich (Abb. 183). An den Probenahmestellen PS 3 und PS 6 konnte die Summe der in der Schussen nachweisbaren Leitparameter von jeweils ca. 3,5 µg/L auf 2,0 µg/L bzw. 2,3 µg/L reduziert werden. Direkt unterhalb der Kläranlageneinleitung waren nahezu alle Leitparameter bei jeder Probenahme nachweisbar. Dies gilt nicht für die beiden perfluorierten Verbindungen PFBA und PFOA sowie für Sulfamethoxazol, die konzentrationsmäßig nicht wesentlich zur Gesamtsumme der Leitparameter beitragen. Diese wird vor allem durch die Verbindungen 1*H*-Benzotriazol (Mittelwert (MW) über das Gesamtprojekt 0,29 µg/L), Acesulfam (MW 0,89 µg/L) und Iomeprol (MW 0,58 µg/L) bestimmt.

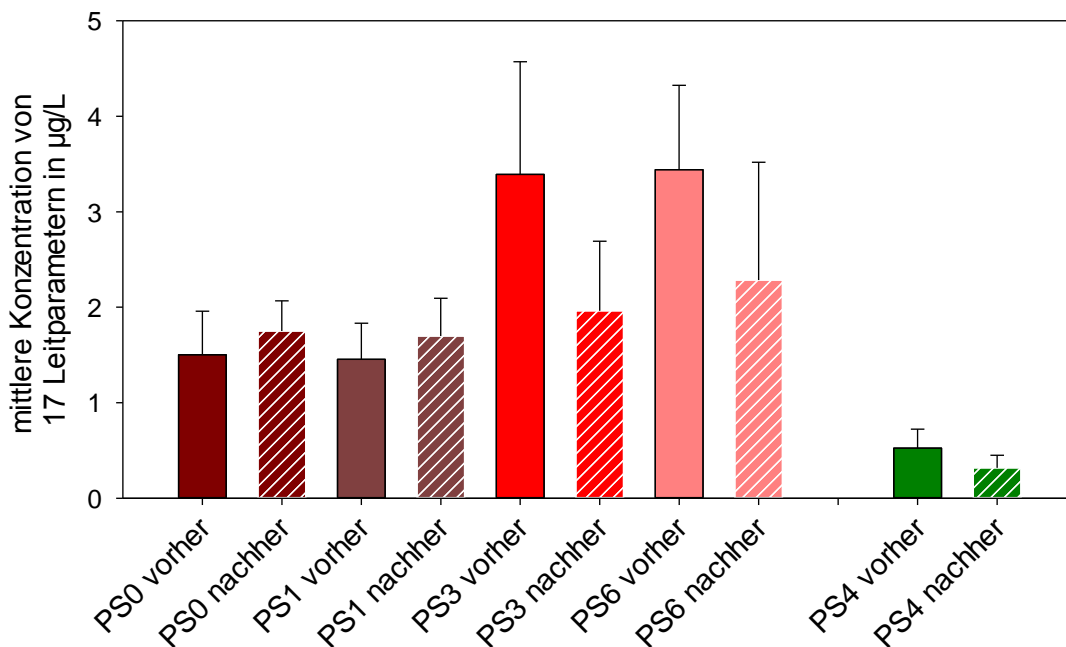


Abb. 183: Mittlere Summenkonzentration der 17 Leitparameter an den Probenahmestellen entlang der Schussen und Argen vor und nach Ausbau der Kläranlage Langwiese in Ravensburg

Genau wie für diese drei Verbindungen wurden für alle weiteren Leitparameter nach dem Kläranlagenausbau geringere Konzentrationen in der Schussen unterhalb der Abwassereinleitung bestimmt. Einzige Ausnahme hiervon war die Verbindung Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat (TCCP), die vor dem Ausbau im Mittel mit  $0,09 \pm 0,03$  µg/L gemessen wurde, danach mit  $0,11 \pm 0,11$  µg/L. Für die Verbindung wurde eine bessere Elimination nach Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe beobachtet ( $34 \% \pm 20 \%$  vorher,  $74 \% \pm 22 \%$  nachher), so dass eigentlich mit einem Konzentrationsrückgang zu rechnen

wäre. Die höheren Konzentrationen sind allerdings in einem erhöhten Konzentrationsniveau bereits oberhalb der Kläranlageneinleitung begründet, da auch an den Probenahmestellen PS 0 und PS 1 höhere Konzentrationen im Zeitraum nach dem Ausbau der Kläranlage in Ravensburg gemessen wurden (z. B. an PS 1 vorher  $0,05 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$ , nachher  $0,11 \pm 0,07 \mu\text{g/L}$ ).

Der Trend eines Konzentrationsrückgangs unterhalb der Kläranlageneinleitung in Ravensburg ist nicht allein auf eine Verdünnung auf Grund eines generell erhöhten Abflusses zurückzuführen, da an den Probenahmestellen PS 0 und PS 1 sogar ein leicht gegenläufiger Trend zu beobachten war (Abb. 184). Grundsätzlich wurde bei den Probenahmen sowohl an Kläranlagen wie auch an Schussen und Argen darauf geachtet, Extremereignisse, wie Hochwasser nach Starkregenereignissen, nicht zu erfassen. Insbesondere kleine Fließgewässer wie die Schussen zeigen stark schwankende Abflusswerte. Die Abweichung zum mittleren Abfluss betrug während der Projektlaufzeit im Extremfall nahezu Faktor 10.

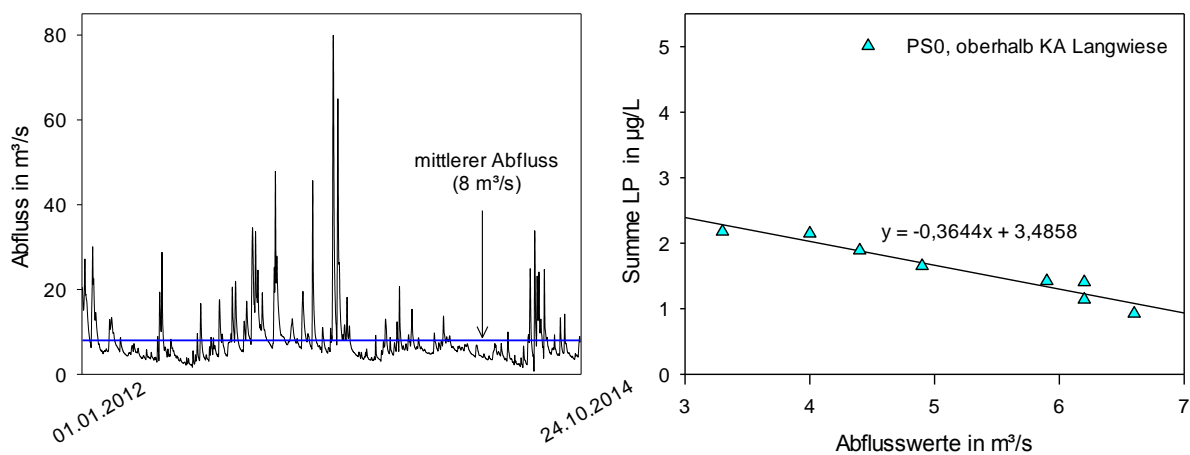


Abb. 184: Links: Abfluss der Schussen bei Ravensburg zwischen 01.01.2012 und 24.10.2014. Rechts: Summe der analysierten Leitparameter (PS 0) in Abhängigkeit vom Abfluss

Die Abflusswerte wurden nicht an jeder Probenahmestelle ermittelt, stehen aber für den gesamten Projektzeitraum durch die offizielle Messstelle Ravensburg/Schussen der Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz Baden-Württemberg (LUBW 2014) zur Verfügung, die sich ca. 25 km oberhalb der Schussenmündung befindet. Trägt man die Summe der gemessenen Leitparameter an Probenahmestelle PS 0 (oberhalb RÜB und Kläranlageneinleitung) gegen die Abflusswerte der Schussen an den jeweiligen Probenahmetagen auf, korrelieren diese negativ sehr gut miteinander ( $R^2 = 0,93$ ) und



bestätigen den relativ konstanten Eintrag der ausgewählten Leitparameter an den Tagen der Probenahme.

Wendet man das gleiche Verfahren für die Probenahmestellen PS 1 (oberhalb der Kläranlage Langwiese) und PS 3 (unterhalb der Kläranlage Langwiese) an, wird der positive Effekt des Kläranlagenausbaus nochmals deutlich. An Probenahmestelle PS 1 wurde stets eine höhere Summenkonzentration für die 17 Leitparameter ermittelt. Die beiden Trendlinien unterscheiden sich aber vor dem Ausbau auch in ihrer Steilheit deutlich. Die Regressionsgerade für PS 1 ähnelt sehr der an Probenahmestelle PS 0, wohingegen die für PS 3 ermittelte (unterhalb der Kläranlage) eine deutlich höhere Geradensteigung aufweist (Abb. 185, links). Nach dem Kläranlagenausbau stehen zwar nur Werte für drei Probenahmen zur Verfügung, diese zeigen aber, wie schon weiter oben beschrieben, ein niedrigeres Konzentrationsniveau, was sich auch in der Abhängigkeit vom Abfluss bestätigt. Während die Regressionsgerade an Probenahmestelle PS 1 nach dem Ausbau der Kläranlage nahezu identisch mit der vor dem Ausbau verläuft, gleicht sich die für Probenahmestelle PS 3 ermittelte deutlich denen für PS 0 und PS 1 an. Dies verdeutlicht, dass sich die Belastung mit organischen Spurenstoffen nach dem Kläranlagenausbau einem Niveau annähert, wie es oberhalb der Einleitung durch die Kläranlage in der Schussen vorzufinden ist.

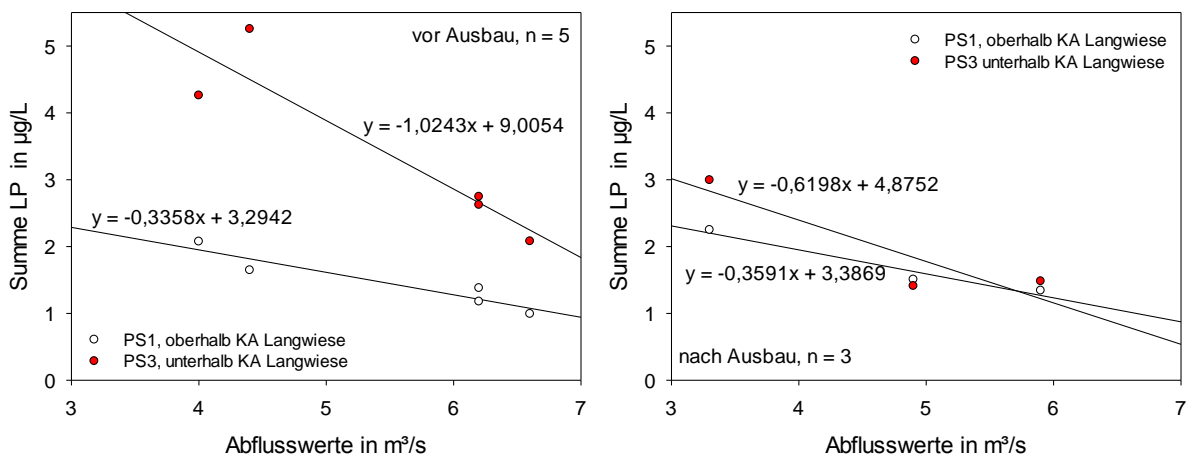


Abb. 185: Summe der analysierten Leitparameter an den Probenahmestellen PS 1 und PS 3 in Abhängigkeit vom Abfluss der Schussen vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese (links) und danach (rechts)

Durch den Konzentrationsrückgang der meisten Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage Langwiese nach dem Ausbau erfolgt eine z. T. deutliche Reduzierung der absoluten Stoffeinträge in die Schussen. Diese kann unter Berücksichtigung einer jährlichen behandelten Abwassermenge von ca. 43.000 m<sup>3</sup> und den mittleren Konzentrationen vor und

nach Ausbau grob abgeschätzt werden. Die absolut entnommene Menge ist dabei von dem Konzentrationsniveau des jeweiligen Spurenstoffs sowie dessen Entfernbarekeit durch die eingesetzte Pulveraktivkohle abhängig. Obwohl beispielsweise die Ablaufkonzentrationen von Diclofenac und Carbamazepin deutlich unter der von 4-Acetaminoantipyridin (4-AAA) liegen, wird auf Grund ihrer deutlich besseren Adsorption an Aktivkohle eine vergleichbare Menge entfernt (Abb. 186). Für Arzneimittel und Metabolite mit 100%igem Nachweis im Kläranlagenablauf kann somit allein an der Kläranlage Langwiese eine Reduzierung des Eintrags in die Schussen zwischen 0,8 kg/a und 14 kg/a erreicht werden (Abb. 186).

Für die beiden Metamizol-Metabolite 4-AAA und 4-Formylaminoantipyridin (4-FAA) wurde von Schweizer Wissenschaftlern eine bessere Entfernung durch den Einsatz von Ozon (> 97 % bei 1,08 g Ozon / g DOC bzw. 99 % bei 0,6 g Ozon / g DOC) bei der weitergehenden Abwasserbehandlung berichtet (Hollender et al. 2009; Kovalova et al. 2013). Durch Aktivkohle (23 ± 7 mg/L PAC bei DOC 7,0 ± 0,7 mg/L) konnte in einem Permeat eines Membranbioreaktors eine Elimination von 73 % festgestellt werden (Kovalova et al. 2013). Dies befindet sich in Übereinstimmung mit den Ergebnissen dieses Projekts.

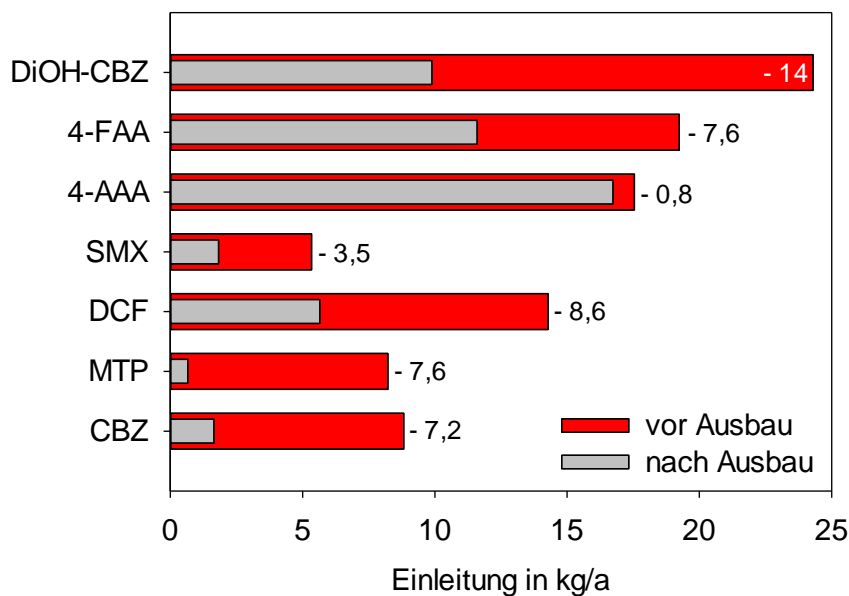


Abb. 186: Extrapolierter Eintrag von pharmazeutischen Wirkstoffen und Metaboliten in die Schussen durch die Kläranlage Ravensburg vor und nach Ausbau mit einer Pulveraktivkohlestufe. Zahlen rechts der Balken geben die Differenz an. 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin (DiOH-CBZ), 4-Formylaminoantipyridin (4-FAA), 4-Acetaminoantipyridin (4-AAA), Sulfamethoxazol (SMX) Diclofenac (DCF), Metoprolol (MTP), Carbamazepin (CBZ)

An der Kläranlage Langwiese wurde nach dem Ausbau nur eine leicht verbesserte Elimination für 4-AAA von 83 % auf 86 % und für 4-FAA von 48 % auf 64 % festgestellt. Dagegen waren beide Metabolite in der Pilotanlage in Eriskirch durch Ozon mit > 97 %

eliminiert worden. Nach Implementierung der Pulveraktivkohlestufe konnten für die Verbindungen Sulfamethoxazol, Diclofenac, Metoprolol und Carbamazepin Eliminationen über den gesamten Abwasserreinigungsprozess von 66 %, 81 %, 96 % und 85 % erzielt werden. Diese Werte befinden sich in Übereinstimmung mit Beobachtungen von Boehler et al. (2012), die ebenfalls eine deutlich bessere Elimination von Carbamazepin und Diclofenac als für Sulfamethoxazol beobachteten.

Für einige Industriechemikalien wie Korrosionsinhibitoren oder Flammschutzmittel sowie für den künstlichen Süßstoff Acesulfam liegen die Konzentrationen in Kläranlagenabläufen oft über denen von pharmazeutischen Wirkstoffen. Folglich ist das Potential zur Reduzierung der absoluten Einträge in den Vorfluter deutlich höher, wenn die Verbindungen gut mit Aktivkohle entfernbar sind. Wie in Abb. 187 zu erkennen ist, kann für 1*H*-Benzotriazol, seine zwei Metabolite sowie für Acesulfam eine Reduzierung im zweistelligen kg-Bereich pro Jahr allein für die Kläranlage in Ravensburg erreicht werden. Dabei ist 1*H*-Benzotriazol einer der untersuchten Spurenstoffe, für den ein deutlicher Vorteil des Einsatzes von Aktivkohle gegenüber einer Ozonung festgestellt werden konnte.

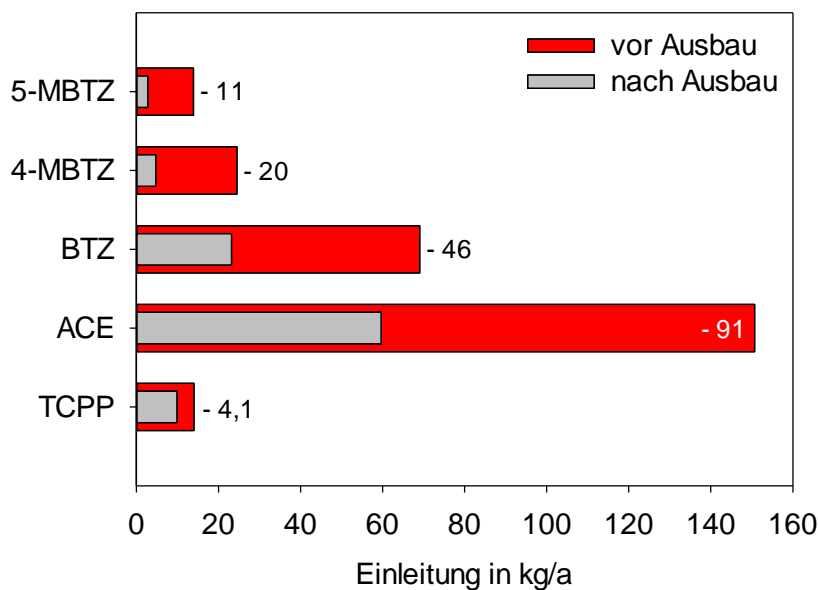


Abb. 187: Extrapolierter Eintrag ausgewählter Spurenstoffe in die Schusson durch die Kläranlage Ravensburg vor und nach Ausbau mit einer Pulveraktivkohlestufe. Zahlen rechts der Balken geben die Differenz an. 4- bzw. 5-Methylbenzotriazol (4- bzw. 5-MTBZ), 1*H*-Benzotriazol (BTZ), Acesulfam (ACE), Tris(2-chlorpropyl)phosphat (TCPP)

Ein direkter Vergleich beider Technologien war zwar in der Kläranlage Langwiese nicht möglich, wird aber durch die Untersuchungen an der Pilotanlage in Eriskirch bestätigt. Nach der Belebtschlammbehandlung und Flockungsfiltration war für 1*H*-Benzotriazol eine Entfernung von 71 % ± 11 % zu verzeichnen, die durch eine Ozonung mit anschließender

Sandfiltration nicht verbessert werden konnte ( $70 \% \pm 12 \%$ ). Ein der Sandfiltration nachgeschalteter Aktivkohlefilter führte jedoch über eine Laufzeit von neun Monaten zu einer mittleren Elimination von  $92 \% \pm 9 \%$ . Diese Ergebnisse werden durch Untersuchungen von Altmann et al. (2014) bestätigt, die ebenfalls eine deutlich bessere Elimination für 1H-Benzotriazol beim Einsatz von Pulveraktivkohle als bei der Ozonung von Abwasserproben beschrieben.

### **Sedimente**

Die Schwermetallbelastung in deutschen Fließgewässern ist z. T. auf Einleitungen kommunaler Kläranlagen zurückzuführen, Belastungen sind jedoch hauptsächlich in diffusen Einträgen begründet (Arle et al. 2013). Diese stammen von Abflüssen von Verkehrsflächen, aus der Landwirtschaft (Düngemittel) sowie regional auch aus dem Bergbau (IKSR 2009a). Im Einzugsgebiet der Schussen wird auf ca. 30 % der Fläche Ackerbau betrieben, und im 19. Jahrhundert spielten Textilverarbeitung und Papierindustrie eine große Rolle. Beide Industriezweige haben jedoch mittlerweile sehr stark an Bedeutung verloren (LUBW 2010). Durch den Bau und die Modernisierung von Kläranlagen (Anschlussquote im Schussen-Einzugsgebiet 99 %) sowie den Rückgang der industriellen Einträge konnten die Schwermetallbelastungen in den letzten Jahrzehnten deutlich reduziert werden. Die Belastungen in Sedimenten der Schussen sind als eher gering einzustufen. Quecksilber konnte in keiner der untersuchten Sedimentproben über der Bestimmungsgrenze von 0,1 mg/kg nachgewiesen werden. Auch für Cadmium und Kupfer war dies für ca. 50 % der analysierten Proben der Fall, die restlichen Werte lagen nur knapp oberhalb der Bestimmungsgrenzen (Cd 0,1 mg/kg; Cu 10 mg/kg), ohne dass ein Belastungsschwerpunkt an einer der Probenahmestellen zu erkennen war. Die höchsten Schwermetall-Konzentrationen wurden an allen Probenahmestellen an Schussen und Argen für Zink gemessen (Abb. 188), mit einer maximalen mittleren Konzentration von  $57 \pm 23$  mg/kg an der Schussenmündung (PS 6). Auch Befunde für andere Schwermetalle waren an dieser Probenahmestelle am höchsten, wohingegen sich die Werte der Argen (PS 4) kaum von denen der Schussen-Probenahmestellen unterschieden.

In Abb. 188 sind jeweils die Mittelwerte für Schwermetalle über den gesamten Probenahmezeitraum dargestellt, da keine entscheidenden Veränderungen nach dem Ausbau der Kläranlage in Ravensburg festgestellt wurden. Die Mittelwerte für Nickel lagen über alle Probenahmestellen hinweg in einem engen Bereich zwischen 7,6 mg/kg und 12 mg/kg. Somit konnten die orientierenden Messungen für alle fünf im Vorprojekt SchussenAktiv gemessenen Schwermetalle (Hg, Cd, Cu, Zn, Ni) bestätigt werden. Die Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (IKSR) stufte gemäß ihres Aktionsprogramms Rhein

2000 die Schwermetalle Blei, Cadmium, Kupfer, Nickel, Quecksilber und Zink als relevant ein.

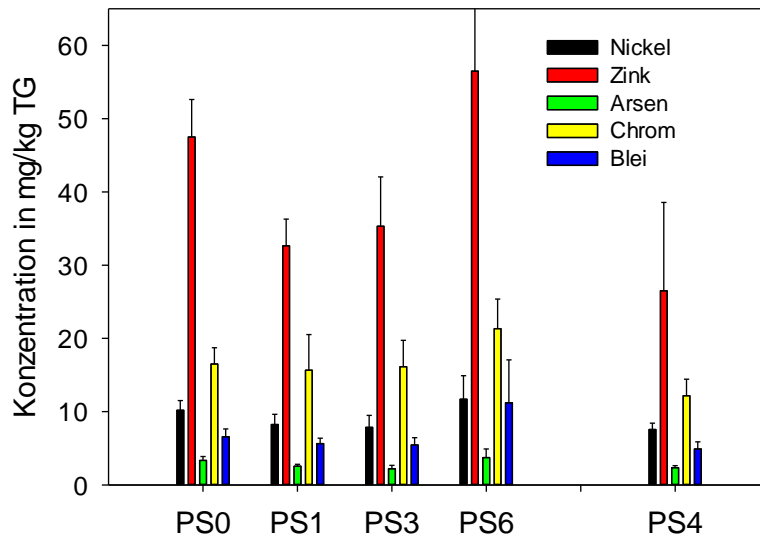


Abb. 188: Mittelwerte mit Standardabweichung für fünf Schwermetalle, die regelmäßig in Sedimenten der Schussen und Argen nachgewiesen werden konnten (n = 6)

Vergleicht man die in den Schussen- und Argen-Sedimenten gemessenen Werte mit den IKSR-Zielvorgaben, liegen diese unter den niedrigsten Zielvorgaben der 5-stufigen Klassifizierung (IKSR 2009b). Auch beim Vergleich der Konzentrationen in Sedimenten der Schussen mit Literaturwerten wird die relativ geringe Belastung deutlich. Allerdings ist hierbei anzumerken, dass viele Untersuchungen in der Vergangenheit in sehr urban und industriell geprägten Gebieten im Einflussbereich früherer Bergbauaktivitäten durchgeführt wurden (Möller und Einax 2013; Wetzel et al. 2013a). Es wurden aber auch in Sedimenten der Lahn, deren Einzugsgebiet landwirtschaftlich geprägt ist, deutlich höhere Konzentrationen als in Schussen und Argen detektiert (Martin 2012).

Neben Schwermetallen wurden insbesondere polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in den untersuchten Sedimentproben nachgewiesen. Diese entstehen bei Verbrennungsprozessen und können durch atmosphärische Deposition, aber auch durch industrielle Punktquellen in die Gewässer eingetragen werden (Calmano 2001). Bei der Sedimentanalytik wurden ausschließlich die höhermolekularen PAK inklusive der fünf Verbindungen, die in der deutschen Trinkwasserverordnung geregelt sind (Benzo(b)fluoranthen, Benzo(k)fluoranthen, Benzo(a)pyren, Benzo(ghi)perylen und Indeno(1,2,3-cd)pyren), betrachtet. Ähnlich wie für Schwermetalle bestimmt war auch für die PAK keine deutliche Veränderung nach dem Ausbau der Kläranlage festzustellen, so dass auch in Abb. 189 die Mittelwerte aller Probenahmen dargestellt sind. Die häufigsten

Positivbefunde waren für Fluoranthen und Pyren zu verzeichnen, für die mit  $170 \pm 57 \mu\text{g}/\text{kg}$  sowie  $120 \pm 39 \mu\text{g}/\text{kg}$  im Mittel auch die höchsten Konzentrationen gemessen wurden.

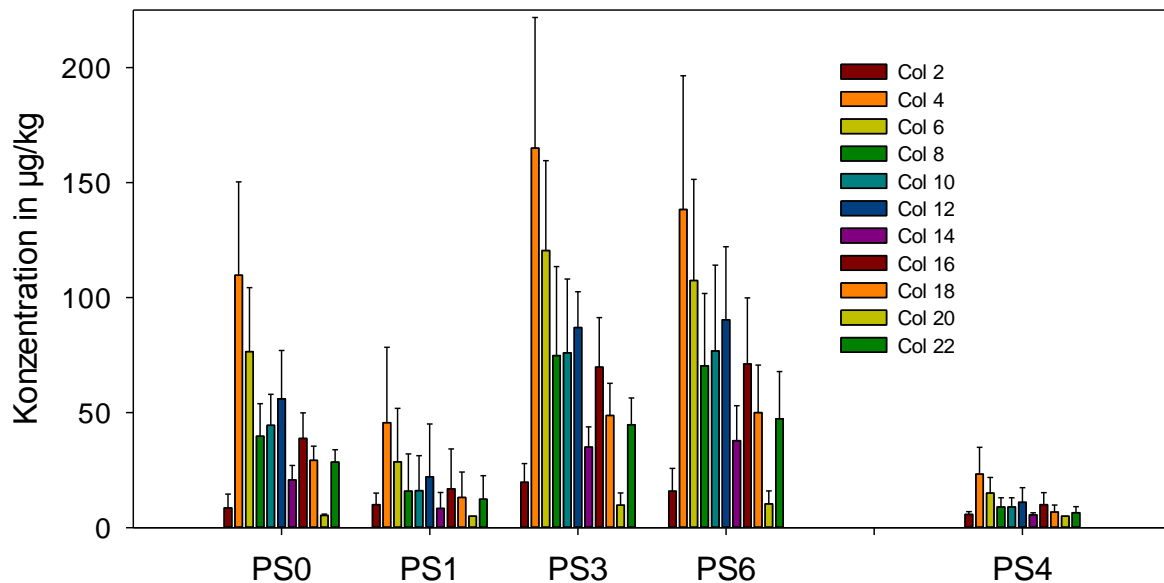


Abb. 189: Mittelwerte mit Standardabweichung für polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe in Sedimenten der Schussen und Argen

Fluoranthen und das als stark kanzerogen eingestufte Benzo(a)pyren werden oftmals als Leitparameter für eine PAK-Belastung herangezogen (HLUG 2009). Benzo(a)pyren wurde ebenfalls bei allen Probenahmen an den Probenahmestellen PS 3 und PS 6 in einer Konzentration über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. Die Mittelwerte lagen jeweils bei ca.  $70 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Die Muster der PAK-Befunde an den einzelnen Probenahmestellen ähnelten sich sehr stark. Die höchsten Konzentrationen an der Schussen wurden tendenziell an den Probenahmestellen unterhalb der Kläranlage Langwiese (PS 3) und an der Schussenmündung (PS 6) gemessen. Die Referenzstelle an der Argen (PS 4) war deutlich weniger belastet. Insgesamt weisen aber sämtliche Werte auf eine geringe Belastung hin. In Flüssen herrschen auf Grund der Abflussdynamik und unterschiedlicher Sedimentationsbedingungen zeitlich und örtlich sehr heterogene Verhältnisse für die Sedimentbildung. Dies erschwert einen Vergleich mit anderen Messwerten. Anfang der 1990er Jahre wurde Benzo(a)pyren in hessischen Sedimenten in Konzentrationen zwischen  $0,04 - 0,6 \text{ mg}/\text{kg}$  bestimmt (HLUG 2009) und damit mit einem insgesamt höheren Niveau als in Schussen und Argen. Hellmann (2003) verdeutlichte in einem Übersichtsartikel am Beispiel des Leitparameters Fluoranthen, dass überregional eine Hintergrundbelastung von  $10$  bis  $50 \mu\text{g}/\text{kg}$  Fluoranthen in aquatischen und terrestrischen Sedimenten bis ins 19. Jahrhundert hinein vorlag. Anschließend war ein starker Konzentrationsanstieg mit einem Konzentrationsmaximum in den Jahren zwischen 1940 und 1965 zu verzeichnen. In den meisten Regionen folgte

daraufhin ein mehr oder weniger deutlicher Rückgang der Belastung: In stark kontaminierten Sedimenten aus Stauhaltungen des Neckars waren in zwei Sedimentprofilen für Fluoranthren Konzentrationsrückgänge von 9,7 auf 3,1 mg/kg bzw. von 20,1 auf 2,5 mg/kg zwischen 1942 und 1991 zu verzeichnen. Ähnliches ist auch für die Sedimente der Schussen und Argen anzunehmen, denn Ende der 1970er Jahre wurde von einer deutlich erhöhten Belastung an PAK in Sedimentkernen des Bodensees, insbesondere an der Schussen- und Argen-Mündung berichtet. Die Konzentrationen an Fluoranthren und Benzo(a)pyren betragen damals in den obersten 2 cm ca. 400 µg/kg bzw. 90 µg/kg. Bereits zu diesem Zeitpunkt konnte jedoch ein deutlicher Rückgang der Belastung von Sedimenten verzeichnet werden, die den 1960er Jahren zugeordnet werden konnten.

Positivbefunde für weitere untersuchte Stoffgruppen wie poly- und perfluorierte Verbindungen, polybromierte Diphenylether (PBDE), chlorierte Insektizide, polychlorierte Biphenyle (PCB) oder Arzneimittelwirkstoffe waren in den untersuchten Sedimentproben nur sehr vereinzelt über der Bestimmungsgrenze nachzuweisen.

## **Biota**

Die Akkumulation von organischen Spurenstoffen in Fischen wurde durch die gezielte Exposition von Regenbogenforellen in den Testsystemen „Langwiese“ und „Eriskirch“ untersucht. An der Kläranlage Langwiese wurden die Fische oberhalb und unterhalb der Einleitung des gereinigten Abwassers direkt in der Schussen exponiert. Darüber hinaus wurden auch Gewebeproben untersucht, die von Freilandfängen stammten. Substanzklassen mit einem vergleichsweise hohen Bioakkumulationspotential wie PCB oder PBDE sind häufig untersuchte Parameter zur Indikation der Belastung von aquatischen Organismen. Von den sechs untersuchten PCB waren PCB 138 und PCB 153 am häufigsten in Biotaprobe nachzuweisen. Die Mehrzahl der Messwerte lag im zweistelligen µg/kg-Bereich mit Maximalwerten von 170 µg/kg für PCB 138 in einem Gonaden-Probenpool von Döbeln und PCB 153 mit 130 µg/kg in einem Leber-Probenpool ebenfalls von Döbeln. Die Fische entstammten jeweils Freilandfängen von der Probenahmestelle PS 3 unterhalb der Kläranlageneinleitung in Ravensburg. Insgesamt waren keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit von der Entnahmestelle festzustellen. Auch Proben von Fischen, die ober- und unterhalb der Kläranlageneinleitung direkt in der Schussen gehalten wurden, unterschieden sich nicht. Gleiches gilt für die PCB-Konzentrationen in Fischen, die entweder im Ablauf des Flockungsfilters oder im Ablauf der Versuchsanlage in Eriskirch exponiert waren.

Aus der Gruppe der PBDEs wurden elf Kongenere (BDE-28, BDE-47, BDE-66, BDE-85, BDE-99, BDE-100, BDE-138, BDE-153, BDE-154, BDE-185 und BDE-209) untersucht. Neben den tetra- und pentabromierten BDE-47, BDE-99 und BDE-100 wurde das

decabromierte BDE-209 am häufigsten in den untersuchten Biotaprobten nachgewiesen. BDE-47 wies eine fast 100 %ige Detektionshäufigkeit auf und wurde mit einem Maximalwert von 18 µg/kg in einem Probenpool von Schneidern (Gesamtfisch) detektiert, der unterhalb der Kläranlageneinleitung (PS 3) entnommen wurde. Die Gesamtsumme der elf analysierten PBDE lag meist im einstelligen µg/kg-Bereich. Die höchste Summen-Konzentration von 28 µg/kg wurde in einer gepoolten Gonadenprobe gemessen, die Döbeln entnommen wurde, die ebenfalls an der Probenahmestelle PS 3 gefangen wurden. Der Anteil des BDE-47 lag in diesem Fall bei 60 %. Ähnliche Beobachtungen wurden in Forellen aus den Großen Seen in Nordamerika gemacht, bei denen ebenfalls die drei Kongenere BDE-47, BDE-99 und BDE-100 am häufigsten nachgewiesen wurden mit einer durchschnittlichen Verteilung von 57 %, 15 % und 8 % an der Gesamtbelastung mit PBDE (Luross et al. 2002).

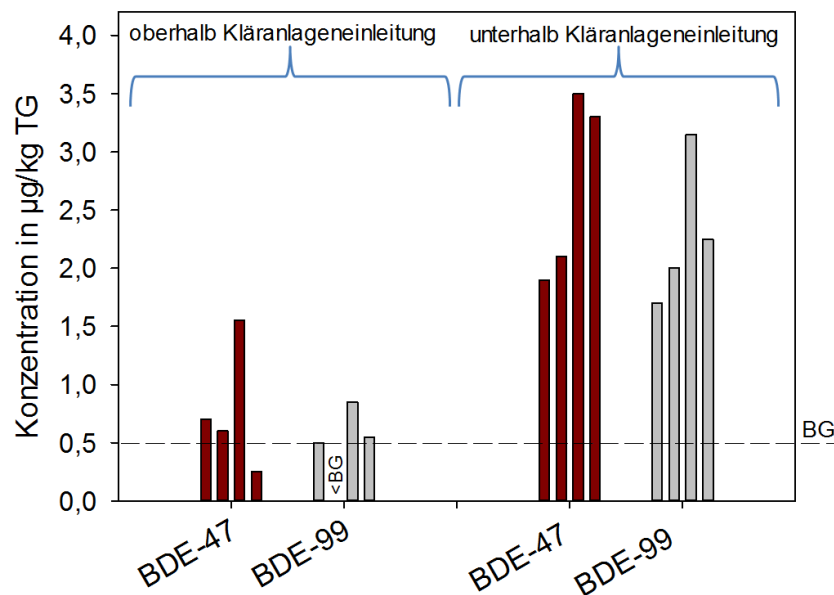


Abb. 190: Belastung von Regenbogenforellen, die ober- und unterhalb der Abwassereinleitung durch die Kläranlage Langwiese in der Schussen gehältert wurden, mit BDE-47 und BDE-99. Eine Probe umfasst jeweils einen Pool von 5 Fischen. Der Abwasseranteil bei den unterhalb gehälterten Tieren betrug ca. 50%

Insgesamt konnte an der Schussen kein deutlicher Belastungsschwerpunkt ausgemacht werden. Auffallend war jedoch, dass tendenziell jeweils die höchsten Konzentrationen für BDE-47, BDE-99 und BDE-209 in Proben gemessen wurden, die unmittelbar unterhalb der Kläranlage entnommen wurden (PS 3). In ober- und unterhalb der Kläranlageneinleitung in Käfigen gehälterten Regenbogenforellen konnten unterhalb ebenfalls höhere Werte an BDE-47 und BDE-99 nachgewiesen werden (Abb. 190). Während oberhalb der Einleitung die mittleren Konzentrationen bei  $0,8 \pm 0,6 \mu\text{g/kg TG}$  und  $0,5 \pm 0,3 \mu\text{g/kg TG}$  lagen, betrug sie in Fischen unterhalb  $2,7 \pm 0,8 \mu\text{g/kg}$  und  $2,3 \pm 0,6 \mu\text{g/kg}$  für BDE-47 bzw. BDE-99.



Bei den poly- und perfluorierten Verbindungen konnten Perfluorooctansulfonat (PFOS), Perfluorodecanoat (PFDA), Perfluoroundecanoat (PFUnA) und Perfluorododecanoat (PFDoA) in jeder Biotaprobe, die aus dem Freiland entnommen wurde, nachgewiesen werden (Abb. 191). Alle vier Verbindungen wiesen die höchste mittlere Konzentration in Proben aus der Schussen an der Probenahmestelle PS 3 auf, die geringsten in Proben aus der Argen (PS 4). Die höchsten Konzentrationen wurden an allen Probenahmestellen für PFOS ermittelt und die Verbindung konnte in einigen Probenpools in Konzentrationen von mehreren hundert  $\mu\text{g}/\text{kg}$  nachgewiesen werden (alle PS 3). In einem Leber-Pool sowie einem Gonaden-Pool von Döbeln wurden außergewöhnlich hohe PFOS-Werte von jeweils  $> 900 \mu\text{g}/\text{kg}$  gemessen. Die Belastung von Fischen aus Schussen und Argen mit PFOS liegt jedoch durchaus auf einem Niveau, wie es schon von anderen deutschen Fließgewässern berichtet wurde. Becker et al. (2009) wiesen in Leber-, Nieren-, Gonaden- und Herzpools von Döbeln aus dem Roten Main zwischen  $23 \mu\text{g}/\text{kg}$  und  $247 \mu\text{g}/\text{kg}$  bezogen auf das Frischgewicht nach.

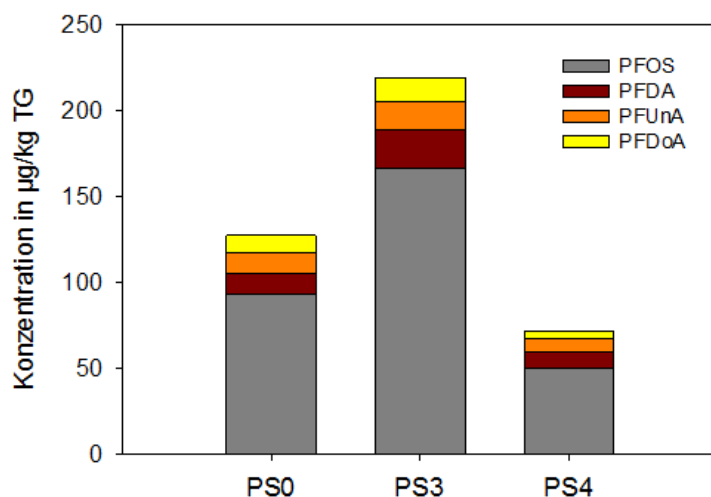


Abb. 191: Mittlere Konzentrationen von PFOS, PFDA, PFUnA und PFDoA in gepoolten Schneider- und Döbel-Proben (Gesamtfisch), die oberhalb (PS 0) und unterhalb (PS 3) der Kläranlage Ravensburg sowie an der Argen (PS 4) entnommen wurden. PS 0  $n = 5$ , PS 3  $n = 7$ , PS 4  $n = 8$

Die Konzentrationen in Leberproben lagen dabei deutlich über denen in den Gonaden nachgewiesenen, was auch im SchussenAktivplus-Projekt tendenziell so bestätigt wurde. In Organpools des Gründlings, ebenfalls aus dem Roten Main, wurden im Mittel  $295 \mu\text{g}/\text{kg}$  bestimmt (Becker et al. 2009). In der gleichen Studie wurde in beiden Fischarten auch Perfluorooctanoat (PFOA) bestimmt. Genau wie in Fischen aus Schussen und Argen lagen die Werte oftmals unterhalb der analytischen Bestimmungsgrenze und maximal im einstelligen  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -Bereich. In Flussbarben, Brassen und Döbeln aus der Rhône wurde PFOS in 32 Fischpools ebenfalls in einem ähnlichen Konzentrationsbereich nachgewiesen ( $16 - 309 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Miège et al. 2012).

Pharmazeutische Wirkstoffe konnten nur selten in den untersuchten Biotaprobren nachgewiesen werden. Eine Ausnahme ist das nicht-steroidale Schmerzmittel Diclofenac. Diclofenac wurde vor dem Kläranlagenausbau in Ravensburg im Mittel mit  $910 \pm 160$  ng/L im Ablauf nachgewiesen (Abb. 192), was einem Niveau entspricht, wie es auch schon von anderen Kläranlagen in Deutschland berichtet wurde (Letzel et al. 2009).

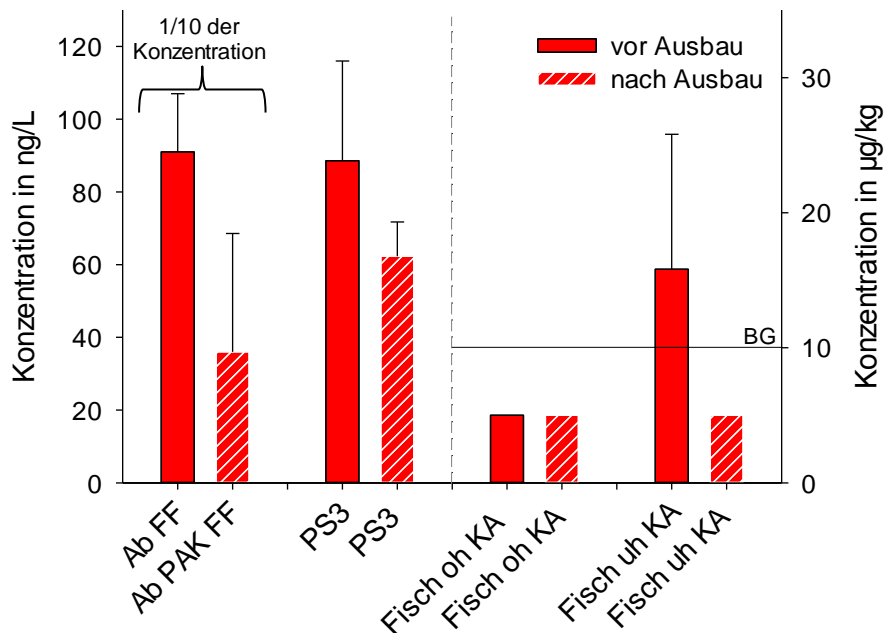


Abb. 192: Mittlere Konzentrationen von Diclofenac im Ablauf der Kläranlage Langwiese unterhalb der Abwassereinleitung in die Schussen (PS 3) vor und nach dem Ausbau mit einer Pulveraktivkohlestufe (links). Diclofenac in Proben ober- und unterhalb der Kläranlage exponierter Fische ebenfalls vor und nach dem Kläranlagenausbau. Werte < BG wurde mit der Hälfte der BG in die Berechnung einbezogen (rechts)

Die Ertüchtigung der Kläranlage führte zu einer Reduzierung der mittleren Ablaufkonzentrationen auf  $360 \pm 330$  ng/L. Entsprechend waren nach dem Ausbau auch unterhalb der Kläranlagen-einleitung geringere Diclofenac-Konzentrationen in der Schussen nachzuweisen. Sowohl vor als auch nach dem Ausbau der Kläranlage wurden Regenbogenforellen ( $n = 20$ ) in Käfigen oberhalb und unterhalb der Abwassereinleitung in Käfigen exponiert. Die unterhalb gehälterten Fische waren einem Wasser ausgesetzt, das ca. zur Hälfte aus gereinigtem Abwasser bestand. Aus den gefriergetrockneten Fischen wurden vor der Analyse vier Pools aus je fünf Fischen gebildet. In den oberhalb der Kläranlage gehälterten Forellen war vor dem Kläranlagenausbau in keiner der analysierten Proben Diclofenac in einer Konzentration über der Bestimmungsgrenze von  $10 \mu\text{g/kg}$  nachzuweisen, während die Verbindung in den Fischen, die direkt dem Kläranlagenablauf ausgesetzt wurden, im Mittel mit  $16 \pm 10 \mu\text{g/kg}$  bestimmt wurde. Nach dem Ausbau war

Diclofenac in keinem der Pools mehr nachweisbar. In Fischen aus abwasserbeeinflussten spanischen Fließgewässern wurde Diclofenac mit 9 µg/kg bzw. 4 µg/kg in Barben und Barschen (Gesamtfisch) nachgewiesen. Auch in anderen Freilandfischen konnte ein Nachweis für Diclofenac, beispielsweise in Leber oder Galle, schon erbracht werden (Brozinski et al. 2013; Liu et al. 2015). Vor dem Hintergrund, dass für die Verbindung bereits in einigen Studien negative Effekte auf im Wasser lebende Organismen beobachtet wurden (z. B. zytologische Veränderungen in Leber, Nieren und Kiemen (Hoeger et al. 2005; Triebkorn et al. 2004), oxidativer Stress und Verringerung des Testosteron-Levels (Guiloski et al. 2015)), ist deren deutlich verbesserte Elimination durch die Ertüchtigung der Kläranlage als positiver Effekt auf die aquatische Umwelt zu werten.

Die oben beschriebenen Ergebnisse werden durch Untersuchungen an der Kläranlage Eriskirch bestätigt. Dort wurden Regenbogenforellen direkt im regulären Kläranlagenablauf nach dem Flockungsfilter sowie im Ablauf der Versuchsanlage (kombinierte Behandlung des Abwassers mit Ozon, Aktivkohle- und Sandfiltration) exponiert. Auch in Eriskirch konnte Diclofenac nur in Fischen aus dem konventionellen Ablauf bestimmt werden ( $19 \pm 4$  µg/kg), während in Tieren im Ablauf der Versuchsanlage kein Nachweis gelang. Dies wird durch die Tatsache plausibilisiert, dass Diclofenac nach dem Flockungsfilter noch im Mittel mit  $1.400 \pm 440$  µg/L nachgewiesen wurde, während der Einsatz von Ozon und/oder Aktivkohle in der Pilotanlage zu einer nahezu vollständigen Entfernung der Verbindung führte.

## **Diskussion**

Durch das intensive Messprogramm an Schussen und Argen wurde deutlich, dass Einzelproben oftmals nicht die komplette Palette an organischen Spurenstoffen abbilden, die tatsächlich durch Kläranlagen in die Vorfluter eingetragen werden. Wie für mit Abwasser beeinflusste Fließgewässer bekannt, ist auch an der Schussen ein zunehmendes Konzentrationsniveau für abwasserbürtige Spurenstoffen zur Mündung hin zu beobachten. Die durch den Einsatz von Pulveraktivkohle reduzierten Spurenstoffkonzentrationen im Ablauf der Kläranlage Ravensburg konnten für die meisten Spurenstoffe auch in der Schussen unterhalb der Einleitung nachverfolgt werden. Auf Grundlage der ermittelten Konzentrationen im Ablauf und der durchschnittlichen Abwassermenge der Kläranlage Langwiese kann der absolute Eintrag einzelner Spurenstoffe im ein- bis zweistelligen kg-Bereich pro Jahr reduziert werden. Die absolut entnommene Menge ist dabei von der Entfernbarkeit mittels Pulveraktivkohle und dem Konzentrationsniveau des jeweiligen Spurenstoffs abhängig. Die Belastung der Sedimente von Schussen (und Argen) mit apolaren Verbindungen ist als eher gering einzustufen, wobei für manche Stoffgruppen tendenziell eine höhere Sedimentbelastung unterhalb der Kläranlageneinleitung in

Ravensburg bzw. an der Schussenmündung festzustellen war. Ein Nachweis von bestimmten Spurenstoffen in Biotaprobenn gelang insbesondere in Fischen, die gezielt im Kläranlagenablauf exponiert worden waren. In Freilandfängen konnten insbesondere poly- und perfluorierte Verbindungen in Biotaprobenn nachgewiesen werden. Auch hierbei wurden die höchsten Konzentrationen in Fischen bestimmt, die direkt unterhalb der Kläranlage Langwiese entnommen wurden.

Der großtechnische Einsatz von Pulveraktivkohle zur weiteren Qualitätsverbesserung von Kläranlagenabläufen führt in jedem Fall zu einem deutlich verminderten Eintrag von organischen Spurenstoffen in Oberflächengewässer. Dies entspricht einem vorsorgenden Gewässerschutz, in dem naturfremde Stoffe in Ökosystemen und Ressourcen zur Trinkwassergewinnung reduziert werden.

## 4.13 Indikatorkeime (Auswirkungen auf das Gewässer)

*Lüddeke, Güde, Hetzenauer (LUBW, Institut für Seenforschung Langenargen)*

### 4.13.1 Mikrobiologische Situation an Schussen und Argen – Wasser und Sediment

Im Wasserkörper der Schussen lagen über den gesamten Probenahmezeitraum hinweg die Mediane für *E. coli*, Enterokokken und GKZ innerhalb einer log-Stufe, d. h. bei *E. coli* zwischen  $10^2$  -  $10^3$  KBE /100 mL, bei den Enterokokken bei etwa  $10^2$  KBE /100 mL, bei der GKZ etwa  $10^6$  KBE /100 mL. Die Schwankungen an den jeweiligen Probestellen reichten über einen weit höheren Bereich von bis zu 2 log-Stufen. Im Wasserkörper der Argen lagen im Median etwas geringere bakterielle Konzentrationen als in der Schussen vor (Abb. 193, blau hinterlegt).

Im Sediment traten, bedingt durch die schwierige Matrix, bei der Bestimmung auf Selektivmedien größere Schwankungen auf. Dennoch lagen die Mediane für den jeweiligen Keimparameter an den Schussenprobestellen innerhalb einer halben log-Stufe. Wie beim Wasserkörper lagen auch im Sediment der Argen etwas geringere Konzentrationen vor (Abb. 193, braun hinterlegt). Insgesamt wies das Sediment gegenüber dem Wasser etwa 100fach höhere Keimkonzentrationen auf (unter der vereinfachenden Annahme, dass 1 g Feuchtsediment etwa 1 ml Wasser entsprechen).

Wie in Abb. 193 dargestellt, konnte keine besonders auffällig belastete Probestelle identifiziert werden. Wird ein ortsspezifisches Belastungsmuster über alle Probenahmen hinweg erstellt (Quotient des Medians einer bestimmten Probestelle durch den Median aller Probestellen; ist der Wert  $< 1$ , liegt eine unterdurchschnittliche Belastung vor; ist der Wert  $>$

1, liegt eine überdurchschnittliche Belastung vor), ist die PS 4 an der Argen deutlich unterdurchschnittlich belastet (alle Parameter), während die PS 0 (oh RÜB Mariatal und KA Langwiese) und PS 1 (uh RÜB Mariatal, oh KA Langwiese) bei *E. coli* überdurchschnittlich belastet sind. Die Belastung mit Enterokokken ist an allen Schussen-Probestellen auf einem ähnlich hohen Niveau.

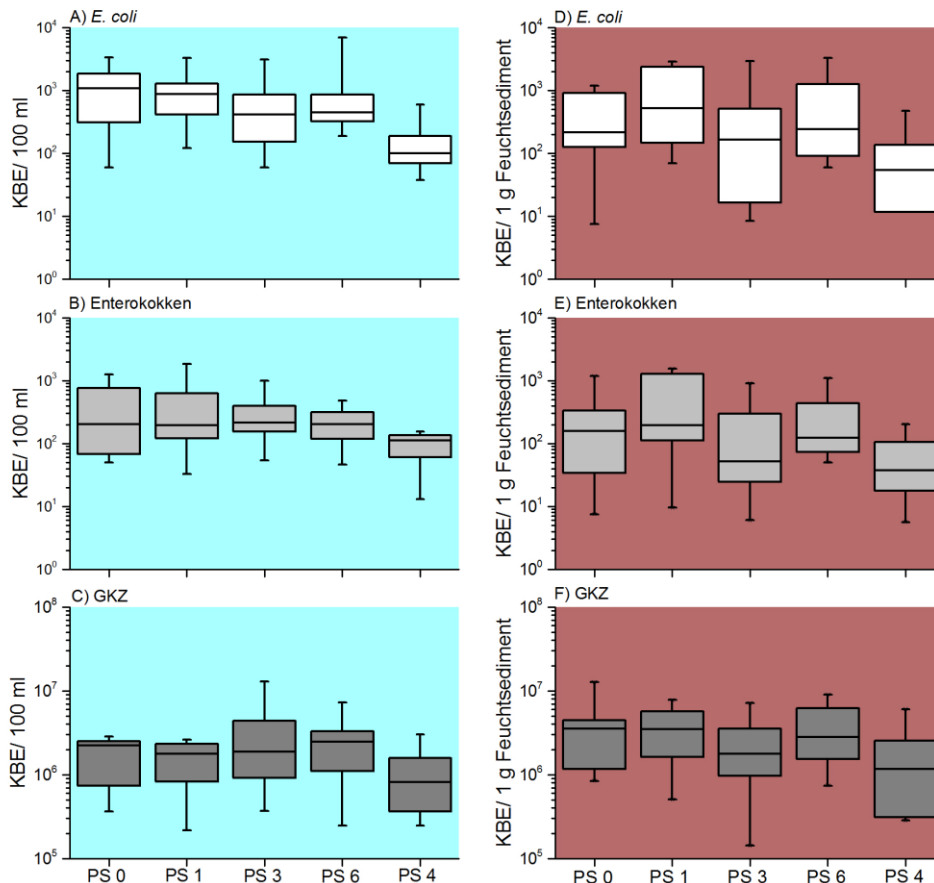


Abb. 193: Konzentrationen von *E. coli* (A, D), Enterokokken (B, E) und GKZ (C, F) (KBE / 100 ml bzw. KBE / g Feuchtsediment) an verschiedenen Probestellen in den Flüssen Schussen und Argen. Blau hinterlegt: im Wasser, braun hinterlegt: im Sediment. Probestellen: PS 0 (Schussen, oberhalb vom RÜB Mariatal), PS 1 (Schussen, zwischen RÜB Mariatal und KA Langwiese), PS 3 (Schussen, unterhalb KA Langwiese), PS 6 (Schussen, unterhalb KA Eriskirch, nahe der Schussenmündung in den Bodensee) sowie PS 4 (Argen, Referenzstelle, anthropogen weniger belastetes Gewässer)

Durch ein zeitspezifisches Belastungsmuster (Abb. 194, rechts) können Auffälligkeiten der jeweiligen Probenahme ermittelt werden. Die unterdurchschnittliche Belastungssituation bei den Probenahmekampagnen K (Mai 2012), P (Nov 2013) und Q (Mai 2014) ist vermutlich durch die damals vorherrschenden niedrigen Wasserstände bedingt (s. auch Abb. 196). Überdurchschnittliche Belastungen traten bei den Probenahmen L und R auf, welche kurz nach einem Regenereignis durchgeführt worden sind. Besonders auffällig sind die hohen Belastungen mit *E. coli* während der R-Probenahme, die sich über alle Probestellen hinweg

durchzieht. Am Tag vor der Probenahme hatte es durchgehend geregnet, so dass vermutlich eine akute Belastungssituation, ausgelöst durch entlastende RÜBs, beprobt worden ist.

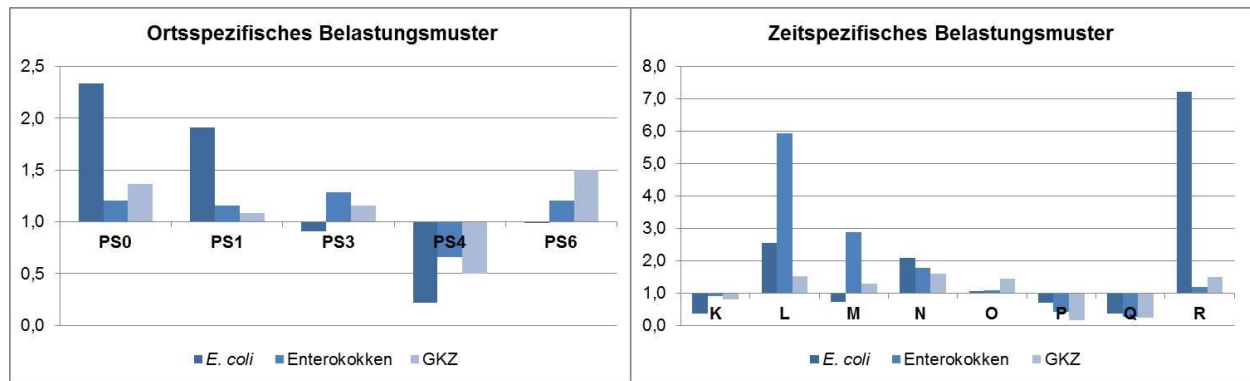


Abb. 194: Spezifische Belastungsmuster der mikrobiellen Parameter *E. coli*, Enterokokken und GKZ ermittelt in Abhängigkeit der Probestelle (links) und Probenahmezeitpunkt (rechts)

### 4.13.2 Bewertung des Ausbaus der Kläranlage Langwiese mit PAK im Vollstrom auf die mikrobiologische Belastung der Schussen

Es fanden nach Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe an der KA Langwiese drei Probenahmekampagnen statt, die erste bereits nach etwa 2 Wochen.

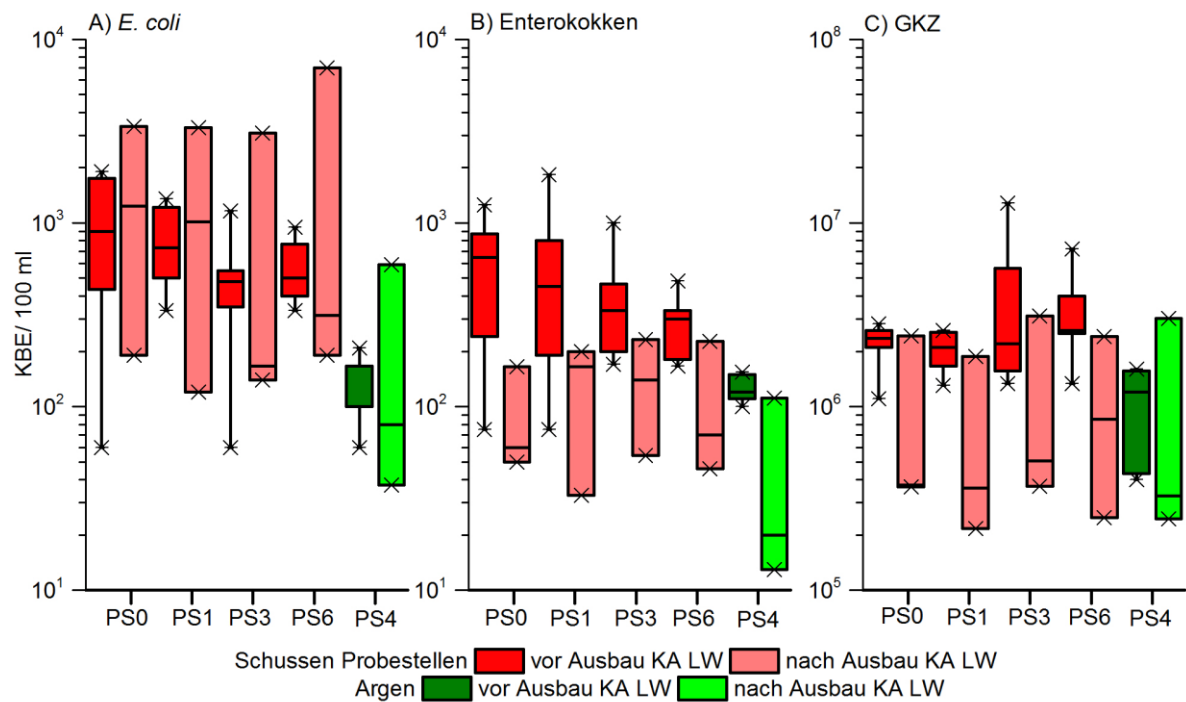


Abb. 195: Konzentration von *E. coli* (A), Enterokokken (B) und GKZ in KBE / 100 ml an allen Probestellen an Schussen und Argen vor (nicht schraffiert) und nach (schraffiert) Inbetriebnahme der PAK-Stufe an der KA Langwiese

Abb. 195 stellt die Ergebnisse in Form von Boxplots vor und nach Inbetriebnahme der Pulveraktivstufe an den verschiedenen Probestellen an Schussen und Argen vergleichend dar. Für *E. coli* und Enterokokken sind an PS 3 und PS 6, also unterhalb der KA Langwiese, die Mediane nach Ausbau der KA niedriger als vorher. Bei den Enterokokken sind aber auch die Konzentrationen im Median, die an PS 0 und PS 1 bestimmt worden sind, und sich oberhalb der KA Langwiese befinden, niedriger. Dasselbe gilt auch für die PS 4 an der Argen, die durch die technische Nachrüstung an der KA Langwiese nicht betroffen ist. Der Varianzbereich der Daten ist besonders bei *E. coli* durch die niedrige Probenahmeanzahl jedoch sehr viel größer und die Maximalwerte liegen teilweise über denen der „vorher“-Probenahme.

Im Freiland spielen hydrologische Bedingungen wie Niederschlag und Abflussmenge eine größere Rolle als in den Kläranlagen. Daher stellt Abb. 196 die Lebendkeimzahlen von *E. coli* und Enterokokken den jeweiligen Abflüssen von Schussen und Argen gegenüber.

Die Lebendkeimzahlen an *E. coli* und Enterokokken, die während der Freilandkampagnen an den verschiedenen Probestellen bestimmt worden sind, schwanken i. d. R. für die jeweilige Kampagne und die jeweilige Keimgruppe innerhalb einer log-Stufe, auch bei unterschiedlichen hydrologischen Verhältnissen und unabhängig von der Jahreszeit (Abb. 196). Eine auffällig belastete Probestelle wird nicht ersichtlich, sondern es ist eher von einer kontinuierlichen Kontamination auszugehen, zu der bei Trockenwetter hauptsächlich die Kläranlagen beitragen, da sie ständig Bakterien in mäßig hohen Konzentrationen in die Schussen eintragen. Bei erhöhten Abflüssen sind aber andere Eintragsquellen, beispielsweise durch Regenentlastungen, maßgeblich an der hygienisch-mikrobiologischen Belastung beteiligt (Auerbach et al. 2008). Diese Tatsache lässt sich gut bei der Probenahmekampagne R im Juli 2014 beobachten: Sowohl in der Schussen als auch in der Argen wurden bei dieser Kampagne die höchsten *E. coli*-Konzentrationen bestimmt, während im Gegensatz dazu die Enterokokken-Konzentration auf einem mit anderen Kampagnen vergleichbaren niedrigen Niveau bleibt.

Ob die Veränderungen im Belastungsmuster auf den Ausbau der KA Langwiese zurückzuführen sind, kann nicht beurteilt werden: 1.) liegt zwischen der „unterhalb“ zur Kläranlage gelegenen PS 3 ca. 12 km Fließstrecke und 2.) münden zwischen diesen beiden Probestellen diverse kleinere Bäche (u. a. Schwarzach, Tobelbach) in die Schussen. Dadurch werden mögliche Effekte durch den KA-Ausbau allein durch die Frachten aus den Nebenflüssen überdeckt.

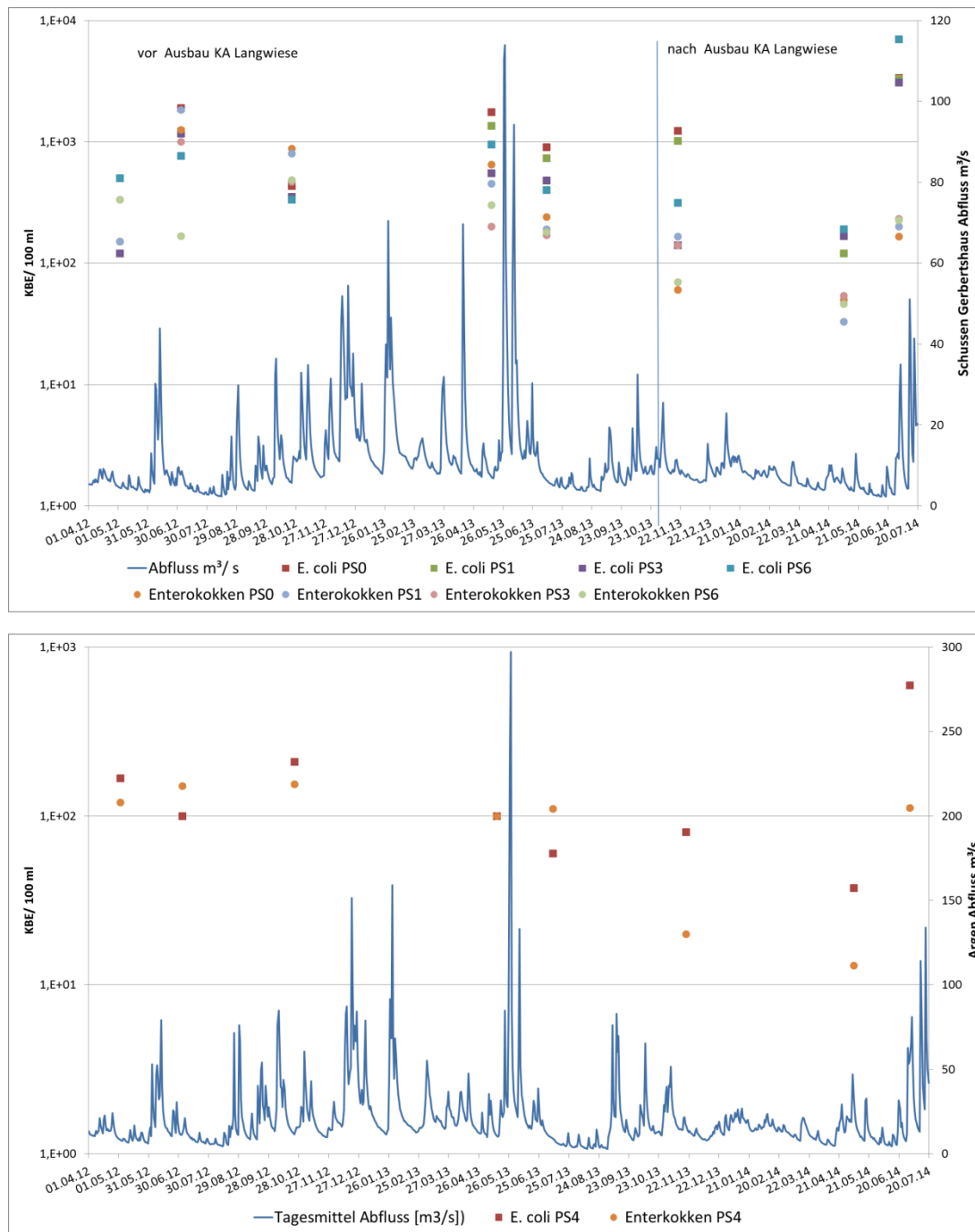


Abb. 196: KBE / 100 ml von *E. coli* und Enterokokken im Wasser von Schussen und Argen sowie die jeweilige Abflussmenge (m³/s)

### 4.13.3 Persistenz von Fäkalindikatorkeimen in Abhängigkeit vom Sediment

In Mikrokosmos-Studien wurde das Überleben von Fäkalindikatoren in Abhängigkeit von verschiedenen Parametern, wie Temperatur, Anwesenheit von Sediment oder Protozoen bestimmt. Die Inkubation erfolgte in allen Fällen bei Dunkelheit, um negative Einflüsse durch UV-Strahlung zu vermeiden. Die quantitative Bestimmung erfolgte für diese Experimente



mittels *most probable number* (MPN)-Methode, um keine mögliche Ergebnisverzerrung durch Überwachsen der Selektivmedienplatten bei Sedimentproben zu erhalten.

In diesen künstlich gestalteten Mikrokosmos-Studien mit sterilem Frischwassermedium und gefriergetrocknetem Sediment zeigte sich ein unterschiedliches Überlebensverhalten der beiden untersuchten Fäkalindikatorbakterien *E. coli* und *Enterococcus faecalis* (Abb.197). Reinkulturen von *E. coli* (aus vorliegendem Untersuchungsprojekt) überdauerten in sterilem Frischwassermedium für mehrere Wochen (bei Raumtemperatur und 10 °C) ohne sichtbares Wachstum oder Absterben. Dahingegen nahm die Konzentration an *E. faecalis* in sterilem Frischwassermedium konstant ab.

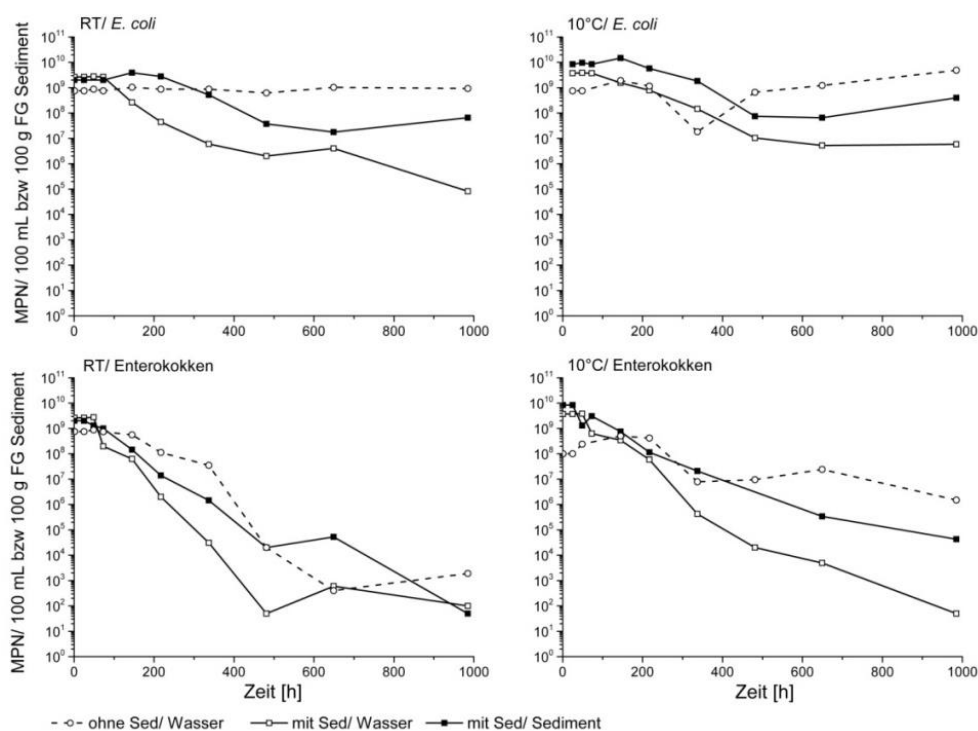


Abb.197: Mikrokosmosstudie zur Verweildauer von *E. coli* und *E. faecalis* bei Raumtemperatur (RT) und 10 °C sowie in An- oder Abwesenheit von Sediment

In Anwesenheit von gefriergetrocknetem Sediment fand in der Wassersäule über dem Sediment eine konstante Abnahme der *E. coli*-Konzentration statt, während im Sediment selber erst eine kurze Wachstumsphase einsetzte, gefolgt von einer ebenfalls konstanten Abnahme der *E. coli*-Konzentration. Die Konzentration der *E. coli* im Sediment lag dabei immer über der in der darüber liegenden Wassersäule. Im Gegensatz zu *E. coli* überdauerte *E. faecalis* nicht im sterilen Frischwassermedium. In Anwesenheit von gefriergetrocknetem Sediment nahm in beiden Kompartimenten, also Wasser über dem Sediment und Sediment,

die *E. faecalis*-Konzentration stetig ab; dabei lag die Konzentration im Sediment immer über der in der darüber liegenden Wassersäule.

Abb. 198 zeigt Mikrokosmos-Studien, welche das natürliche Habitat widerspiegeln sollen, also Wasser der Schussen, das für die Sediment-Variante mit frischem Sediment versetzt wurde. Bei der Variante „Wasser ohne Sediment“ nahm die Konzentration an *E. coli* und Enterokokken von Beginn des Experiments an unabhängig von der Temperatur ab. War dem Mikrokosmos Sediment zugefügt, wurde bei RT eine Wiederrücknahme der MPN / 100mL bei beiden Fäkalindikatorbakterien beobachtet, bei 10 °C dagegen eine ständige Abnahme. Im Sediment lag die MPN / 100mL bei beiden FIB nach Beendigung der Studien auf fast demselben Niveau wie zu Beginn, wobei teilweise eine kurzzeitige Zunahme beobachtet wurde.

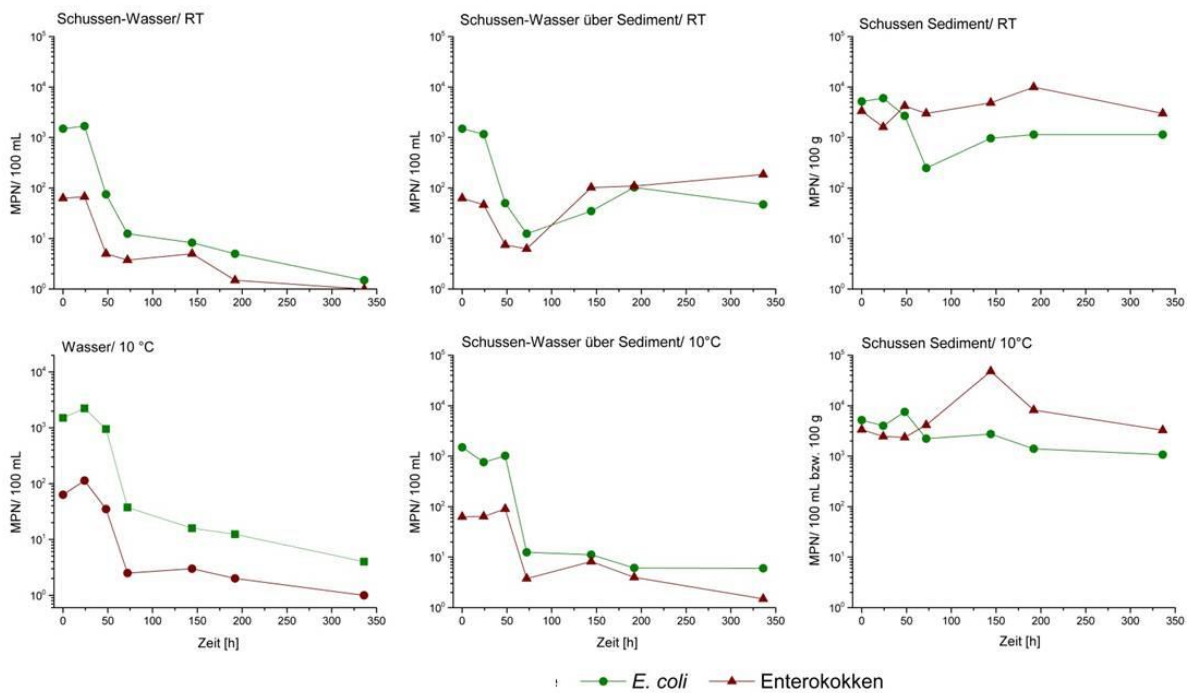


Abb. 198: Mikrokosmen-Studien zum Überleben autochthoner *E. coli* und Enterokokken mit Wasser und Sediment der Schussen sowie Einfluss der Temperatur

Im Vergleich zu *E. coli* überdauerte *E. faecalis* einen Nährstoffmangel weniger gut. Sediment stellt aber für beide, *E. coli* und Enterokokken, ein Rückzugshabitat mit verbessertem Nährstoffangebot dar, aus dem es zu Wiederanstieg der Konzentration in der darüber liegenden Wassersäule kommen kann, wenn die Bedingungen geeignet sind.

Die Studien mit Reinkulturen von *E. faecalis* und der autochthonen Enterokokken-Population zeigten, dass unterschiedliche Überlebensmuster in Abhängigkeit von der Art existieren.

Eine genaue Quantifizierung des Einflusses des Sediments auf die mikrobiologische Belastungssituation war durch die Komplexität der Materie nicht möglich.

## Diskussion

Eine Bewertung der Wirksamkeit von Ausbaumaßnahmen im Abwasserbereich für ein natürliches Gewässer sollte nicht allein auf die Überprüfung der Effizienz einer Technologie beschränkt bleiben, sondern sollte ebenfalls vor dem Hintergrund der Gesamtbelastung des Gewässers erfolgen. Der Fokus im Projekt Schussenaktiv $plus$  lag dabei auf Einträgen von Fäkalindikatorbakterien aus dem Siedlungsbereich, allerdings weisen verschiedene Studien darauf hin, dass auch diffuse Einträge, z. B. aus der Landwirtschaft oder durch Oberflächenabfluss, zur hygienischen Belastung beitragen.

Die Konzentrationen von *E. coli*, Enterokokken und der GKZ entlang der Probenahmestellen an der Schussen waren höher als am Referenzgewässer Argen, das als weniger belastet gilt. Letztendlich gelangen aber durch die annähernd doppelt so hohe Fließgeschwindigkeit der Argen ( $MQ_{Schussen}$  11,8 m<sup>3</sup>/s;  $MQ_{Argen}$  20,1 m<sup>3</sup>/s (Auerbach et al. 2008)) durch beide Flüsse ähnlich hohe bakterielle Frachten in den Bodensee, nämlich etwa  $2\text{-}5E+07$  *E. coli* KBE / s oder  $2,2\text{-}2,4E+07$  Enterokokken KBE / s (basierend auf den Medianen der PS 6 bzw. PS 4) (Abb. 199).

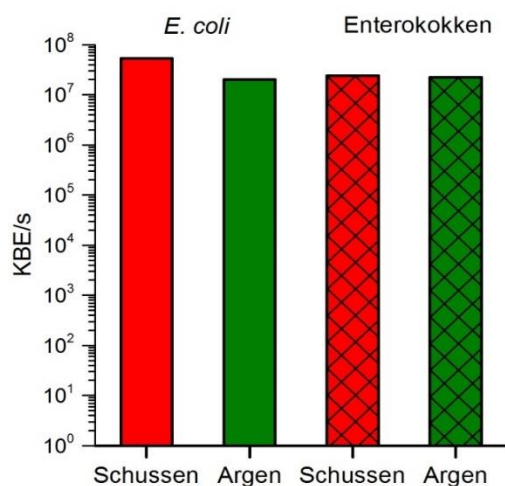


Abb. 199: Frachten von *E. coli* (nicht schraffiert) und Enterokokken (schraffiert), die durch Schussen und Argen in den Bodensee gelangen. Berechnet anhand der Medianen der PS 6 (Schussen, Mündung) und PS 4 (Argen, Neumühle) und der mittleren Fließgeschwindigkeit MQ (s. Text)

Die Bewertung des Ausbaus der KA Langwiese auf die hygienische Situation an der Schussen ist nicht möglich. Bereits flussaufwärts der PS 0 entlasten Kläranlagen bzw. Regentlastungssysteme in die Schussen, und insgesamt liegen 20 Kläranlagen und über 100 Regentlastungssysteme im Einzugsgebiet (Triebkorn et al. 2013b). Zwar können

gereinigte Abwässer die mikrobiellen Lebensgemeinschaften und bakteriellen Konzentrationen in einem Gewässer beeinflussen, wie verschiedene Studien zeigten (Czekalski et al. 2012), dennoch kann im vorliegenden Projekt aufgrund folgender Faktoren keine Aussage über den Einfluss der PAK-Stufe an der KA Langwiese auf die Keimbelastung der Schussen getroffen werden. (1) Es wurde nur ein relativ kurzer Zeitraum beprobt, in dem die PAK-Stufe - zudem noch in einer Beprobungsphase - unter verschiedenen Bedingungen getestet worden ist. (2) Es liegen zwischen Kläranlage und der „unterhalb“ gelegenen Probestelle 3 ca. 12 km Fließstrecke. (3) Es münden zwischen diesen beiden Probestellen diverse kleinere Bäche (u. a. Schwarzach, Tobelbach) in die Schussen, über deren mikrobielle Frachten keine aktuellen Daten vorliegen, so dass deren Einfluss nicht beziffert werden kann. Gerade kleinere Bäche können aber wichtige Punktquellen darstellen (Wetzel et al. 2013b).

Das Sediment eines Gewässers kann als Senke für Bakterien dienen, die sich nach Anheftung an Partikel dort akkumulieren (Davies et al. 1995). Viele Studien beschreiben, dass das Sediment höhere Konzentrationen an Fäkalindikatorkeimen als das darüber liegende Wasser enthält (Burton et al. 1987). Auch das Sediment der Gewässer Schussen und Argen enthält etwa 100fach höhere Konzentrationen, und in Mikrokosmenstudien wurde gezeigt, dass sich das Überlebensverhalten der beiden untersuchten Fäkalindikatorbakterien *E. coli* und *Enterococcus faecalis* voneinander unterscheidet. Es wurden die bereits bekannten Fakten bestätigt, dass im natürlichen Wasser (mit bakteriovoren Organismen) die Lebendkeimzahlen kontinuierlich abnehmen, während im Sediment die Lebendkeimzahlen konstant bleiben. Problematisch ist dieses Reservoir dann, wenn es zu Turbulenzen kommt, wodurch die Bakterien wieder ins Freiwasser gelangen und kurzzeitig zur Erhöhung der bakteriellen Fracht beitragen. Im Fließgewässersystem dieses Reservoir für Bakterien zu quantifizieren, ist aufgrund der Komplexität der Materie nicht möglich. Neuere Studien weisen zudem darauf hin, dass die als Indikatoren genutzten Bakterien natürliche Habitate in Gewässern und an Land sekundär besiedeln können und damit das Indikatorkonzept in Frage gestellt wird (Byappanahalli et al. 2012; van Elsas et al. 2011).

Auch wenn der direkte Effekt des Ausbaus der KA Langwiese auf die mikrobiologische Belastungssituation nicht im Freiland ermittelt werden kann, ist dennoch festzuhalten, dass durch die technischen Maßnahmen sowohl an der KA Langwiese und der KA Eriskirch eine teils deutliche Reduzierung der Konzentrationen von *E. coli* und Enterokokken unter das Konzentrationsniveau in der Schussen erfolgt (Abb. 200). Über den Jahresverlauf hinweg ergeben sich dadurch auch reduzierte Frachten, die durch die Kläranlagen in den Vorfluter Schussen eingetragen werden. Ebenfalls deutlich wird aber das äußerst hohe hygienische Belastungspotential, das durch die Regenüberlaufbecken in die Schussen gelangt.

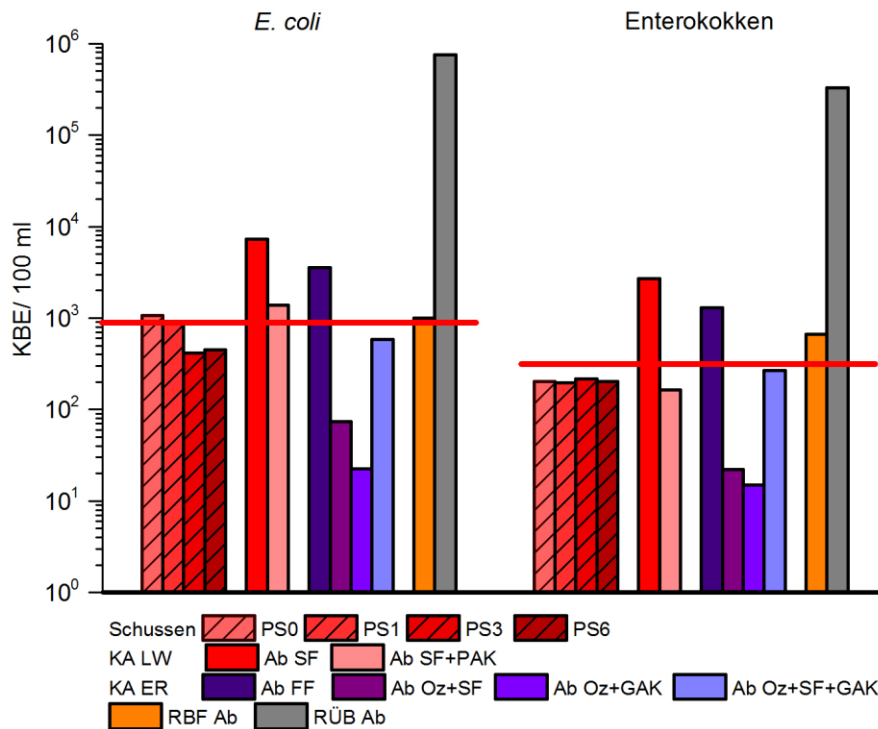


Abb. 200: Lebendkeimzahlen von *E. coli* und Enterokokken an Schussen und Testsystemen (Median aus allen Probenahmen); rote Linie = jeweiliger Grenzwert für ausreichende Badegewässerqualität (basierend auf 95 % Perzentil)

Letztendlich kann eine Verbesserung der mikrobiologischen Belastungssituation auch nicht allein durch die Aufrüstung einer einzigen Kläranlage im 815 m<sup>2</sup> großen Einzugsgebiet der Schussen erfolgen. Es empfiehlt sich, zumindest die größeren Kläranlagen ebenfalls technisch zu verbessern, um einen summativen Effekt auf die hygienische Grundbelastungssituation bei Trockenwetter zu erzielen. Die Einführung neuer Technologien sollte zusätzlich zur vollständigen Ausschöpfung von Optimierungspotenzialen in den bestehenden Einrichtungen begleitet werden, wie sie z. B. von Güde (2010) skizziert worden sind. Ein Fokus sollte dabei auch auf dem Ausbau der Regenwasserbehandlung liegen, entweder durch Vergrößerung des Rückhaltvolumens oder durch Erhöhung der Anzahl von Retentionsbodenfiltern.

## 4.14 Antibiotika-resistente Keime (Auswirkungen auf das Gewässer)

Gallert, Hess (KIT, Hochschule Emden/Leer)

Aufgrund der Distanz zwischen der Einleitung des Kläranlagenablaufs Langwiese und der PS 3 (nächstgelegene Probenahmestelle nach der Einleitung des gereinigten Abwassers der Kläranlage Langwiese) von etwa 12 Kilometern können Veränderungen der Bakterienfracht, des Resistenzniveaus sowie der Speziesverteilung in der Schussen nicht eindeutig auf die Einleitung des gereinigten Abwassers bezogen werden, was die Beschreibung eines Effektes der Inbetriebnahme der PAK-Stufe auf das Ökosystem schwierig/unmöglich macht. Im Folgenden werden generelle Beobachtungen das Freiland betreffend beschrieben.

### Lebendkeimzahlen (LZZ) der Staphylokokken

Die Konzentrationen der Staphylokokken-LZZ lagen sowohl in der Schussen als auch in der Argen etwa eine log-Stufe höher als die Konzentrationen, die in den Gesamtabläufen der Kläranlagen Langwiese und Eriskirch gemessen wurden. Demzufolge existiert entweder eine andere Eintragsquelle oder aber zumindest manche *Staphylococcus*-Spezies kommen natürlicherweise im aquatischen Ökosystem vor und können dort auch wachsen (Abb. 201).

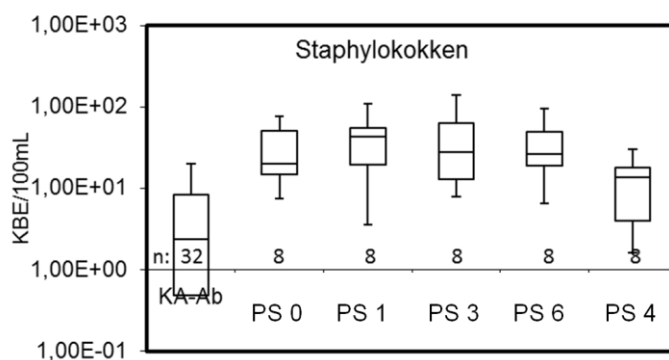


Abb. 201: *Staphylococcus*-Konzentrationen an den einzelnen Probenahmestellen der Schussen (PS 0-6) und Argen (PS 4) sowie im Kläranlagenablauf. n: Anzahl untersuchter Proben

Im Vergleich zu den detektierten Konzentrationen der Staphylokokken-LZZ in der Schussen, lagen diejenigen der Argen zwischen 0,4 und 0,7 log-Stufen tiefer (Abb. 201). Berücksichtigt man allerdings, dass die Argen im Vergleich zur Schussen nahezu einen doppelt so hohen mittleren Abfluss aufweist (Schussen: 11,8 m<sup>3</sup>/s; Argen: 20,1 m<sup>3</sup>/s) und berechnet die Frachten, die Schussen und Argen pro Sekunde an kultivierbaren *Staphylococcus*-Zellen in den Bodensee einleiten, so liegen diese in der gleichen Größenordnung (Schussen: 3,2 x

$10^6$  KBE/s, Argen:  $2,8 \times 10^6$  KBE/s; Berechnungsgrundlage: Konzentration an der Schussen-Probenahmestelle PS 6 bzw. Konzentration an der Argen-Probenahmestelle PS 4).

### Speziesverteilung

Im Gegensatz zu der nachfolgend beschriebenen Speziesverteilung der Staphylokokken, unterschied sich die Speziesverteilung der Enterokokken im Freiland kaum von der im Abwasser. In allen Proben dominierten Faeces-assoziierte Spezies (*E. faecium*, *E. faecalis* und *E. hirae*): Im Rohabwasser wurden 70,0 % der Isolate als eine der drei Spezies identifiziert, im Freiland sogar 74,9 %. Möglicherweise war diese eindeutige Dominanz dieser Spezies dem gewählten Kultur-basierten Ansatz geschuldet.

Die Speziesverteilung der Staphylokokken war an den 4 Probenahmestellen entlang der beprobten Fließstrecke der Schussen sehr ähnlich. Es dominierten Spezies, die in die Sciuri- und Saprophyticus-Gruppe gehören, während klinisch relevante Spezies, wie *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis* und *S. haemolyticus*, nur sporadisch isoliert wurden (Abb. 202).

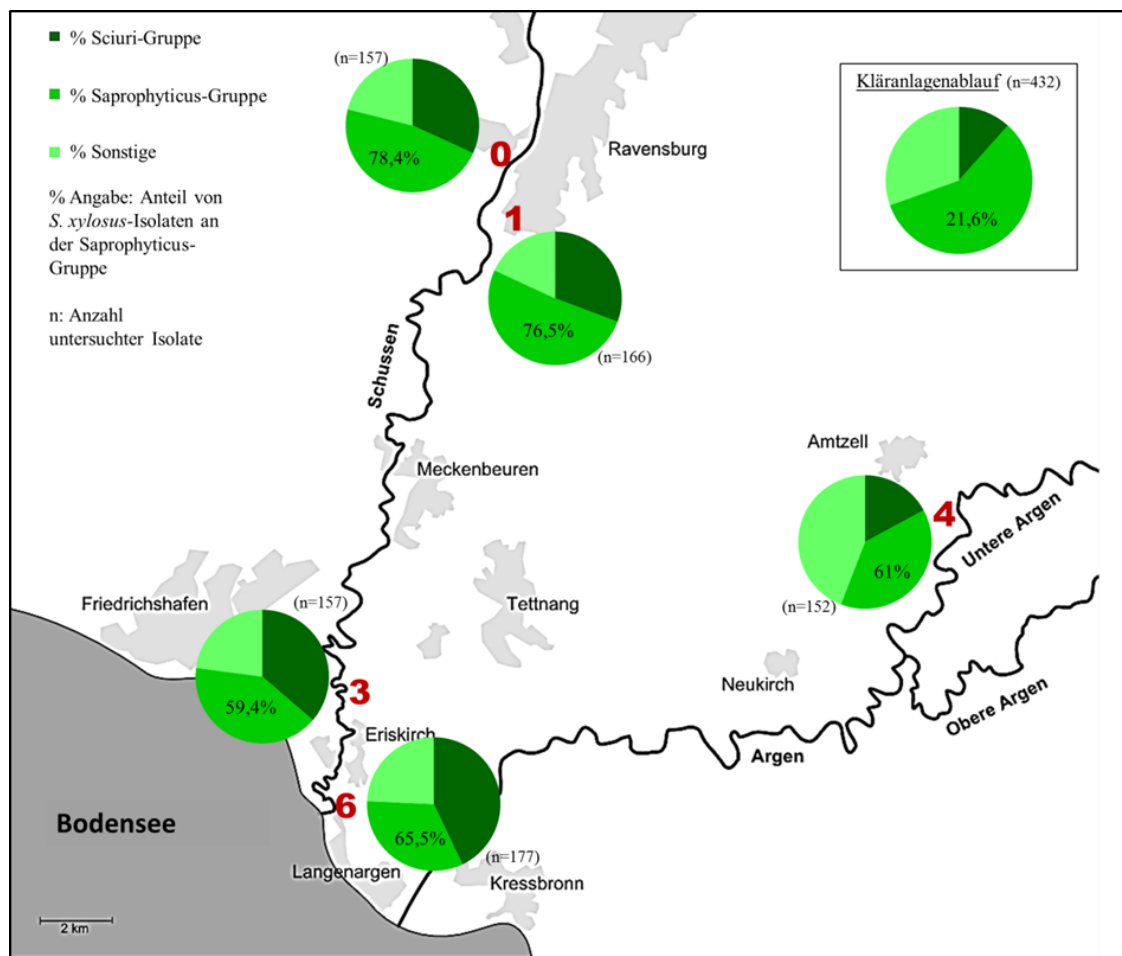


Abb. 202: Speziesverteilung der Staphylokokken an den jeweiligen Probenahmestellen an der Schussen und Argen sowie im Kläranlagenablauf

Im Vergleich zum Kläranlagenablauf war der Anteil an Isolaten der Sciuri-Gruppe in der Schussen zu Lasten des Anteils an Mitgliedern der Saprophyticus-Gruppe höher. Innerhalb der Saprophyticus-Gruppe fand eine Verschiebung der Abundanzen der einzelnen Spezies zwischen Kläranlagenablauf und fluviatilem Ökosystem statt: Während im Kläranlagenablauf *S. saprophyticus* die dominante Spezies innerhalb der Isolate, die in die Saprophyticus-Gruppe gehörten, war, lag im Freiland der Anteil an *S. xylosus*-Isolaten deutlich höher. Auch die Argen zeigte mit einem hohen Anteil an *S. xylosus*-Isolaten innerhalb der Saprophyticus-Gruppe (61 %) und einem im Vergleich zum Kläranlagenablauf leicht höheren Anteil (5,5 %) an Isolaten, die in die Sciuri-Gruppe gehörten, typische Merkmale einer Freilandprobe. Im Vergleich zur Schussen war der Anteil an Isolaten, die weder als Spezies der Sciuri- noch der Saprophyticus-Gruppe identifiziert wurden, mit 44,4 % deutlich größer (die Anteile an Isolaten, die keine Spezies der Sciuri- und der Saprophyticus-Gruppe waren, lagen für die Schussen-Proben zwischen 18,1 % und 24,3 %). Ein Isolat aus der Argen, das nicht identifiziert werden konnte, wurde als eine neue *Staphylococcus*-Species beschrieben, die zu Ehren der Argen „*Staphylococcus argensis* sp. nov.“ genannt wurde (Heß und Gallert 2015b).

#### Antibiotika-Resistenzniveau

Der Trend eines mit zunehmender Fließstrecke ansteigenden Anteils resistenter Isolate war sowohl bei den beiden untersuchten Gattungen als auch der Spezies *Escherichia coli* erkennbar, wobei die Probenahmestelle 6 die höchste Belastung an resistenten Enterokokken und multiresistenten Staphylokokken (Isolate waren mindestens gegen zwei Antibiotika unterschiedlicher Klassen resistent) aufwies.

Die Probenahmestelle 3, die etwa 12 km unterhalb der Einleitung des Kläranlagenablaufs Langwiese liegt, war insofern auffällig, da dort der höchste Anteil resistenter *E. coli* (24,4 %) und Staphylokokken (15,3 %) detektiert wurde. Interessanterweise war dort vor allem bei den Herbstprobenahmen der Anteil resistenter *E. coli* signifikant höher als an den anderen Freiland-Probenahmestellen sowie dem Ablauf der Kläranlage Langwiese (Abb. 203).

Im Vergleich mit der Resistenzsituation im Kläranlagenablauf, lag das Resistenzniveau von *E. coli* in der Schussen (mit Ausnahme der Probenahmestelle 3) auf einem ähnlichen Niveau, während der Anteil resistenter Enterokokken und Staphylokokken in der Schussen im Vergleich zum Kläranlagenablauf bis zu 13,6 % geringer war (Abb. 204, Abb. 205).



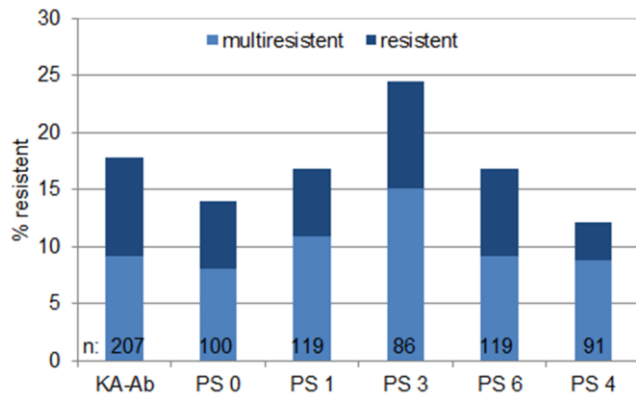


Abb. 203: Resistenzniveau der *E. coli* in den einzelnen Probenahmestellen der Schussen (PS 0, 1, 3, 6) und Argen (PS 4) sowie im Kläranlagenablauf (KA-Ab). n: Anzahl der untersuchten Isolate.

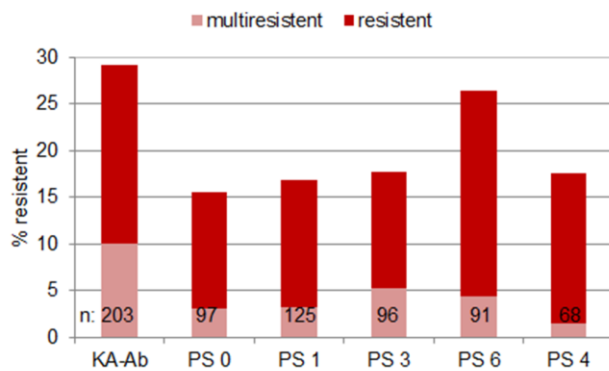


Abb. 204: Resistenzniveau der Enterokokken in den einzelnen Probenahmestellen der Schussen (PS 0, 1, 3, 6) und Argen (PS 4) sowie im Kläranlagenablauf (KA-Ab). n: Anzahl der untersuchten Isolate.

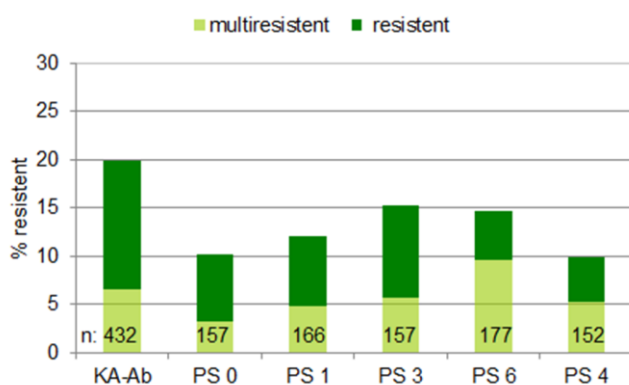


Abb. 205: Resistenzniveau der Staphylokokken in den einzelnen Probenahmestellen der Schussen (PS 0, 1, 3, 6) und Argen (PS 4) sowie im Kläranlagenablauf (KA-Ab). n: Anzahl der untersuchten Isolate.

Das Resistenzniveau der Argen war vergleichbar mit dem der Schussen-Probenahmestelle 0. Ohne das natürliche Resistenzniveau in aquatischen Ökosystemen zu kennen fiel auf, dass auch aus Argen-Proben Isolate mit Resistenzen gegen ausschließlich synthetisch hergestellte Antibiotika, wie zum Beispiel Cephalosporine der dritten Generation, gewonnen wurden, was auf eine anthropogene Belastung hinweist. Allgemein gesehen wurden die Resistenzen, die im Kläranlagenablauf detektiert wurden, auch in der Schussen gefunden, wobei Unterschiede im Verhältnis der Anteile der jeweiligen Resistenzen zwischen Kläranlagenablauf und Freiland erkennbar waren.

## Diskussion

Die Unterschiede in der Konzentration und dem Resistenzniveau fakultativ-pathogener Keime sowie der Speziesdiversität von Staphylokokken bei den einzelnen Probenahmen (Regen- und Trockenwetter) verdeutlichen, dass die Schussen sowohl durch die Einleitung von gereinigtem bzw. verdünntem Abwasser als auch durch Oberflächenabschwemmungen beeinflusst wird. Die Speziesverteilung der Staphylokokken und das Resistenzniveau bieten einen Anhaltspunkt dafür, welcher Einfluss zum Probenahmezeitpunkt überwog, erlaubt aber, auch aufgrund der Wahl der einzelnen Probenahmestellen, keine quantitative Bilanzierung der Eintragsquellen.

Der Anteil resistenter *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken nahm mit zunehmender Fließstrecke, auf der mehrere Kläranlagen ihren Ablauf der Schussen zugeschlagen haben, zu. Akiyama und Savin (2010) berichteten von einem erhöhten Resistenzniveau coliformer Keime nach Einleitung von gereinigtem Abwasser, und Czekalski et al. (2012) detektierten ein erhöhtes Resistenzniveau in Sedimentproben unterhalb der Einleitung vom Kläranlagenablauf. Es wäre interessant zu untersuchen, ob sich langfristig die Konzentration entsprechender Antibiotika-Resistenzgene unterhalb einer Kläranlageneinleitung in Sedimenten und Biofilmen erhöht und ob und in welcher Frequenz Resistenzgene auf autochthone Mikroorganismen, wie beispielsweise verschiedene Spezies der Genera *Bacillus* oder *Pseudomonas*, übertragen werden. Leider gibt es derzeit keine Untersuchungen, die das Resistom in einem Transekt, das sich über Probenahmestellen vor und nach der Einleitung eines Kläranlagenablaufs erstrecken müsste, beispielsweise mittels qPCR-Analysen längerfristig analysieren und sich dabei nicht nur auf die fließende Welle beschränken. Daneben bleibt die Frage, wie sich klinisch relevante Stämme in der aquatischen Umwelt verhalten. Es wäre spannend, über den Vergleich von Restriktionsmustern „*bacterial source tracking*“ zu betreiben und herauszufinden, ob diese aus Oberflächengewässern isolierten Stämme human- oder veterinärmedizinisch relevant sind.

## **4.15 Biotests *in vitro* (Auswirkungen auf das Gewässer)**

### **4.15.1 Genotoxizität**

#### **Ames-Fluktuationstest**

*Giebner, Oehlmann (UFFM)*

Im Ames-Fluktuationstest traten in keiner der untersuchten Freilandproben mutagene Wirkpotentiale auf. Aus diesem Grund kann keine Aussage über eine mögliche Reduktion mutagener Wirkpotentiale in den Freilandproben der Schussen und der Referenzstelle an der Argen durch den Ausbau der Kläranlage Langwiese getroffen werden.

#### **SOS-Chromotest**

*Bláha, Beníšek (Recetox)*

Es traten weder in den Sedimenten noch in den Oberflächenwasserproben genotoxische Effekte auf.

### **4.15.2 Dioxinähnliche Toxizität**

#### **Hefezell-basierter Test**

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Weder in den nativen noch in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der untersuchten Freilandproben konnten mit dem Test dioxinähnliche Wirkpotentiale nachgewiesen werden. Aus diesem Grund kann keine Aussage über eine mögliche Reduktion dioxinähnlicher Wirkpotentiale in den Freilandproben durch den Ausbau der KA Langwiese getroffen werden.

#### **Reportergenassay H4IIE-luc-Zellen**

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Vor dem Ausbau der KA Langwiese war der Wert der dioxinähnlichen Wirkpotentiale an der Schussen deutlich höher als an der Argen (Abb. 206). Nach dem Ausbau der KA Langwiese mit einer Aktivkohlestufe befanden sich die Werte an der Schussen im Bereich derer an der Argen.

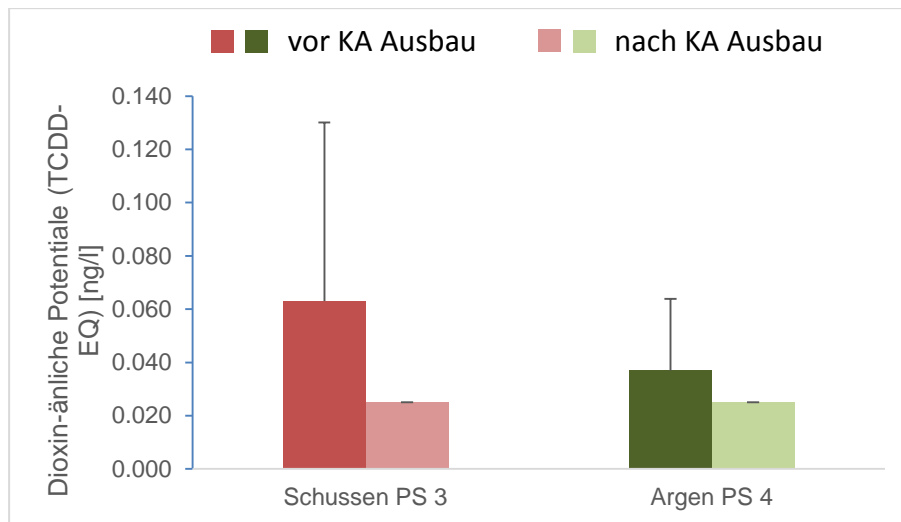


Abb. 206: Dioxinähnliche Potentiale im Oberflächenwasser der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) und der Argen (PS 4) vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese

### 4.15.3 Östrogenität

#### Hefe-basierter Reporterassay

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)

Östrogene Wirkpotentiale in den Freilandproben der Schussen und Argen wurden mit Hilfe des *Yeast Estrogen Screen* (YES) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. In den nativen Proben konnten keine östrogenen Aktivitäten oberhalb der Nachweisgrenze des Tests nachgewiesen werden (Daten nicht dargestellt), und auch in den Extrakten lag die östrogene Aktivität mit 0,09 - 3,91 % Rezeptoraktivierung deutlich unterhalb der Aktivität in den Abwasserproben der Versuchsanlagen (Abb. 207). Diese Unterschiede lassen sich mit der Verdünnung des gereinigten Abwassers mit dem Oberflächenwasser erklären.

Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese lag die östrogene Aktivität in den Freilandproben zwischen 2,96 - 3,91 % und war damit an allen Probestellen vergleichbar hoch. Nach dem Ausbau der Kläranlage wurde die endokrine Aktivität auf Werte zwischen 0,09 - 0,35 % Rezeptoraktivierung reduziert. Dieser Trend kann jedoch nicht als direkte Folge des Ausbaus der Kläranlage Langwiese angesehen werden, da die Östrogenität an allen Probestellen der Schussen (PS 0, 1, 3 und 6, also oberhalb und unterhalb der KA) signifikant abnahm, ebenso wie an der Referenzstelle an der Argen (PS 4). Dieses Ergebnis zeigt vielmehr, dass weitere äußere Randbedingungen (saisonale Effekte, Abflussbedingungen, etc.), die in den Einzugsgebieten von Schussen und Argen gleichzeitig und mit ähnlichen Auswirkungen auftreten, relevant und für die Abnahme zumindest mitverantwortlich sind. Dadurch wird die

Bewertung der Ausbaumaßnahmen an der Kläranlage Langwiese auf die Gewässerqualität der Schussen erschwert. Allerdings ergibt sich aus der Reduktion der östrogenen Aktivitäten im YES-Test, die durch die Anwendung des Pulveraktivkohlefilters in Langwiese erzielt werden, eine deutliche Reduktion der Gesamtfrachten, die in die Schussen eingetragen werden.

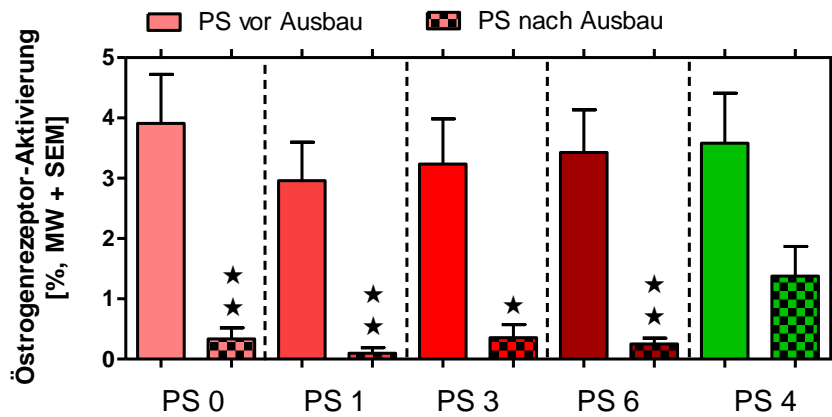


Abb. 207: Östrogene Wirkpotentiale in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Freilandprobestellen, ermittelt mit dem Yeast Estrogen Screen. Dargestellt ist die Aktivierung des Östrogenrezeptors aller Probenahmen jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★:  $p < 0,01$ , ungepaarter t-Test

### Reporterassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa-Zelllinie

Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)

Vor dem Ausbau der KA Langwiese konnten hohe östrogene Wirkpotentiale im Oberflächenwasser der Schussen unterhalb der KA Langwiese gemessen werden (Abb. 208). Nach dem Ausbau waren diese deutlich reduziert, wobei es auch an der Argen zu einer Reduktion kam.

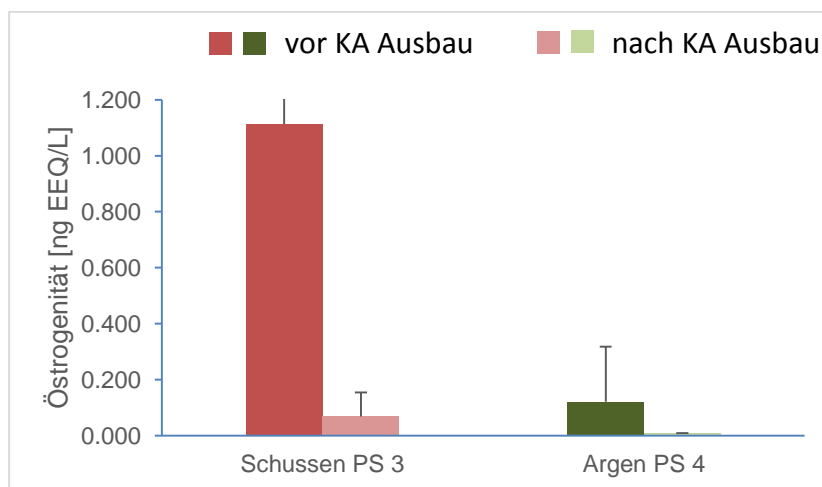


Abb. 208: Östrogene Potentiale im Oberflächenwasser der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) und der Argen (PS 4) vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese

## **E-Screen-Assay**

*Kuch (Universität Stuttgart)*

### *Oberflächenwasser*

In beiden Gewässern konnte in allen untersuchten Proben eine östrogene Aktivität festgestellt werden. Der im Teilprojekt eingesetzte E-Screen-Assay (basierend auf menschlichen Brustkrebszellen) erfasst die Östrogenität aller in einer Probe enthaltenen aktiven Verbindungen als Summenparameter. Bezüglich der Potenz der Substanzen besteht ein ausgeprägtes Ranking der Verbindungen. Die stärkste Aktivität im E-Screen-Assay verursachen die natürlichen und synthetischen Hormone. Das natürliche Hormon 17 $\beta$ -Estradiol (E2) und das synthetische Hormon Ethinylöstradiol (EE2) weisen die höchste Potenz auf, während die E2-Metabolite Östron (E1) und Östratriol bereits um zwei Zehnerpotenzen niedrigere Effekte verursachen. Jedwede Maskierung der phenolischen Hydroxylgruppe, die den obengenannten Substanzen gemeinsam ist, führt ebenfalls zu einer entscheidenden Verringerung der östrogenen Potenz. Als Beispiel für eine Maskierung sei hier die Methylierung der phenolischen Hydroxylgruppe genannt, die einen möglichen Transformationsweg unter anaeroben Bedingungen darstellt (neben einer möglichen Rückbildung von E2 aus E1). Um mehrere Zehnerpotenzen schwächer wirken Xenoöstrogene wie z. B. die 4-Nonylphenole oder Bisphenol A. So verursachen z. B. 100 000 ng/L Bisphenol A die gleiche Aktivität wie 1 ng/L 17 $\beta$ -Estradiol. Aufgrund des ausgeprägten Potenz-Rankings des E-Screen-Assay reflektiert das Testsystem in erster Linie das Auftreten der obengenannten natürlichen und synthetischen Sexualhormone. Xenoöstrogene würden erst in sehr hohen Konzentrationen mit dem Testsystem erfasst werden. Aus den Daten der instrumentellen Analytik, die im Gesamtprojekt verankert ist, ergeben sich keine Hinweise zum Auftreten von Xenoöstrogenen in Konzentrationsbereichen, die zu einer nennenswerten östrogenen Aktivität führen könnten. Damit sind die speziell mit dem E-Screen-Assay ermittelten östrogenen Aktivitäten mit einiger Wahrscheinlichkeit hauptsächlich auf das Vorkommen der Sexualhormone zurückzuführen, die über gereinigte und ungereinigte kommunale Abwässer in das Gewässer eingetragen werden.

In der Schussen konnte bereits oberhalb der KA Langwiese (P 0 und P 1) eine östrogene Aktivität festgestellt werden. Die Aktivitäten oberhalb der KA Langwiese lassen sich mit dem Eintrag von gereinigtem kommunalen Abwasser in das Fließgewässer erklären; das Einzugsgebiet weist bereits oberhalb von Ravensburg eine höhere Siedlungsdichte mit in die Schussen einleitenden Kläranlagen und Entlastungsbauwerken (möglicher Eintrag ungereinigter Abwässer) auf. Nach der Einleitungsstelle der Abwässer der Kläranlage Langwiese (zwischen P 2 und P 3) lässt sich aufgrund des Verdünnungsfaktors keine

signifikante Änderung der Konzentrationen in der Schussen feststellen. Auf Basis der Mittelwerte über alle Probenahmekampagnen (K bis T) kann an der Probenahmestelle P 6 (diese befindet sich nahe der Mündung der Schussen in den Bodensee und kurz unterhalb der Einleitestelle der KA Eriskirch) ebenfalls keine signifikante Erhöhung der EEQ-Werte festgestellt werden. Begründung hierfür ist erneut der Verdünnungseffekt, den die Abwässer nach der Einleitung in den Vorfluter erfahren, das niedrige Konzentrationsniveau des EEQ in den kommunalen Abwässern und die vorliegende Belastung oberhalb der jeweiligen Kläranlagen.

Es zeichnet sich ab, dass die östrogenen Aktivitäten im Referenzgewässer Argen (P 4) im Mittel um einen Faktor 2 niedriger als in der Schussen liegen. Zu berücksichtigen ist, dass die Argen einen etwa doppelt so hohen Abfluss als die Schussen aufweist; damit liegt die Fracht an östrogenaktiven Substanzen in den Bodensee bei beiden Flüssen – auf Basis der erhobenen Daten - in der gleichen Größenordnung (Abb. 209).

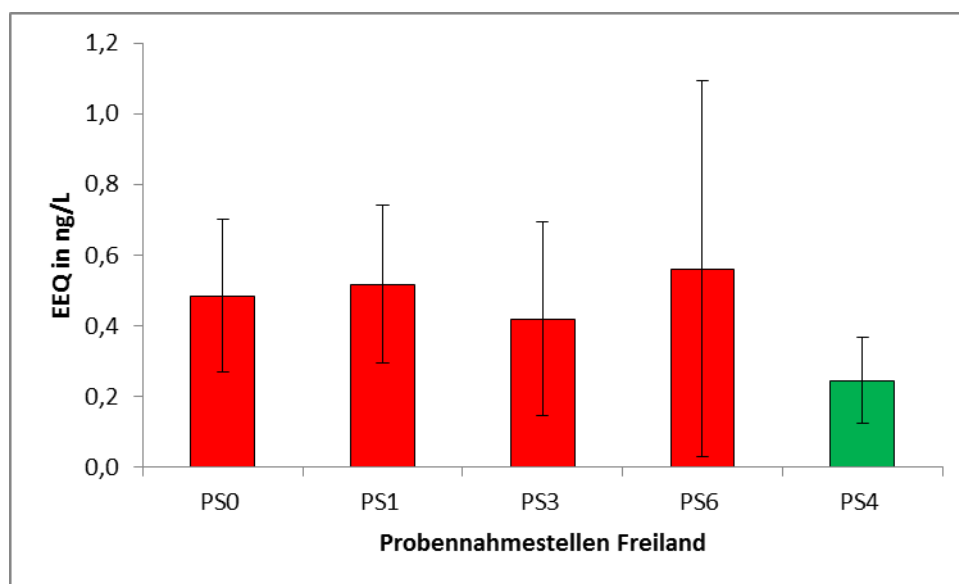


Abb. 209: Östrogene Gesamtaktivität (EEQ) in Proben aus den Fließgewässern Schussen und Argen; Mittelwerte aus allen Beprobungskampagnen (K - T) des Gesamtprojekts mit Standardabweichung. Blau: Schussen; P 0: oberhalb KA Langwiese und RÜB; P 1: oberhalb KA Langwiese und unterhalb RÜB; P 3: unterhalb RÜB und KA Langwiese; P 6: Schussenmündung. Grün: Argen P 4

Nach Ausbau der Kläranlage findet man niedrigere Mittelwerte an EEQ nur an den Probestellen unterhalb der KA (Abb. 210). Die Unterschiede sind jedoch aufgrund großer Streuung nicht signifikant.

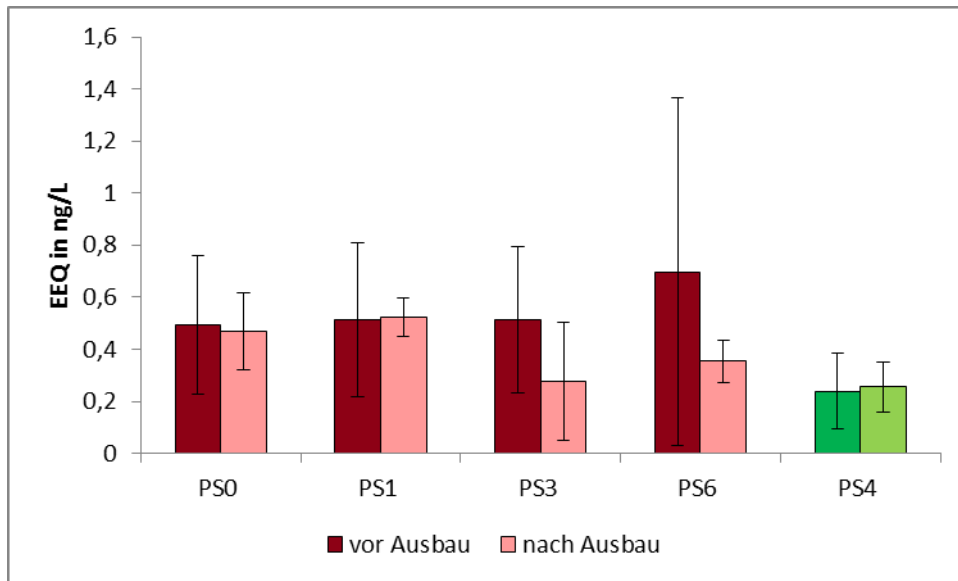


Abb. 210: Östrogene Gesamtaktivität (EEQ) in Proben aus den Fließgewässern Schussen und Argen; Unterscheidung vor und nach Ausbau Langwiese (K - T) mit Standardabweichung. Schussen: P 0: oberhalb KA Langwiese und RÜB; P 1: oberhalb KA Langwiese und unterhalb RÜB; P 3: unterhalb RÜB und KA Langwiese; P 6: Schussenmündung. Argen: P 4

Die erheblichen Standardabweichungen der EEQ-Mittelwerte in der Konzentrationsbetrachtung (Abb. 210) werden maßgeblich durch saisonale Effekte und die jeweiligen Abflussbedingungen und insbesondere durch die im Vergleich erhöhten EEQ-Werte der Probenahme K verursacht. Beim Auftragen der Werte über die einzelnen Probenahmen hinweg (siehe Abb. 211) werden die zeitlichen Änderungen des EEQ, die saisonale Effekte und unterschiedliche Abflussbedingungen widerspiegeln, deutlich. In der überwiegenden Anzahl der Probenahmen wurden die niedrigsten EEQ-Werte in den Proben aus der Argen ermittelt.

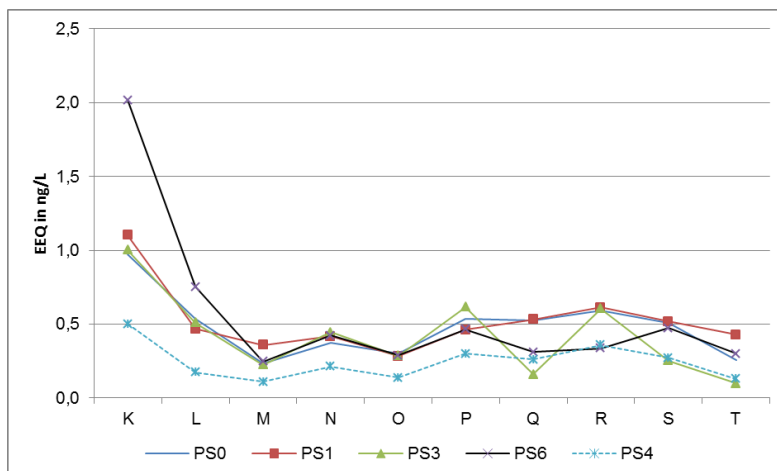


Abb. 211: Östrogene Gesamtaktivität (EEQ) in Proben aus den Fließgewässern Schussen und Argen; Darstellung über die Probenahmezeitpunkte. K - T: Probenahmekampagnen. P 0: oberhalb KA Langwiese und RÜB; P 1: oberhalb KA Langwiese und unterhalb RÜB; P 3: unterhalb RÜB und KA Langwiese; P 6: Schussenmündung; PS 4: Argen



Beim Auftragen der korrespondierenden EEQ-Werte verschiedener Probenahmestellen wird die Kopplung der Einzelwerte ersichtlich. In Abb. 212 sind beispielhaft die korrespondierenden EEQ-Werte aller Beprobungen an den Probenahmestellen P 0 und P 1 gegeneinander aufgetragen. Die Korrelation weist auf den Zusammenhang der Konzentrationen in diesem Fließgewässerabschnitt und damit auf den gleichzeitig stattfindenden Einfluss äußerer Bedingungen (Abfluss etc.) im Einzugsgebiet hin. Diese Abhängigkeiten lassen sich über alle Beprobungen in der Schussen, aber auch beim Vergleich zeitlich korrespondierender Wertepaare von Schussen und Argen feststellen (siehe Abb. 213).

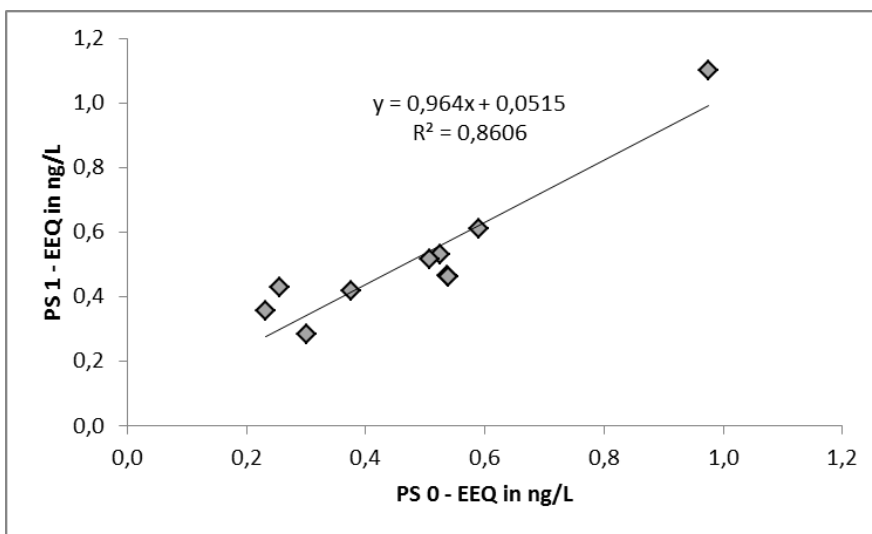


Abb. 212: Schussen. Korrelation der EEQ-Werte korrespondierender Probenahmen. EEQ-PS 1 als Funktion der EEQ-Werte von Probestelle O (Probenahmen K – T)

Eine Gesamtbetrachtung aller EEQ-Werte aus den vorgenommenen Fließgewässeruntersuchungen ist in Abb. 214 dargestellt (aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde ein hoher EEQ-Wert der Probenserie K an P 6 in der Abbildung nicht berücksichtigt). Auch hier wird der Einfluss der äußeren Randbedingungen, der in den Einzugsgebieten von Schussen und Argen gleichzeitig und mit ähnlichen Auswirkungen auftritt, deutlich. Neben den äußeren Einflüssen (Abflussbedingungen etc.) zeigen die auftretenden Übereinstimmungen auch die Korrespondenz der Probenahmen der jeweiligen Kampagnen (K – T).

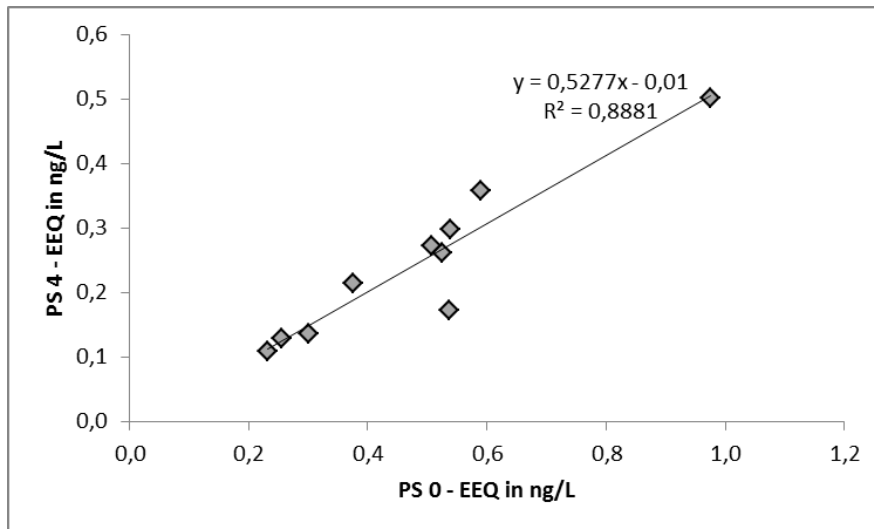


Abb. 213: Schussen und Argen. Korrelation der EEQ-Werte korrespondierender Probenahmen. EEQ-PS 4 (Argen) als Funktion der EEQ-Werte von Probestelle 0 (Schussen, Probenahmen K – T)

Die Art der Probenahme ist hierbei von entscheidender Bedeutung. Im vorliegenden Fall handelt es sich um Stichprobenahmen; nach Erfahrungen aus anderen Projekten sind mit dieser Probenahmeart, die nicht mengenproportional erfolgt, Abhängigkeiten, wie sie in den Abbildungen dargestellt sind, besser zu erfassen. Das Auftragen der EEQ-Werte aus den Beprobungen der Schussen unterhalb der Einleitungsstelle der KA Langwiese (P 3) gegen die mengenproportional genommenen 24h-Mischproben des Ablaufs der KA zeigen aus verschiedenen Gründen (mengenproportional *versus* Stichprobe, Konzentrationstagesgänge im Ablauf der KA, Vorbelastung der Schussen oberhalb Langwiese etc.) keine ausgeprägten Abhängigkeiten (Abb. 215).

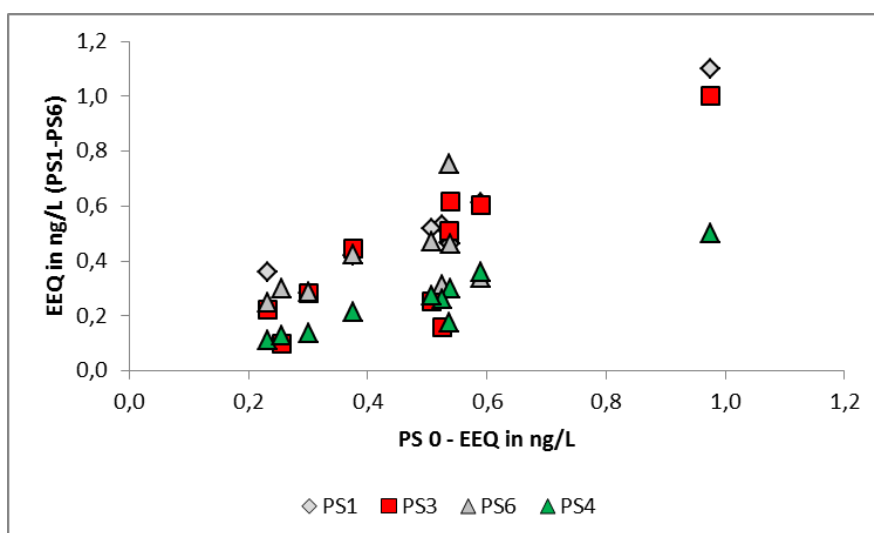


Abb. 214: Schussen und Argen. Korrelation aller EEQ-Werte aus den Fließgewässer-Untersuchungen EEQ-PS 1, -PS 3, -PS 4, -PS 6 als Funktion der EEQ-Werte von PS 0 (Schussen, Probenahmen K – T)

Die äußeren Randbedingungen (saisonale Effekte, Abflussbedingungen) und die Art der Probenahme erschweren damit auf der Basis der vorliegenden Werte - zusammen mit der Verdünnung des in das Gewässer eingeleiteten Abwassers und der Vorbelastung des Gewässers - die Bewertung der Ausbaumaßnahmen an der Kläranlage Langwiese auf die Gewässerqualität der Schussen. Allerdings ergibt sich aus der Reduktion der EEQ-Ablaufkonzentrationen, die durch die Anwendung der weitergehenden Abwasserreinigungstechnologien in Langwiese erzielt werden, schon rechnerisch eine erhebliche Reduktion der Gesamtfrachten, die in die Schussen eingetragen werden.

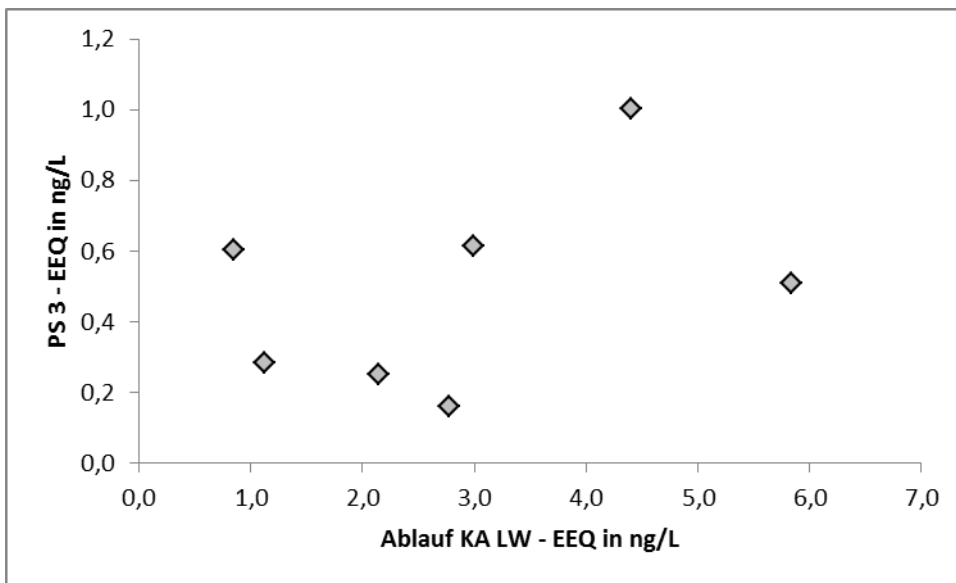


Abb. 215: EEQ-Werte der Probenahmestelle PS 3 (uh KA Langwiese) als Funktion der korrespondierenden Ablaufwerte der KA Langwiese

### *Sedimente*

In keinem der Sedimente, die parallel zu den Oberflächengewässerproben genommen und untersucht wurden, konnte mit dem E-Screen-Assay eine östrogene Aktivität oberhalb der Bestimmungsgrenze des Testsystems für feste Proben ermittelt werden (0,1 ng/g). Mit verschiedenen Extraktions- und Aufreinigungsmethoden, die im Rahmen dieses Projektes getestet wurden, konnte ausgeschlossen werden, dass toxische Effekte zu einer falsch negativen Antwort des biologischen Testsystems führten. Als mögliche Ursachen für dieses Ergebnis können zum einen die Eigenschaften der zur Verfügung gestellten Sedimente herangezogen werden, die eine recht grobe Körnung aufwies, was auf aerobe Bedingungen, hohe mineralische Anteile und niedrige organische Anteile hinweist und damit auf nur geringe Sorption von typischen östrogenaktiven Substanzen schließen lässt. Zum anderen zeigte sich, dass trotz der über 3 liegenden  $\log K_{ow}$ -Werte

(Phasenverteilungskoeffizienten) von z. B. E2 und EE2 die Sorption an in Oberflächengewässern suspendierten Stoffen und Sedimenten bei niedrigen Feststoffkonzentrationen von untergeordneter Bedeutung ist (ähnliches gilt auch für andere organische Mikroverunreinigungen wie z. B. Carbamazepin, das aufgrund seines höheren  $\log K_{ow}$  ebenfalls zur Sorption neigen sollte). Der Parameter  $\log K_{ow}$ , der die Phasenverteilung einer Substanz in zwei flüssigen Phasen beschreibt, erweist sich oftmals als nicht zur Beschreibung des Verhaltens einer Mikroverunreinigung in einem Oberflächengewässer geeignet. Sorptionstendenzen der östrogenaktiven Substanzen, die den mittels E-Screen-Assay ermittelten EEQ generieren, lassen sich allerdings bei KA-Zulaufproben feststellen.

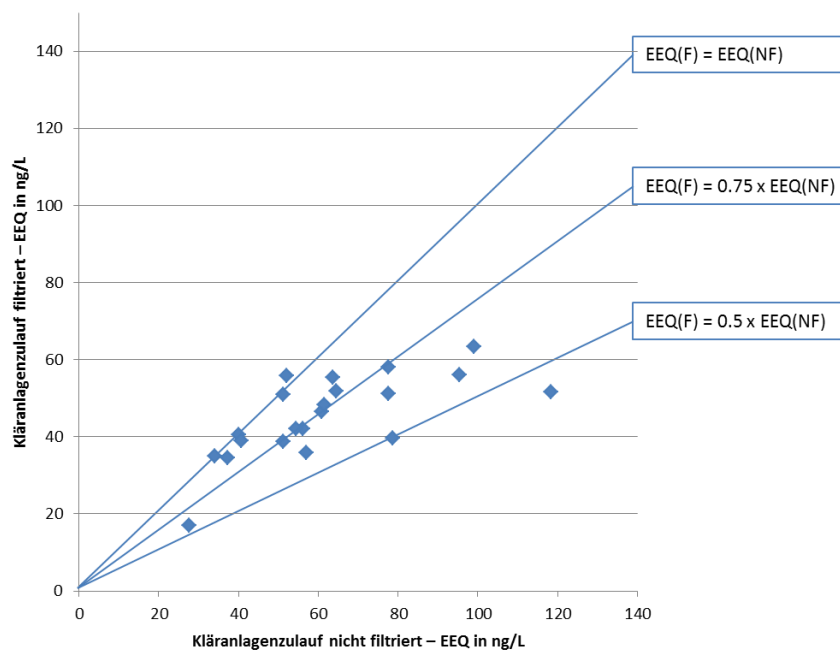


Abb. 216: EEQ-Werte filtrierter Zulaufproben einer kommunalen Kläranlage als Funktion der EEQ-Werte der unfiltrierten Proben

In Abb. 216 sind die EEQ-Werte korrespondierender filtrierter (Zellulosenitrat 0,45 mm) Zulaufproben gegen die EEQ-Werte der unfiltriert untersuchten Proben aufgetragen. Insbesondere bei Proben mit höheren EEQ-Werten sind bis zu 50 % des EEQ an Partikel mit hohem organischem Anteil gebunden, die durch die Filtration entfernt werden. Die Filtration von Oberflächengewässer- und Kläranlagenablaufproben führt aufgrund der geringeren Partikelkonzentrationen zu keiner erheblichen Reduktion der EEQ-Werte (siehe Abb. 217).

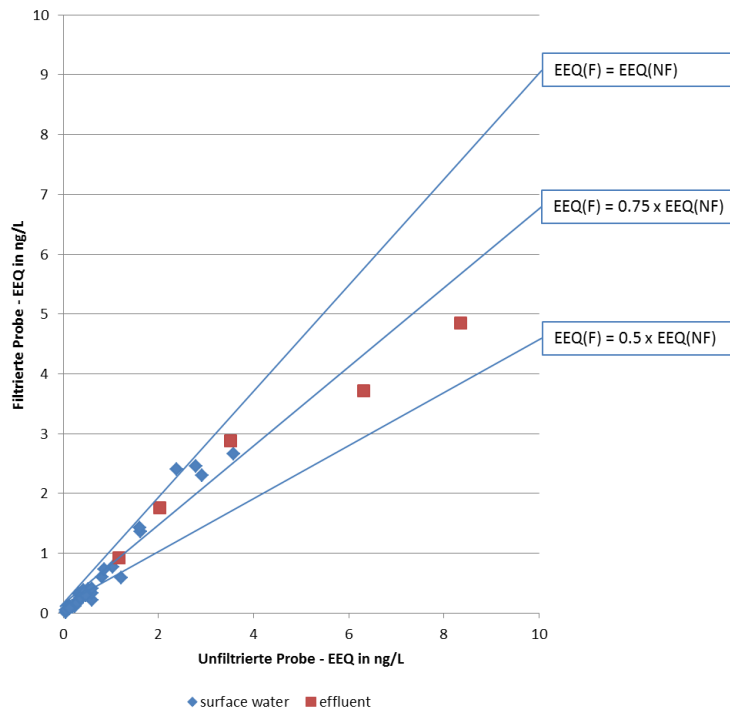


Abb. 217: EEQ-Werte filtrierter Oberflächengewässer- und KA-Ablaufproben als Funktion der EEQ-Werte der unfiltrierten Proben

## Diskussion

Die Oberflächengewässer Schussen und Argen weisen eine auf die Einleitung kommunaler Abwässer zurückzuführende östrogene Aktivität (EEQ in Konzentrationseinheiten der Bezugssubstanz  $17\beta$ -Estradiol) in einem mittleren Konzentrationsbereich von ca. 0,5 ng/L (Schussen) und ca. 0,25 ng/L auf. Die Konzentrationen weisen eine starke Abhängigkeit von den Abflussbedingungen auf; zu erwarten ist allerdings eine gleichbleibende, von der angeschlossenen Siedlungsfläche bzw. von den Einwohnern abhängige Fracht. Eine Abschätzung zeigt, dass die Argen, deren mittlerer Abfluss im Vergleich zur Schussen doppelt so hoch ist, ähnliche Frachten an östrogenen Aktivität in den Bodensee einbringt.

### 4.15.4 Anti-Östrogenität

#### Hefe-basierter Reporterassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Anti-östrogene Wirkpotentiale in den Freilandproben der Schussen und Argen wurden mithilfe des *Yeast Anti Estrogen Screen* (YAES) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. Im Vergleich zu den östrogenen und androgenen Wirkpotentialen

traten in den Extrakten keine anti-östrogenen Wirkpotentiale oberhalb der Nachweisgrenze des Tests auf (Daten nicht dargestellt).

In den nativen Abwasserproben war die anti-östrogene Aktivität an allen Probestellen jedoch deutlich erhöht (Abb. 218). Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese lag die anti-östrogene Aktivität zwischen 29 (PS 6) und 43 % (PS 4). Nach dem Ausbau der Kläranlage konnte die Anti-Östrogenität lediglich an Probestelle 6 signifikant um 50 % reduziert werden. An allen übrigen Probestellen blieb die endokrine Aktivität nahezu unverändert. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da die anti-östrogene Aktivität bereits in den untersuchten Kläranlagen nicht effektiv eliminiert wurde. Da die Anti-Östrogenität lediglich an Probestelle 6 reduziert wurde, lässt sich dieser Effekt nicht auf den Ausbau der Kläranlage Langwiese zurückführen. Wie bei der Untersuchung der Abwasserproben wurde eine Diskrepanz zwischen den nativen und extrahierten Proben festgestellt. Diese könnte durch die selektive Extraktion von Substanzen mittels Festphasenextraktion (SPE) erklärt werden. Möglicherweise handelt es sich bei den (unbekannten) Anti-Östrogenen um sehr polare Substanzen, die nicht mittels SPE angereichert werden konnten und demnach nur in nativen, nicht aber in extrahierten Proben nachgewiesen werden konnten.

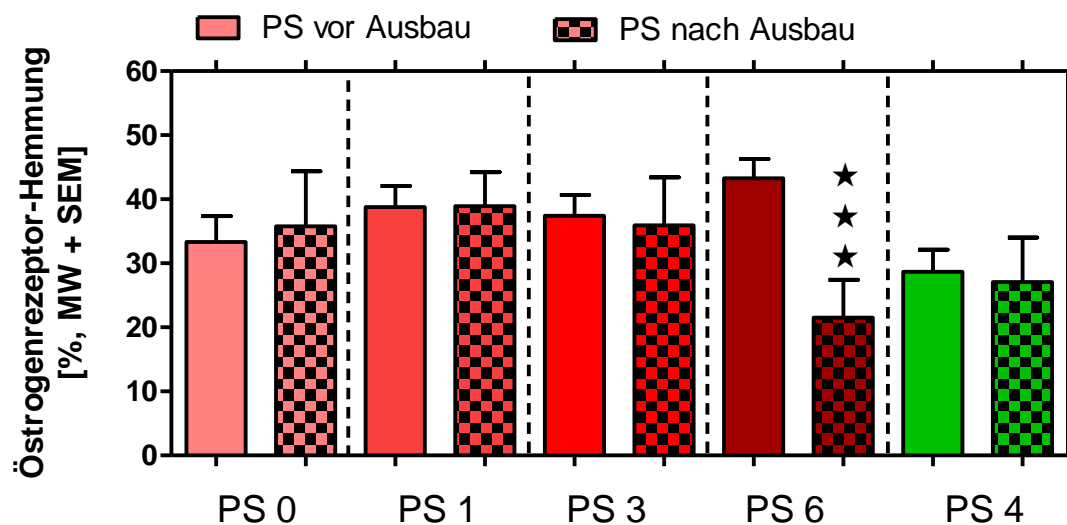


Abb. 218: Anti-östrogene Wirkpotentiale in den nativen Proben der Freilandstellen, ermittelt mit dem *Yeast Anti-Estrogen Screen*. Dargestellt ist die Hemmung des Östrogenrezeptors aller Probenahmen jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★:  $p < 0,01$ , ungepaarter t-Test

## Reportergenassay mit Mammakarzinomzelllinie und HeLa- Zelllinie

Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)

Anti-östrogene Potentiale konnten an der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) nur vor dem Ausbau nachgewiesen werden. An der Argen traten zu keinem Zeitpunkt anti-östrogene Potentiale auf.

### 4.15.5 Androgenität

#### Hefe-basierter Reportergenassay

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)

Androgene Wirkpotentiale in den Freilandproben der Schussen und Argen wurden mithilfe des *Yeast Androgen Screen* (YAS) in nativen und 2,5-fach angereicherten Extrakten untersucht. Wie bei der Untersuchung der östrogenen Wirkpotentiale traten in den nativen Freilandproben keine androgenen Aktivitäten oberhalb der Nachweisgrenze des Tests auf (Daten nicht dargestellt). In den Extrakten lag die androgene Aktivität zwischen 0,09 - 1,62 % (Abb. 219).

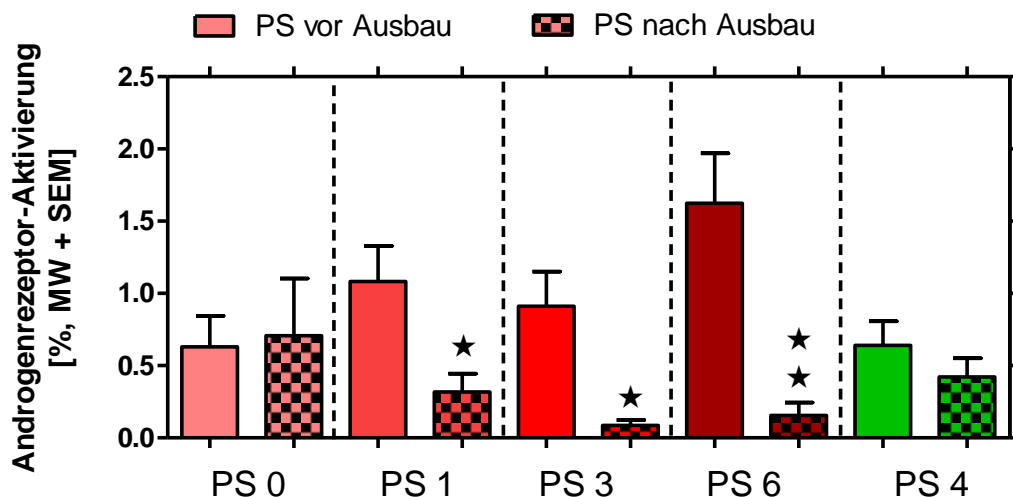


Abb. 219: Androgene Wirkpotentiale in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der Freilandprobestellen, ermittelt mit dem Yeast Androgen Screen. Dargestellt ist die Aktivierung des Androgenrezeptors aller Probenahmen jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★:  $p < 0,01$ , ungepaarter t-Test

Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese variierte die androgene Aktivität in den Freilandproben zwischen 0,63 - 1,62 %. Nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese wurde die androgene Aktivität auf Werte zwischen 0,09 - 0,41 % an den Probestellen PS 1, PS 3, PS 6 und PS 4 teilweise signifikant reduziert. An Probestelle PS 0 erhöhte sich nach dem Ausbau die Aktivität leicht von 0,63 auf 0,71 %. Zwar wurde an PS 3 mit 0,09 % Rezeptoraktivierung die niedrigste androgene Aktivität ermittelt, doch der Rückgang der Androgenität kann wie bei den östrogenen Wirkpotentialen nicht auf den Ausbau der Kläranlage zurückgeführt werden, da diese Tendenz an allen Probestellen, mit Ausnahme von PS 0, beobachtet wurde. Auch hier könnte dieses Ergebnis durch die äußeren Randbedingungen (saisonale Effekte, Abflussbedingungen, etc.), die in den Einzugsgebieten von Schussen und Argen gleichzeitig und mit ähnlichen Auswirkungen auftreten, erklärt werden, was eine Bewertung der Ausbaumaßnahmen der Kläranlage Langwiese erschwert.

### Reporterassay mit MDA-kb2-Zellen

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Androgene Wirkpotentiale wurden an der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) und an der Argen (PS 4) vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese in gleicher Größenordnung nachgewiesen (Abb. 220). Es kam weder an der Schussen, noch an der Argen zu einer Reduktion der androgenen Potentiale.

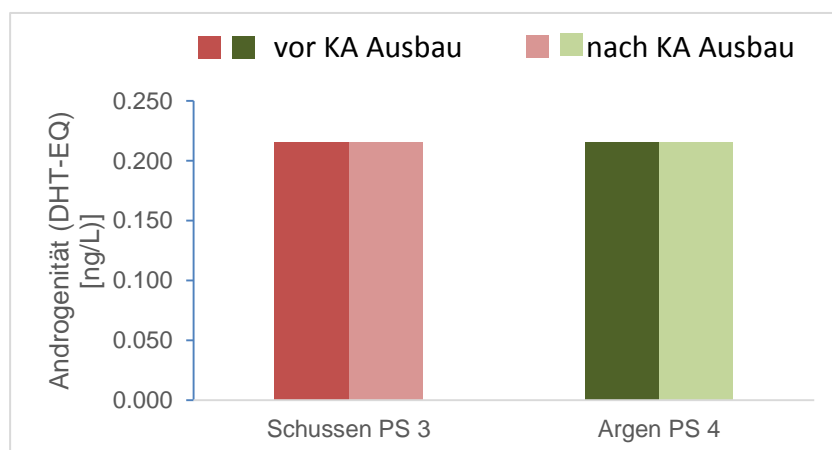


Abb. 220: Androgene Potentiale im Oberflächenwasser der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) und der Argen (PS 4) vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese



## 4.15.6 Anti-Androgenität

### Hefe-basierter Reporter-genassay

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Im *Yeast Anti-Androgen Screen* traten weder in den nativen, noch in den 2,5-fach angereicherten Extrakten der untersuchten Freilandproben anti-androgene Wirkpotentiale auf. Aus diesem Grund kann keine Aussage über eine mögliche Reduktion anti-androgener Wirkpotentiale in den Freilandproben der Schussen und der Referenzstelle an der Argen durch den Ausbau der KA Langwiese getroffen werden.

### Reporter-genassay mit MDA-kb2-Zellen

*Bláha, Beníšek (Recetox, Universität Brno)*

Wie bei den androgenen Potentialen wurden an der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 3) und an der Argen (PS 4) vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese nahezu identische Werte gemessen. Es kam somit nach dem Ausbau zu keiner Reduktion dieser Potentiale.

## 4.16 Biotests *in vivo* (Auswirkungen auf das Gewässer)

### 4.16.1 Phytotoxizität

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Phytotoxische Wirkpotentiale wurden an der Wasserlinse *Lemna minor* in einem Wachstumsinhibitionstest mit einem Wasser-Sediment-Gemisch untersucht. Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese war die Anzahl der Fronds an allen untersuchten Probestellen im Vergleich zur Laborkontrolle zwischen 37 – 51 % reduziert, demnach trat an allen Probestellen ein phytotoxischer Effekt auf (Abb. 221).

Dabei gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Probestellen. Nach dem Ausbau der Kläranlage wurde dieser phytotoxische Effekt an keiner der Probestellen signifikant reduziert. Lediglich an Probestelle 1 konnte eine leichte Reduktion der Phytotoxizität um 7 % beobachtet werden, während an den Probestellen 0, 3 und 4 die Anzahl der Fronds unverändert blieb. An Probestelle 6 nahm die Anzahl der Fronds im Vergleich zur Situation vor dem Ausbau der Kläranlage dagegen signifikant ab. Die Verschlechterung an Probestelle 6 bzw. die minimale Verbesserung an Probestelle 1 kann

erneut nicht direkt auf den Ausbau der Kläranlage zurückgeführt werden, da sich die Phytotoxizität an der von der Kläranlage 15 km entfernten Probestelle 3 nicht veränderte.

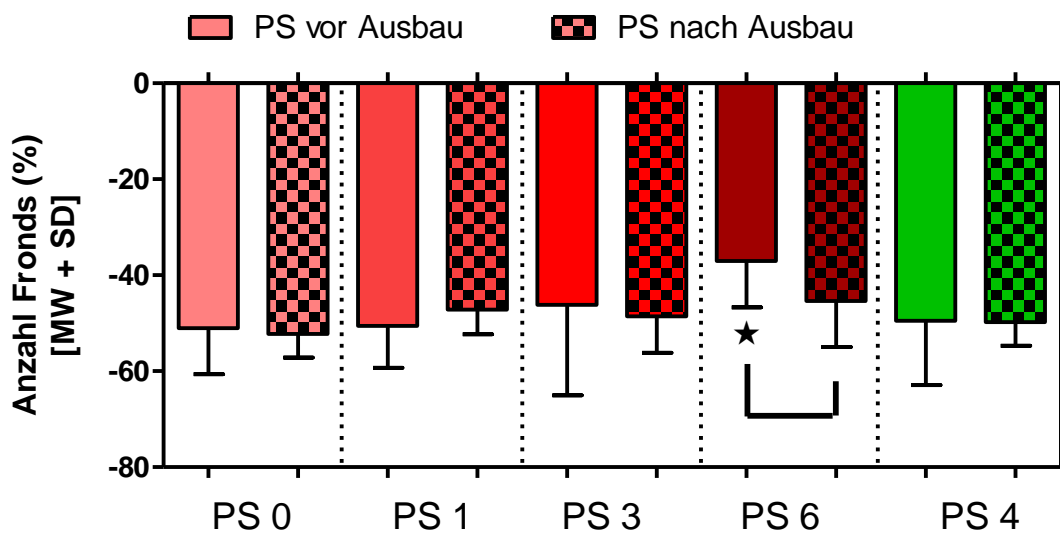


Abb. 221: Phytotoxische Wirkpotentiale in den Freilandprobestellen im Wasser-Sediment-Gemisch, ermittelt mit dem Wachstumsinhibitionstest mit *Lemna minor*. Dargestellt ist die relative Abweichung der Anzahl der Fronds aller Probenahmen nach 7 Tagen im Vergleich zur Laborkontrolle, jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardabweichung (SD). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★★, ungepaarter t-Test

#### 4.16.2 Entwicklungstoxizität beim Fisch (Fisch-Embryotoxizitätstest mit dem Zebrafisch *Danio rerio*; FET)

Thellmann, Tribskorn (Universität Tübingen)

Bei der Untersuchung der Sediment- und Oberflächenwasserproben aus dem Freiland waren Veränderungen nach dem Ausbau zu erkennen. Sowohl bei der Mortalität als auch beim Endpunkt Schlupfrate konnte bei Embryonen, die gegenüber Proben der Probestellen 3 und 6 (unterhalb der KA Langwiese) exponiert wurden, eine signifikante Verbesserung beobachtet werden (Abb. 222 und 223). Im Gegensatz hierzu kam es bei Embryonen, die gegenüber Proben der Probestellen 0 und 1 (oberhalb der KA Langwiese) exponiert wurden, nach dem Ausbau der KA Langwiese zu einer Erhöhung der Mortalitätsrate (Abb. 222) und einer Reduktion der Schlupfrate (Abb. 223). Am Referenzgewässer Argen war bezüglich der Mortalität (Abb. 222) ebenfalls eine leichte Verbesserung festzustellen, welche jedoch statistisch nicht belegt werden konnte. Beim Endpunkt Entwicklungsdefizite, welcher 24 Stunden nach Befruchtung der Embryonen erfasst wird, konnte nach dem Ausbau der KA Langwiese ebenfalls eine deutliche Reduktion in Proben der Probestellen 3 und 6 ermittelt

werden (Abb. 224). Jedoch war diese Reduktion der Effekte auch in den Proben der anderen untersuchten Probestellen zu beobachten (Abb. 224).

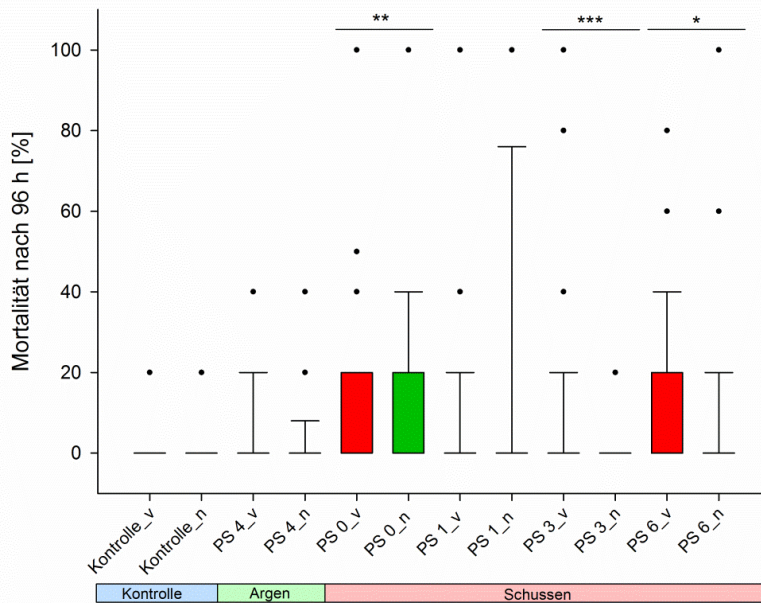


Abb. 222: Mortalitätsraten der exponierten Zebraäbrblingsembryonen nach 96-stündiger Exposition gegenüber Sediment- und Oberflächenwasserproben der untersuchten Freilandprobestellen: v = vor Ausbau der KA Langwiese; n = nach Ausbau der KA Langwiese. Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Likelihood Ratio Tests ausgewertet

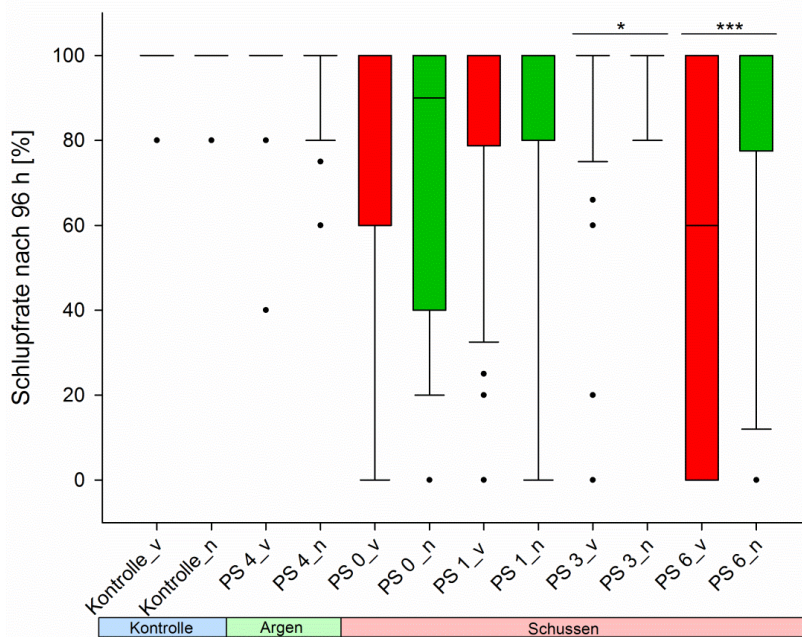


Abb. 223: Schlupfraten der exponierten Zebraäbrblingsembryonen nach 96-stündiger Exposition gegenüber Sediment- und Oberflächenwasserproben der untersuchten Freilandprobestellen: v = vor Ausbau der KA Langwiese; n = nach Ausbau der KA Langwiese. Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Likelihood Ratio Tests ausgewertet

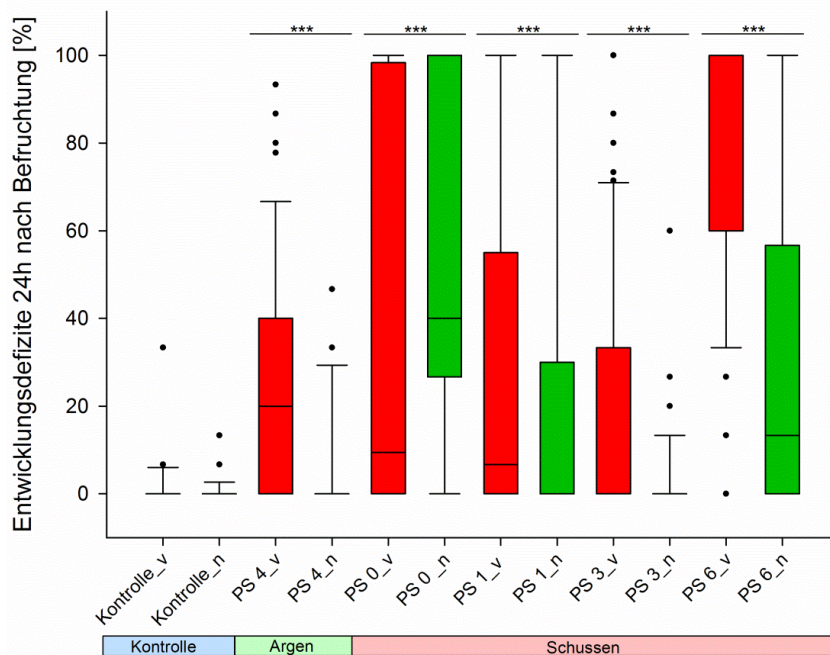


Abb. 224: Rate der Entwicklungsdefizite (24 h nach Befruchtung) bei Zebrafischembryonen während Exposition gegenüber Sediment- und Oberflächenwasserproben der untersuchten Freilandprobestellen: v = vor Ausbau der KA Langwiese; n = nach Ausbau der KA Langwiese. Die kombinierten Daten aus acht Probenahmen wurden mit Hilfe des Likelihood Ratio Tests ausgewertet

## Diskussion

Sedimente besitzen durch ihre organischen und anorganischen Bestandteile eine große Anzahl an Bindungsstellen für Schadstoffe (Gerbersdorf et al. 2009; Hollert et al. 2003), wodurch Sie sowohl als Senken neuer Schadstoffe als auch als Quellen bereits gebundener Substanzen dienen können (Brinkmann et al. 2010). Schadstoffe können sich so langfristig an Sedimentpartikel anlagern und die Entwicklung von Organismen negativ beeinflussen, wenn sie mit diesen in Verbindung kommen. Bei der Untersuchung von Sediment- und Oberflächenwasserproben der Flüsse Schussen und Argen konnte nach dem Ausbau der KA Langwiese eine deutliche Reduktion der Effekte in den Proben der Probestellen PS 3 und PS 6 (unterhalb der KA Langwiese) an der Schussen nachgewiesen werden, wohingegen eine Verschlechterung in den Proben der Probestellen PS 0 und PS 1 (oberhalb der KA Langwiese) auftrat. Die chemischen Analysen zeigen, dass die Sedimentproben Pharmazeutika, Rückstände aus Waschlösungen, Weichmacher, diverse polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe und viele andere Stoffe enthielten. Die kombinierte Wirkung dieser Stoffe ist mit hoher Wahrscheinlichkeit einer der Hauptverantwortlichen in Bezug auf die beobachteten Effekte. Die negativen Effekte der oben genannten Verbindungen sind in der Literatur ausführlich beschrieben. So konnten beispielsweise Incardona et al. (2004)

sowie Perrichon et al. (2014) negative Auswirkungen von persistenten polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen auf die Entwicklung von Zebrabärblingen beobachten.

Bei der Untersuchung der Freilandproben sowie der Abwasserproben der KA Langwiese wurde nach dem Ausbau der Kläranlage eine Reduktion der Effekte im Ablauf der KA Langwiese selbst sowie an den Probestellen unterhalb der Kläranlage beobachtet. Dass die Unterschiede zwischen vor und nach dem Ausbau der KA Langwiese im Freiland größer waren, lässt sich damit erklären, dass Sedimente Belastungen über einen längeren Zeitraum integrieren können als Abwässer. Somit geben Sedimente ein klareres Bild über die Belastung mit Abwässern wieder. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen mit dem Fisch-Embryo-Test deuten auf eine Verbesserung der Sedimentqualität und damit auch auf eine reduzierte Belastung hin, welche auf den Ausbau der KA Langwiese in Ravensburg zurückgeführt werden kann.

#### **4.16.3      Entwicklungstoxizität beim Glanzwurm *Lumbriculus variegatus***

*Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)*

Im Wachstums- und Fortpflanzungstest mit dem Glanzwurm *Lumbriculus variegatus* wurden in Wasser-Sediment-Gemischen entwicklungstoxische Wirkpotentiale ermittelt. Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese schwankte die Anzahl der Würmer zwischen -8 und +17 % um die Negativkontrolle (Abb. 225). Dabei gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Probestellen.

So konnten mit Hilfe dieses Tests keine entwicklungstoxischen Wirkpotentiale nachgewiesen werden. Nach dem Ausbau der Kläranlage war die Anzahl der Glanzwürmer jedoch an allen Probestellen (mit Ausnahme von PS 1) zwischen 9 und 29 % signifikant im Vergleich zur Situation vor dem Ausbau reduziert. Dieses Auftreten von entwicklungstoxischen Wirkpotentialen lässt sich wieder nicht direkt auf den Ausbau der Kläranlage Langwiese zurückführen, da dieser Effekt an allen Probestellen an der Schussen sowie am Referenzgewässer Argen zu beobachten war. Auch hier könnte dieses Ergebnis durch die äußeren Randbedingungen (Saisonale Effekte, Abflussbedingungen, etc.), die in den Einzugsgebieten von Schussen und Argen gleichzeitig und mit ähnlichen Auswirkungen auftreten, erklärt werden.

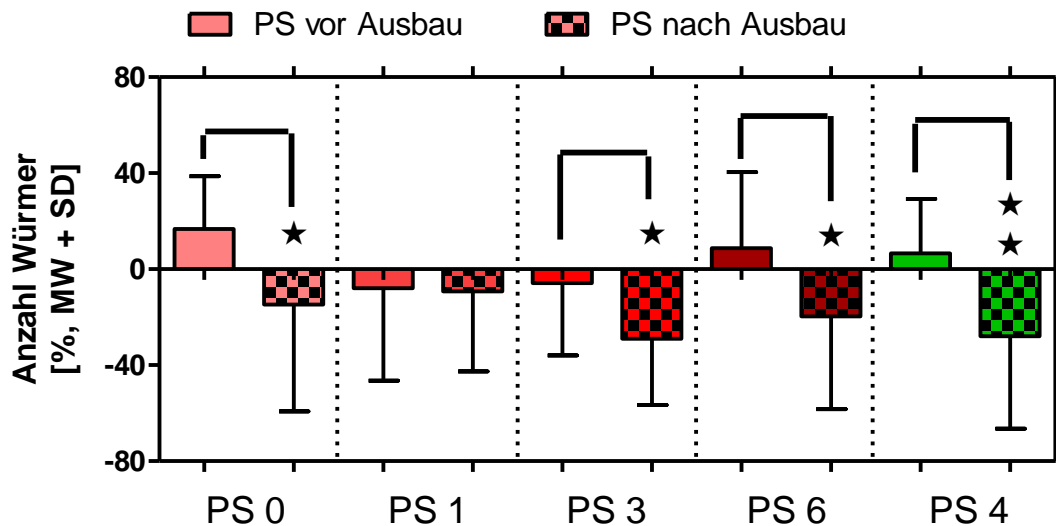


Abb. 225: Entwicklungstoxische Wirkpotentiale in den Freilandprobestellen im Wasser-Sediment-Gemisch, ermittelt mit dem Entwicklungstoxizitätstest mit *Lumbriculus variegatus*. Dargestellt ist die relative Abweichung der Anzahl der Würmer aller Probenahmen nach 28 Tagen im Vergleich zur Laborkontrolle, jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardabweichung (SD). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★:  $p < 0,01$ , ungepaarter t-Test

#### 4.16.4 Reproduktionstoxizität bei der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum*

Giebner, Oehlmann (Universität Frankfurt am Main)

Reproduktionstoxische Wirkpotentiale wurden in einem Wasser-Sediment-Gemisch ermittelt. Vor dem Ausbau der KA Langwiese war die Anzahl der Embryonen im Vergleich zur Negativkontrolle in allen Freilandproben um 28 – 54 % erhöht (Abb. 226). Dabei gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probestellen. Nach dem Ausbau der Kläranlage zeigte sich ein gegenläufiges Bild, da die Anzahl der Nachkommen in allen Freilandproben (mit Ausnahme von PS 3) im Vergleich zur Negativkontrolle um 7 – 31 % verringert war. Damit ging die Reproduktionsleistung der Schnecken auf das Niveau der Negativkontrolle zurück.

Der reproduktionsfördernde Effekt vor dem Ausbau der Kläranlage deutet auf die Belastung mit (Xeno-)Östrogenen in den Gewässern Schussen und Argen hin, die nach dem Ausbau reduziert wurde. Der Zusammenhang zwischen einer erhöhten Embryonenzahl bei *P. antipodarum* unter Anwesenheit von (Xeno-)Östrogenen, wie Bisphenol A und 17 $\alpha$ -Ethinylestradiol, wurde bereits in einigen Studien aufgezeigt (Duft et al. 2003; Galluba und Oehlmann 2012; Jobling et al. 2004). Dieser *In-vivo*-Befund stimmt mit der verringerten östrogenen Aktivität im YES-Test in den Freilandproben nach dem Ausbau der Kläranlage

überein und wird damit durch die *In-vitro*-Ergebnisse gestützt. Allerdings ist der Zusammenhang zwischen einer östrogenen Aktivität *in vitro* und der Erhöhung der

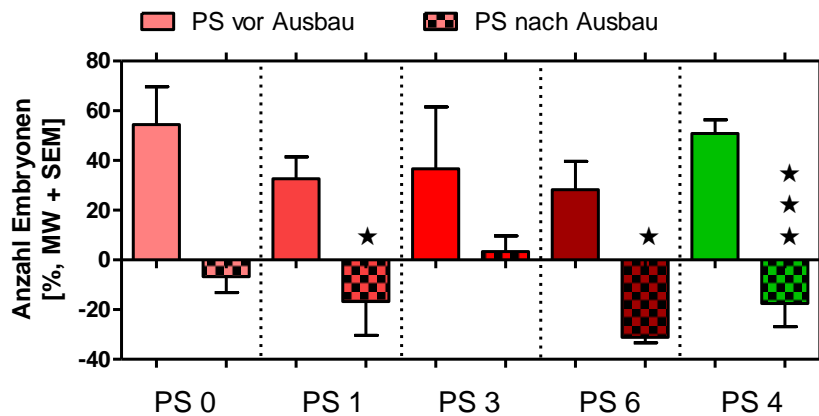


Abb. 226: Reproduktionstoxische Wirkpotentiale in den Freilandprobestellen im Wasser-Sediment-Gemisch, ermittelt mit dem Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Dargestellt ist die relative Veränderung der Embryonenzahl aller Probenahmen nach 28 Tagen im Vergleich zur Laborkontrolle, jeweils vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese als Mittelwert (MW) + Standardfehler (SEM). Signifikante Unterschiede zwischen den Proben vor und nach dem Ausbau: ★:  $p < 0,05$ , ★★:  $p < 0,01$ , ★★★:  $p < 0,001$ , ungepaarter t-Test

Reproduktion bei Schnecken *in vivo* nicht vollständig aufgeklärt (Bannister et al. 2007; Stange et al. 2012). Da der reproduktionsfördernde Effekt an allen Probestellen, einschließlich der Argen, reduziert wurde, lässt sich dieser Effekt erneut nicht ausschließlich auf den Ausbau der Kläranlage Langwiese zurückführen.

## 4.17 Wirkungen bei Fischen (Expositionen in Käfigen und Fluss-Bypässen, Freilandfische)

### 4.17.1 Histopathologische Untersuchungen

Wilhelm, Maier, Tribskorn (Universität Tübingen)

#### Qualitative Beschreibung

Nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese traten in den Lebern exponierter und aus dem Freiland entnommener Fische größere und hellere Zellen auf, die mehr Glykogen gespeichert hatten. Vakuolisierungen und *Cloudy Swelling* waren seltener, ebenso die Zahl der Entzündungen. Bindegewebe konnte nur noch selten beobachtet werden und Nekrosen waren selten bis nicht mehr vorhanden. In den Nieren waren die Tubuli seltener dilatiert und das hämatopoetische Gewebe weniger stark reduziert. Makrophagen waren selten und die

Tubuli wiesen weniger Vakuolisierungen und hyalintropfige Proteinspeicherungen auf. Erweiterungen des Bowman'schen Raumes der Glomeruli waren schwächer ausgeprägt und Nekrosen traten, wie in der Leber, seltener oder gar nicht mehr auf. Geringere Hyperplasien und Hypertrophien bei Pflaster- und Chloridzellen stellten Verbesserungen in der Kiemenhistologie dar. Dies führte zu weniger Fusionen der Sekundärlamellen im Vergleich zu der Situation vor dem Ausbau. Die Anzahl an Schleimzellen war reduziert und *Epithel Lifting* sowie Makrophagenaggregationen waren seltener. Aneurismen konnten nur noch vereinzelt festgestellt werden. Auch in den Kiemen war die Summe der Nekrosen verringert bzw. traten Nekrosen nicht mehr auf.

### Semi-quantitative Bewertung

#### *Freilandfische (Döbel und Schneider)*

In den Lebern der aus der Schussen entnommenen Döbel konnte eine signifikante Verbesserung des Gesundheitszustands unterhalb der Kläranlage Langwiese nachgewiesen werden (Abb. 227), Auch die Kiemen und Nieren der Döbel sowie die Leber- und Nierenproben der Schneider waren unterhalb der Kläranlage Langwiese nach der Installation der zusätzlichen Reinigungsstufe in einem signifikant besseren Zustand. Allerdings zeigten diese Gewebe auch an den Referenzstellen, das heißt oberhalb der Kläranlage bzw. an der Argen, eine Verbesserung.

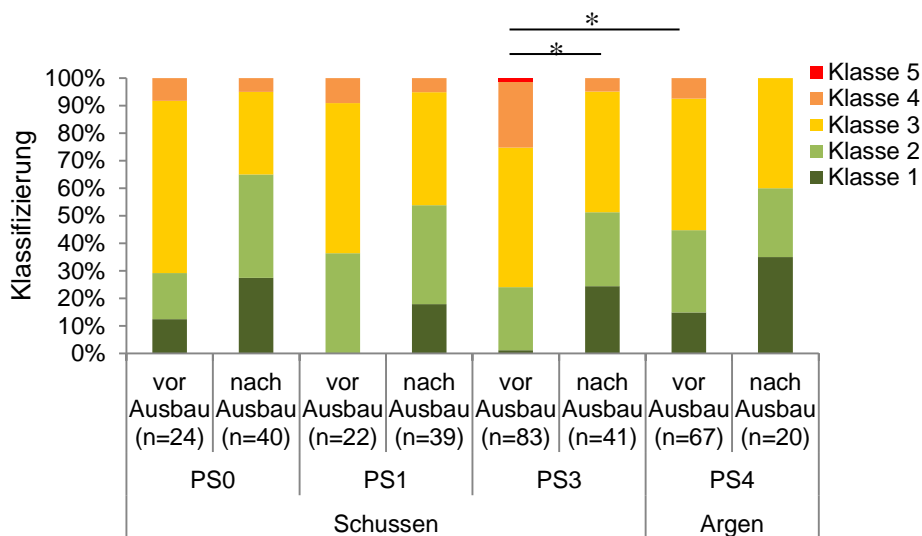


Abb. 227: Ergebnis der histopathologischen Untersuchungen der Leberproben von Döbeln aus dem Freiland. Dargestellt sind die Anteile der Proben (%) in den 5 Klassen (Klasse 1: Kontrollzustand, Klasse 2: leichte Reaktion, Klasse 3: Reaktion, Klasse 4: beginnende Destruktion, Klasse 5: Destruktion) an der jeweiligen Probestelle. PS 0: oberhalb RÜB, PS 1: unterhalb RÜB, PS 3: unterhalb KA Langwiese, PS 4: Argen. \*: signifikante Unterschiede



### Käfigexpositionen an der KA Langwiese (Regenbogenforellen)

Regenbogenforellen, die in Käfigen oberhalb und unterhalb der Kläranlage Langwiese exponiert wurden, zeigten nach dem Ausbau eine signifikante Verbesserung in den Kiemen (Abb. 228). In den anderen Organen konnten keine Veränderungen festgestellt werden.

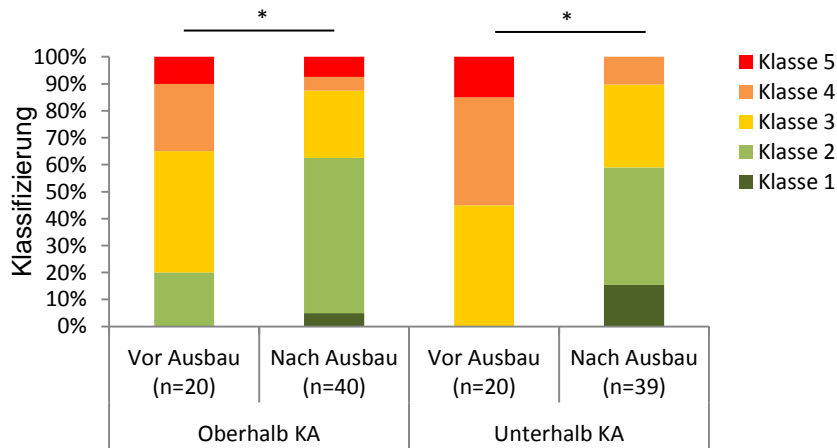


Abb. 228: Ergebnis der histopathologischen Untersuchungen der Kiemenproben von Regenbogenforellen aus den Käfig-Expositionen. Dargestellt sind die Anteile der Proben (%) in den 5 Klassen (Klasse 1: Kontrollzustand, Klasse 2: leichte Reaktion, Klasse 3: Reaktion, Klasse 4: beginnende Destruktion, Klasse 5: Destruktion) an der jeweiligen Probestelle. \*: signifikante Unterschiede

### Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)

Bei den Bypass-Expositionen konnte in den Leberproben von Regenbogenforellen eine signifikante Verbesserung an der Schussen im Vergleich zur Argen nachgewiesen werden

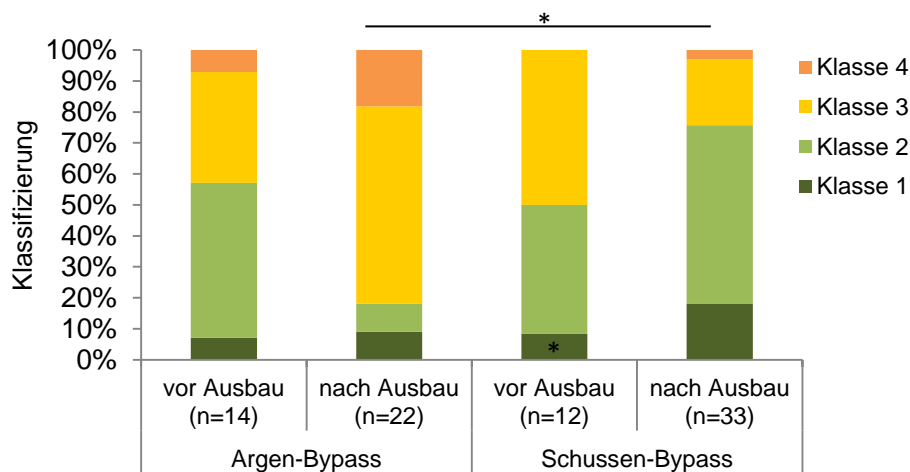


Abb. 229: Ergebnis der histopathologischen Untersuchungen der Leberproben von Regenbogenforellen aus den Bypass-Expositionen. Dargestellt sind die Anteile der Proben (%) in den 5 Klassen (Klasse 1: Kontrollzustand, Klasse 2: leichte Reaktion, Klasse 3: Reaktion, Klasse 4: beginnende Destruktion, Klasse 5: Destruktion) an der jeweiligen Probestelle. \*: signifikante Unterschiede

(Abb. 229). Die im Schussen-Bypass exponierten Bachforellen zeigten eine Verbesserung der Leberstruktur im Vergleich zu der Situation vor dem Ausbau.

## Diskussion

Es ist bekannt, dass sich Spurenstoffe, wie Arzneimittel, Schwermetalle oder perfluorierte Tenside negativ auf die Integrität verschiedener Gewebe von Fischen auswirken können (Ahmed et al. 2013; Bucher und Hofer 1993; Evans 1987; Giari et al. 2015; Griffitt et al. 2007; Martinez et al. 2004; Mazon et al. 2002; Mishra und Mohanty 2008; Pelgrom et al. 1995; Pratap und Wendelaar Bonga 1993; Schwaiger et al. 2004; Schwaiger 2001; Tao et al. 2000; Tribskorn et al. 2004; Tribskorn et al. 2007; Tribskorn et al. 2008; Varanasi und Markey 1978). Schädigungen in den Organen wurden ebenfalls generell bei Fischen aus verschmutzten Flüssen gefunden (Bucher und Hofer 1993; Gernhöfer et al. 2001; Johnsen et al. 1998; Schmidt-Posthaus et al. 2001; Schmidt et al. 1999; Schramm et al. 1998; Schwaiger 2001; Schwaiger et al. 1997; Tribskorn et al. 2002; Tribskorn et al. 1997), (Barišić et al. 2015; Fonseca et al. 2016; Pereira et al. 2013; Silva und Martinez 2007). Chemisch analytisch konnte eine Reduktion verschiedener, möglicherweise für die histologischen Veränderungen verantwortlicher Stoffe nachgewiesen werden. So traten Arzneimittel, wie das Antiepileptikum Carbamazepin oder der Betablocker Metoprolol nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese im Ablauf und im Oberflächenwasser unterhalb der Kläranlage in geringeren Konzentrationen auf. Auch die Konzentrationen des Entzündungshemmers Diclofenac waren nach Aufrüstung der Kläranlage deutlich reduziert. Auch konnte Diclofenac vor Ausbau noch in Regenbogenforellen, die in einem Käfig unterhalb des Kläranlagenablaufs exponiert waren, detektiert werden. Nach dem Ausbau lag die Konzentration in den Fischen jedoch unterhalb der Bestimmungsgrenze. Zusätzlich kam es durch jahresspezifische Einflüsse auch zu Verbesserungen am Referenzgewässer sowie an Referenzstellen oberhalb der Kläranlage. Diese waren jedoch weniger stark ausgeprägt als die Verbesserungen unterhalb des Kläranlagenablaufs, wodurch die Effizienz der vierten Reinigungsstufe hinsichtlich der Verbesserung der Gewebeintegrität dennoch deutlich wird.

### 4.17.2 Glykogenanalysen

*Rault, Suchail (Universität Avignon)*

Die Messwerte für Glykogen waren insgesamt sehr variabel und zeigten kein einheitliches Bild. Die Variabilität in den Lebern von Döbeln war sehr viel größer als diejenige bei Regenbogenforellen aus den Bypässen (Abb. 230). Bei Döbeln traten keine signifikanten Unterschiede weder zwischen den Probestellen noch zwischen den Jahren auf (Abb. 230A).

An der Argen fiel ein tendenziell geringerer Glykogengehalt im Jahre 2014 im Vergleich zu 2012 auf. Bei den an den Bypässen exponierten Forellen (Abb. 230B) waren vor Ausbau der Kläranlage keine Unterschiede zwischen den drei getesteten Gruppen (Kontrolle, Schussen, Argen) zu beobachten. Nach Ausbau der Kläranlage zeigten die Kontrollen und die an der Schussen exponierten Tiere ähnliche Werte, die Lebern der an der Argen exponierten Tiere enthielten allerdings signifikant weniger Glykogen. Sowohl bei Döbeln als auch bei Schneidern findet man somit eine Abnahme des Glykogengehalts in den Lebern der Fische im Jahre 2014, was auf ein erhöhtes Stresslevel der Tiere in der Argen hindeutet. Dies ist vor dem Hintergrund von Interesse, dass bei den im Rahmen von SchussenAktivplus an der Argen durchgeführten Befischungen mit fortschreitender Zeit zunehmend weniger Fische gefangen wurden und auch im Rahmen eines anderen Projektes eine negative Entwicklung des Fischbestands an der Argen gezeigt werden konnte (Tribskorn 2013).

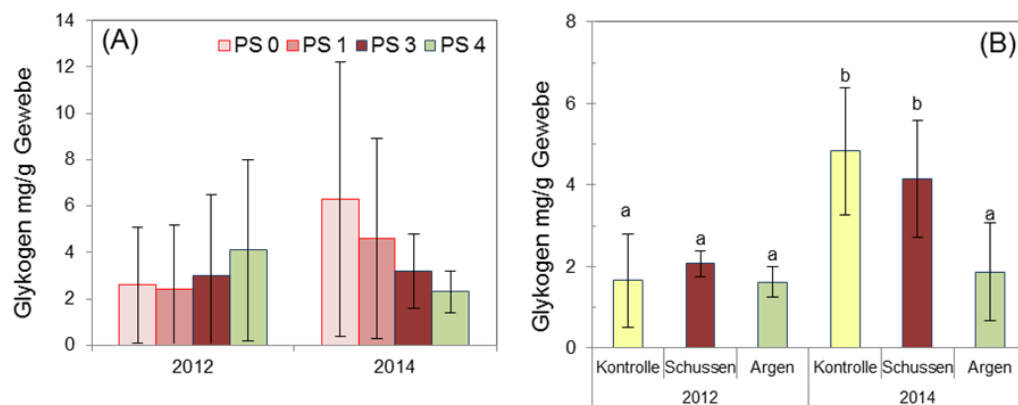


Abb. 230: Glykogengehalt (mg/g Gewebe) in Leberproben von (A) Döbeln und (B) Regenbogenforellen aus der Bypassexposition. Balken mit denselben Buchstaben sind bei einem Signifikanzlevel von 5% nicht signifikant voneinander verschieden

### 4.17.3 Stressproteinanalysen

*Wilhelm, Henneberg, Tribskorn (Universität Tübingen)*

*Freilandfische (Döbel und Schneider)*

Die statistischen Analysen der Hsp70-Level von Döbeln, die im Freiland beprobt wurden, zeigen, dass das Beprobungsjahr Stressproteine stärker beeinflusst als der Kläranlagenausbau. Dies wurde besonders in den untersuchten Nierenproben (Abb. 231), sowie in den analysierten Leberproben deutlich.

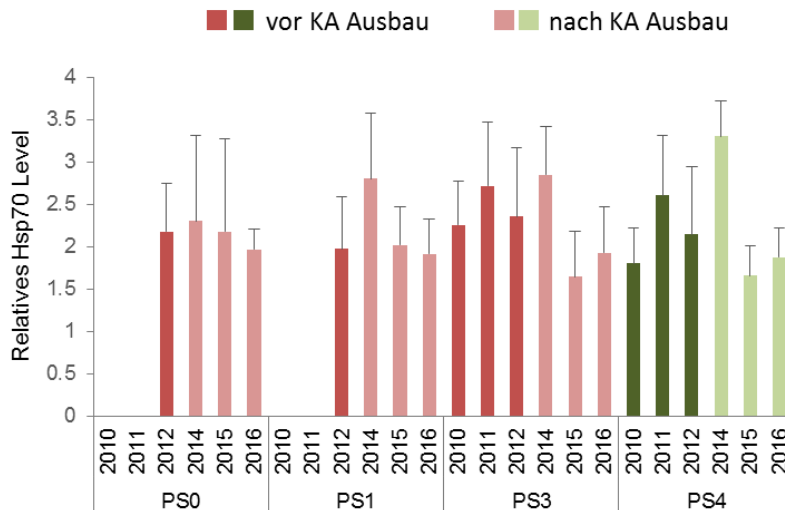


Abb. 231: Hsp70 Level von Döbeln aus dem Freiland. Mittelwerte + Standardabweichung der analysierten Nierenproben abhängig von Probestelle und Jahr (2010-2012 vor dem KA Ausbau und 2014-2016 nach dem KA Ausbau). PS 0: oberhalb RÜB, PS 1: unterhalb RÜB, PS 3: unterhalb KA Langwiese, PS 4: Argen. Signifikante Unterschiede zwischen den Jahren: 2010-2011, 2010-2014, 2011-2012, 2011-2015, 2011-2016, 2012-2014, 2014-2015, 2014-2016

Dort zeigte die zweifaktorielle ANOVA, dass die Jahre einen signifikanten Effekt auf die Hsp70-Level ausübten und dass dieser Effekt unabhängig von den Probestellen war; das heißt zwischen den Probestellen traten keine signifikanten Unterschiede auf, jedoch zwischen den einzelnen Jahren. Die Hsp70-Level in den Kiemen wurden weder durch die Jahre noch die Probestellen signifikant beeinflusst.

Auch in den untersuchten Nieren- und Leberproben von Schneidern zeigten die statistischen Analysen, dass die jahresspezifischen Effekte den größten Einfluss auf die gemessenen Hsp70-Level hatten. Signifikante Unterschiede zwischen Probestellen konnten nur im Jahr 2010 in den Nierenproben festgestellt werden. Hier wurden höhere Hsp70-Level an der Probestelle PS 3 im Vergleich zur PS 4 gemessen. In den untersuchten Kiemenproben konnte weder ein Einfluss der Jahre noch der Probestellen auf die Hsp70-Level festgestellt werden.

Effekte durch das RÜB, das zwischen den Probestellen PS 0 und PS 1 liegt, konnten weder bei den Döbeln noch bei den Schneidern festgestellt werden.

#### *Käfigexpositionen an der KA Langwiese (Regenbogenforellen)*

Vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese konnten in Lebern von Regenbogenforellen, die in Käfigen oberhalb und unterhalb des Kläranlagenablaufs exponiert wurden, keine Unterschiede hinsichtlich der Hsp70-Gehalte detektiert werden; lediglich im Vergleich zur Kontrolle waren die Hsp70-Level in Tieren aus beiden Käfigen leicht erniedrigt (Abb. 232).

Nach dem Ausbau verstärkte sich dieser Effekt in den Fischen, die unterhalb der Kläranlage exponiert waren: der Stressproteingehalt in der Leber war hier im Vergleich zu Kontrolltieren und zu Fischen aus dem Käfig oberhalb signifikant niedriger. Die Hsp70-Level in den Kiemen der Regenbogenforellen zeigten die gleichen Tendenzen. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant. In den Nieren wurden keine Unterschiede festgestellt.

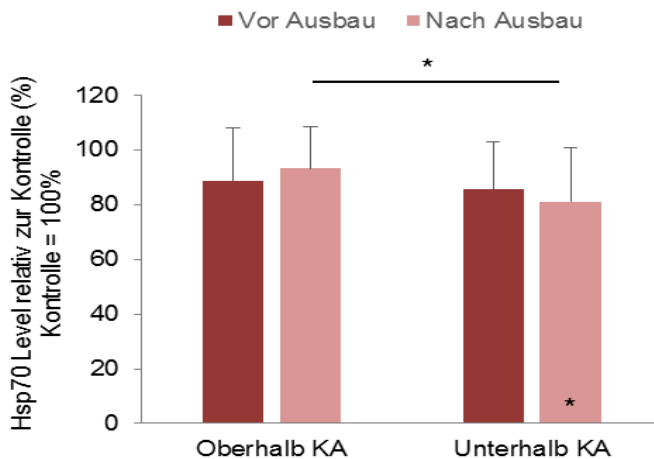


Abb. 232: Hsp70-Level (%) in Leberproben von Regenbogenforellen aus den Käfig-Expositionen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*=signifikante Unterschiede; \* in Balken: signifikanter Unterschied zur Kontrolle. Oberhalb KA/vor Ausbau: n=18, nach Ausbau: n=39; Unterhalb/vor Ausbau: n=17, nach Ausbau: n=39

### *Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)*

In Leberproben von Regenbogenforellen, die in den Bypass-Aquarien exponiert worden waren, konnte nach Ausbau eine signifikante Verringerung des Hsp70-Gehalts festgestellt werden.

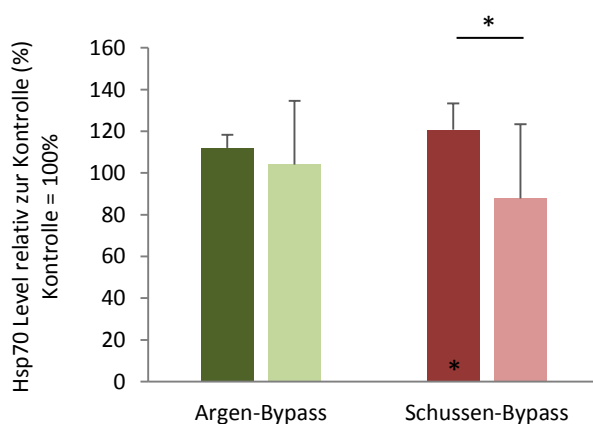


Abb. 233: Hsp70-Level (%) in Nierenproben von Bachforellen aus den Bypässen an Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*=signifikante Unterschiede; \* in Balken: signifikante Unterschiede zur Kontrolle. Argen/vor Ausbau: n=29, nach Ausbau: n=26; Schussen/vor Ausbau: n=47, nach Ausbau: n=33

In den analysierten Kiemen- und Nierenproben konnten weder zwischen den beiden Bypässen noch im Vergleich zu vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese Unterschiede in den Hsp70-Leveln detektiert werden. Auch in den Kiemen und Lebern der exponierten Bachforellen traten keine signifikanten Unterschiede im Hsp70-Gehalt auf. Jedoch konnte in den Nieren von Bachforellen aus dem Schussen-Bypass eine signifikante Reduktion des Hsp70-Levels festgestellt werden (Abb. 233).

## Diskussion

Um die Ergebnisse der Stressproteinanalysen richtig zu interpretieren, ist es wichtig, die Kinetik dieses Biomarkers zu beachten. Hsp70-Level folgen einer Optimumskurve, das heißt ein Ansteigen von proteotoxischen Stressoren führt zunächst auch zu einem steigenden Gehalt an Hsp70 in den Zellen. Das Stressprotein-System versucht durch vermehrte Bildung von Hsp70 mit den Stressoren fertig zu werden. Übersteigt die Stressintensität jedoch ein bestimmtes Maß, kommt es zur Überlastung des Hsp70-Systems bzw. zu zellulären Schädigungen und der Stressproteinlevel sinkt wieder. Für die Interpretation ist es also wichtig festzustellen, ob sich der ermittelte Hsp70-Level links oder rechts in der Optimumskurve befindet. Hierzu können die Ergebnisse mit einem strukturellen Biomarker, wie die im Projekt angewandte Histopathologie (siehe Kap. 4.17.1) verglichen werden. Zeigen die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen starke Schädigungen in den Zellen, ist davon auszugehen, dass die Hsp70-Level das Optimum der Reaktionskurve bereits überschritten haben, das heißt der Wert liegt höchstwahrscheinlich im rechten Bereich der Optimumskurve. Treten kaum Schädigungen auf, sind die Hsp70-Level im linken Bereich der Kurve einzuordnen. Da in den histologischen Untersuchungen nur sehr selten stärkere Schädigungen zu sehen waren, wurden die meisten gemessenen Stressproteinlevel in den linken Bereich der Optimumskurve eingeordnet. Hsp70 ist ein Biomarker, der über alle proteotoxischen Effekte integriert. Somit können sich nicht nur proteotoxische Substanzen, sondern auch pH-Wert, Temperatur, Krankheiten und saisonale/jahresspezifische Schwankungen auf die Hsp70-Level auswirken (Duffy et al. 1999; Köhler et al. 2001; Lim et al. 2005; Patel et al. 1995; Sanders et al. 1995). Die Freilandfische reagierten sehr stark auf jahresspezifische Schwankungen, so dass Effekte, die von der Kläranlage ausgingen möglicherweise überlagert wurden. Eine Studie in Belgien untersuchte Hsp70-Level von Döbeln, die an unterschiedlich stark kontaminierten Probestellen gefangen wurden (Mayon et al. 2006). Wie auch in unserer Studie konnten keine Unterschiede in Hsp70-Leveln in Lebern der Fische festgestellt werden. Eine fünfjährige Studie mit Bachforellen und Bachschmerlen zeigte ebenfalls, dass saisonale und jahresspezifische Effekte die Hsp70-Level stark beeinflussen können (Köhler et al. 2001).

Die proteotoxischen Effekte, die in den Forellen aus den Käfig- und Bypassexpositionen festgestellt wurden, waren deutlicher ausgeprägt als bei den Freilandfischen. Niedrigere Hsp70-Level in Nieren konnten nach dem Ausbau bei den an der Schussen exponierten Bachforellen festgestellt werden. Zudem zeigte sich in den Regenbogenforellen, die im Käfig unterhalb des Kläranlagenablaufs exponiert waren, im Vergleich zu Tieren oberhalb des Ablaufs und zu Kontrolltieren ein geringerer Stressproteinlevel. Den histologischen Untersuchungen zufolge wurde dieser geringere Hsp70 Gehalt nicht durch starke zelluläre Schädigungen hervorgerufen, was darauf schließen lässt, dass die Tiere, die nach dem Ausbau unterhalb der Kläranlage exponiert waren, weniger Stressoren ausgesetzt waren als die Fische aus dem Käfig oberhalb der Kläranlage. Durch die Installation der vierten Reinigungsstufe wurden die Konzentrationen von proteotoxischen Substanzen nachweislich reduziert, was zu einer Verbesserung im Stressproteingehalt geführt haben könnte. So waren die im Gewebe der Forellen bzw. im Oberflächenwasser gemessenen Konzentrationen von Diclofenac, Carbamazepin und PFOS nach dem Ausbau deutlich geringer. Die Proteotoxizität dieser Substanzen wurde in diversen Studien gezeigt (Haap et al. 2008); (Chen et al. 2014; Contardo-Jara et al. 2011; San-Segundo et al. 2016).

#### 4.17.4 Nachweis des Biotransformationsenzym CyP1A1

*Wilhelm, Maier, Tribskorn (Universität Tübingen)*

*Käfigexpositionen an der KA Langwiese (Regenbogenforellen)*

Bei den Käfigexpositionen zeigte sich relativ zur Kontrolle nach Ausbau der Kläranlage Langwiese bei den männlichen Regenbogenforellen eine geringere EROD-Aktivität in

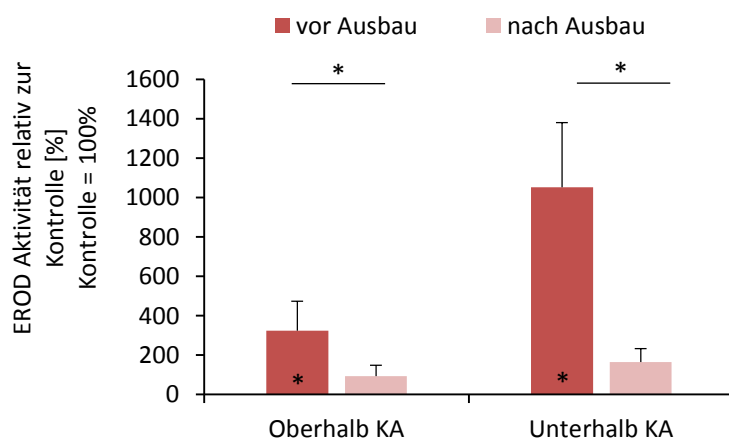


Abb. 234: Relative EROD-Aktivität (%) bei weiblichen Regenbogenforellen aus den Käfig-Expositionen. \*=signifikante Unterschiede. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. Oberhalb KA/vor Ausbau: n=15, nach Ausbau: n=15; Unterhalb/vor Ausbau: n=7, nach Ausbau: n=21

Fischen, die unterhalb der Kläranlage exponiert waren.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich auch bei den weiblichen Regenbogenforellen, allerdings kam es hier auch zu Verbesserungen bei Tieren aus dem Käfig oberhalb der Kläranlage (Abb. 234).

#### *Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)*

Weibliche Bachforellen aus dem Schussen-Bypass zeigten nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese – relativ zur Kontrolle gesehen – eine geringere EROD-Aktivität als vor dem Ausbau (Abb. 235). Auch die Fische aus dem Argen-Bypass zeigten eine Tendenz zur Verringerung der EROD-Aktivität, die allerdings nicht signifikant war. Die Untersuchung der männlichen Bachforellen ergab vergleichbare Ergebnisse.

Bei den männlichen Regenbogenforellen kam es in Tieren aus beiden Bypass-Systemen zu einer signifikanten Reduktion der CYP1A1-Induktion. Die weiblichen Regenbogenforellen zeigten ähnliche Tendenzen. Hier waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant.

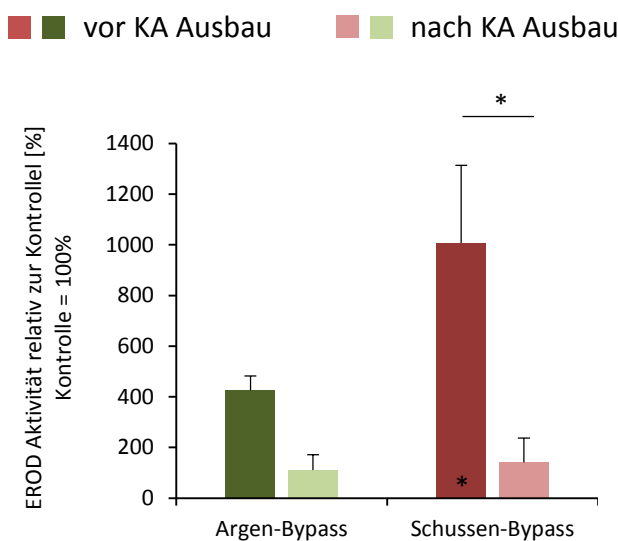


Abb. 235: Relative EROD-Aktivität (%) bei weiblichen Bachforellen aus den Bypass-Aquarien an Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*=signifikante Unterschiede. \* in Balken: signifikante Unterschiede zur Kontrolle. Argen/vor Ausbau: n=4, nach Ausbau: n=12; Schussen/vor Ausbau: n=5, nach Ausbau: n=16



## Diskussion

Organismen sind in der Lage, organische Chemikalien, die in der Regel relativ lipophil sind, über verschiedene Biotransformationswege hydrophiler und damit exkretierbar zu machen. Hierbei ist die Bindung der Stoffe an einen zellulären Rezeptor (den Ah-Rezeptor) von entscheidender Bedeutung, da es hierdurch zu einer Induktion des Biotransformationsenzym Cytochrom P450 kommt, dessen Aktivität über den hier durchgeführten EROD-Assay nachgewiesen wird (Cirillo et al. 2013). Polychlorierte Biphenyle (PCBs) und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) können an diesen Rezeptor binden und die entsprechende Reaktion auslösen.

Es wurde jedoch auch gezeigt, dass andere Substanzen, wie Arzneimittel oder Schwermetalle einen Einfluss auf die EROD-Aktivität haben können (George und Young 1986; Goksøyr et al. 1994; Laville et al. 2004; Rodriguez-Ariza et al. 1994). Die geringere Aktivität des Enzyms CYP1A1 nach dem Ausbau der KA Langwiese legt nahe, dass Cytochrom P450-induzierende Stoffe, die aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften in der Regel auch gut an Kohle adsorbieren, durch die Aktivkohlestufe auf der Kläranlage Langwiese eliminiert wurden. Hierfür spricht auch der Nachweis der Reduktion dioxinähnlicher Wirkpotentiale im Oberflächenwasser der Schussen (siehe Kapitel 4.15.2).

### 4.17.5 Nachweis gentoxischer Effekte

*Wilhelm, Maier, Tribskorn (Universität Tübingen)*

*Freilandfische (Döbel und Schneider)*

Die Anzahl an Mikrokernen in Erythrozyten von Döbeln unterhalb der Kläranlage Langwiese an Probestelle 3 war nach dem Ausbau der Kläranlage signifikant geringer im Vergleich zu vor dem Ausbau sowie signifikant geringer im Vergleich mit Fischen aus der Argen (Abb. 236). Jedoch konnte auch an den Probestellen oberhalb des Kläranlagenablaufs eine signifikant geringere Anzahl an Mikrokernen nachgewiesen werden.

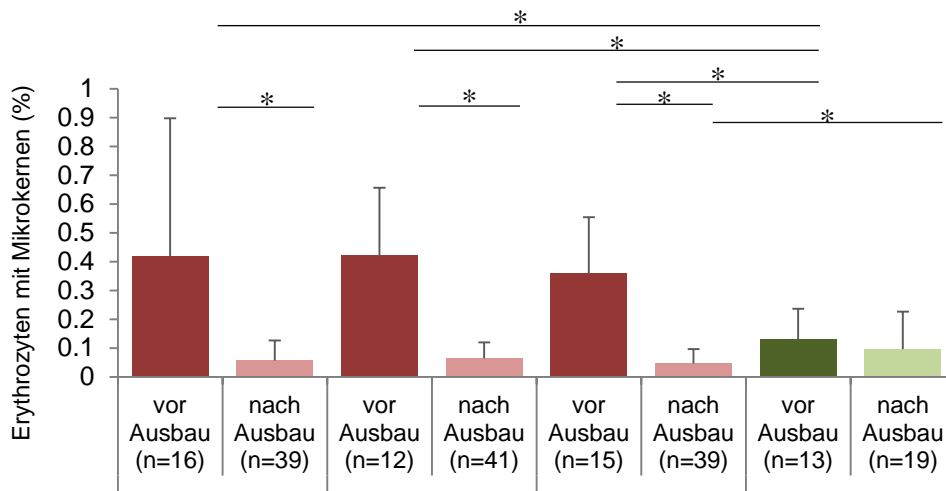


Abb. 236:

Anteil von Erythrozyten mit Mikrokernen (%) in Döbeln aus dem Freiland. Mittelwerte + Standardabweichung. PS 0: oberhalb RÜB, PS 1: unterhalb RÜB, PS 3: unterhalb KA Langwiese, PS 4: Argen. \*: signifikante Unterschiede

*Käfigexpositionen an der KA Langwiese (Regenbogenforellen)*

Relativ zur Kontrolle gesehen zeigte sich nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese in Regenbogenforellen, welche unterhalb der Kläranlage exponiert wurden, eine signifikant geringere Anzahl an Mikrokernen im Vergleich zur Situation vor dem Ausbau (Abb. 237).

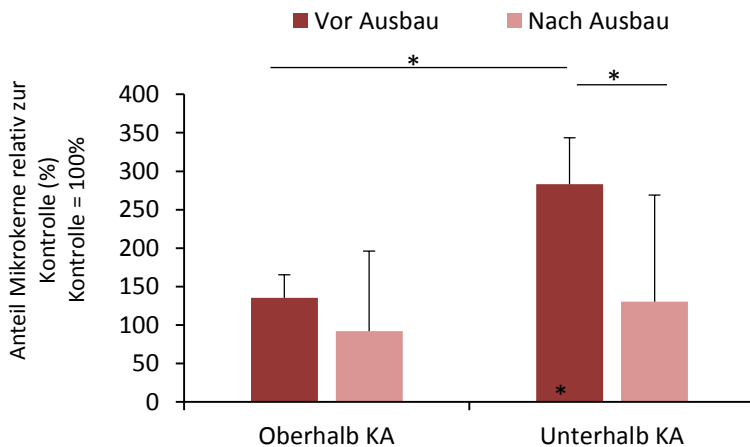


Abb. 237: Relativer Anteil von Erythrozyten mit Mikrokernen (%) in Regenbogenforellen aus den Käfig-Expositionen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*: signifikante Unterschiede. Oberhalb KA/vor Ausbau: n=10, nach Ausbau: n=26; Unterhalb/vor Ausbau: n=10, nach Ausbau: n=31

### Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)

Die Erythrozyten von Bachforellen aus dem Schussen-Bypass enthielten nach der Aufrüstung der Kläranlage Langwiese signifikant weniger Mikrokernere als die Tiere aus dem Argen-Bypass (Abb. 238). Dieser Wert bewegte sich dabei im Bereich der Kontrolle.

Bei Regenbogenforellen traten nach dem Ausbau der Kläranlage sowohl in Tieren aus dem Schussen-Bypass als auch in denen aus dem Argen-Bypass relativ zur Kontrolle gesehen mehr Mikrokernere auf. Die absoluten Werte lagen jedoch im Bereich der Spontaninduktion (Pavlica et al. 2011).

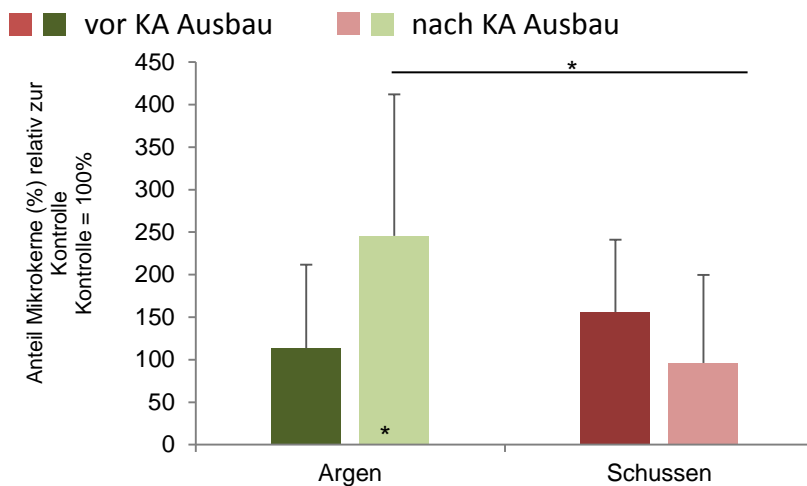


Abb. 238: Relativer Anteil von Erythrozyten mit Mikrokernen (%) in Bachforellen aus den Bypässen an Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*: signifikante Unterschiede. Argen/vor Ausbau: n=12, nach Ausbau: n=14; Schussen/vor Ausbau: n=12, nach Ausbau: n=20

## Diskussion

Eine Bildung von Mikrokernen kann durch genotoxisch wirkende Substanzen ausgelöst werden. Als solche sind zum Beispiel das Flammschutzmittel TCPP, Methyltriclosan, Carbendazim, oder Schwermetalle, wie Nickel und Arsen eingestuft (Binelli et al. 2009; Kumar et al. 2013; Palermo et al. 2015; Sarrif et al. 1994). Nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese konnten mit Hilfe der chemischen Analytik geringere Konzentrationen an TCPP im Kläranlagenablauf nachgewiesen werden. Dies könnte zu der reduzierten Bildung von Mikrokernen im Blut von Regenbogenforellen, die unterhalb der Kläranlage exponiert waren sowie im Blut von an der Schussen exponierten Bachforellen beigetragen haben.

Das Alter kann ebenso einen Einfluss auf die Bildung von Mikrokernen haben (Bolognesi und Hayashi 2011). Ein solcher Einfluss konnte im Falle der Döbel in der vorliegenden Studie mit Hilfe von Korrelationsanalysen jedoch ausgeschlossen werden. Bei den exponierten Forellen

handelte es sich durchweg um Tiere gleichen Alters, daher kann auch hier der Einfluss des Alters auf die Anzahl der Mikrokerne ausgeschlossen werden.

#### 4.17.6 Nachweise von Acetylcholinesterase und Carboxylesterasen

Rault, Suchail (Universität Avignon)

Freilandfische (Döbel)

Messungen des Enzyms Acetylcholinesterase sowie von Carboxylesterasen im Gehirn von Fischen dienen dazu, Wirkungen neurotoxischer Stoffe, wie z. B. Organophosphaten oder Carbamaten, in den Tieren nachzuweisen.

Die Aktivität der AChE in Döbeln (Abb. 239) (97 bis 227 nmol min<sup>-1</sup> mg prot<sup>-1</sup>) ähnelt den Werten, welche für Felsenbarsche (*Morone saxatilis*; 100 bis 250 nmol min<sup>-1</sup> mg prot<sup>-1</sup> (Durieux et al. 2011)) oder Döbel (*Leuciscus cephalus*; 74 bis 312 nmol min<sup>-1</sup> mg prot<sup>-1</sup> (Flammarion et al. 2002)) beschrieben wurden. Die Daten zeigen insgesamt eine relativ hohe Variabilität, was an der unterschiedlichen Größe der untersuchten Fische liegen kann.

Es konnten signifikante Unterschiede zwischen den Probenahmezeitpunkten mit niedrigsten Werten im September desselben Jahres gezeigt werden, was vermutlich mit Einträgen von Insektiziden im Frühherbst zusammenhängt (Abb. 239A). Zwischen den Probestellen an der Schussen und der Argen gab es keine signifikanten Unterschiede (Abb. 239B). Ein Einfluss des Ausbaus der Kläranlage konnte ebenfalls nicht festgestellt werden, da sich die Werte in Fischen von der Probestelle PS 3 unterhalb der Kläranlage nicht zwischen den Jahren unterscheiden (Abb. 239B).

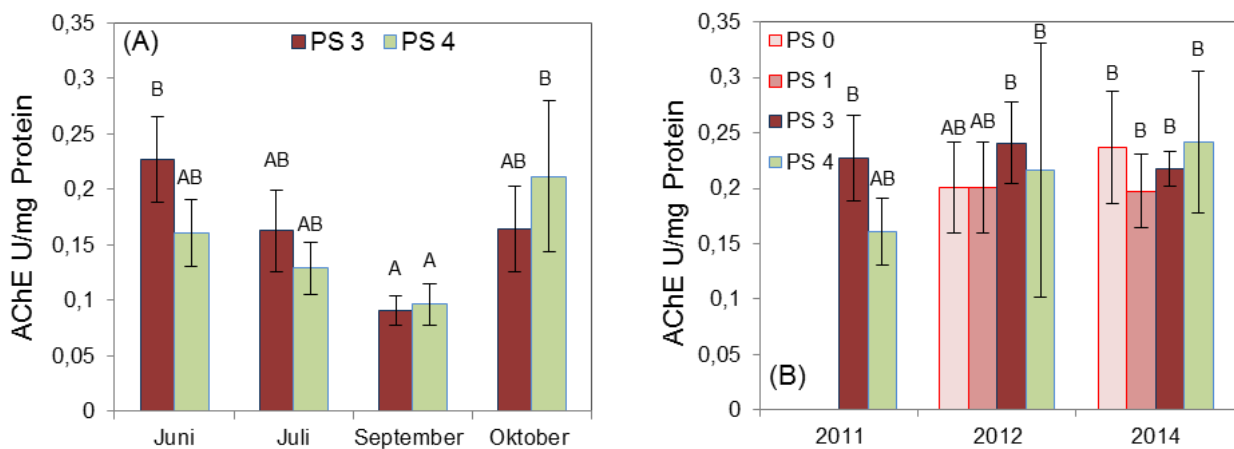


Abb. 239: Mittelwert und Standardabweichung der Acetylcholinesterase-Aktivität in Döbeln bei verschiedenen Probenahmezeitpunkten im Jahr 2011 (A) und (B) von 2011 bis 2014. Balken mit denselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden bei einem Signifikanzlevel von 5 %

### Bypässe (Regenbogenforellen)

Die Aktivität der Acetylcholinesterase im Gehirn von Forellen, die vor Ausbau der Kläranlage (2012) an der Schussen exponiert waren, weist insgesamt das niedrigste Niveau auf, unterscheidet sich aber nicht signifikant von der Aktivität des Enzyms bei Kontrollfischen oder Forellen, die an der Argen exponiert waren (Abb. 240). Im Jahre 2014 sind die Werte generell höher als 2012. Letzteres ist auch für die Carboxylesterasen der Fall.

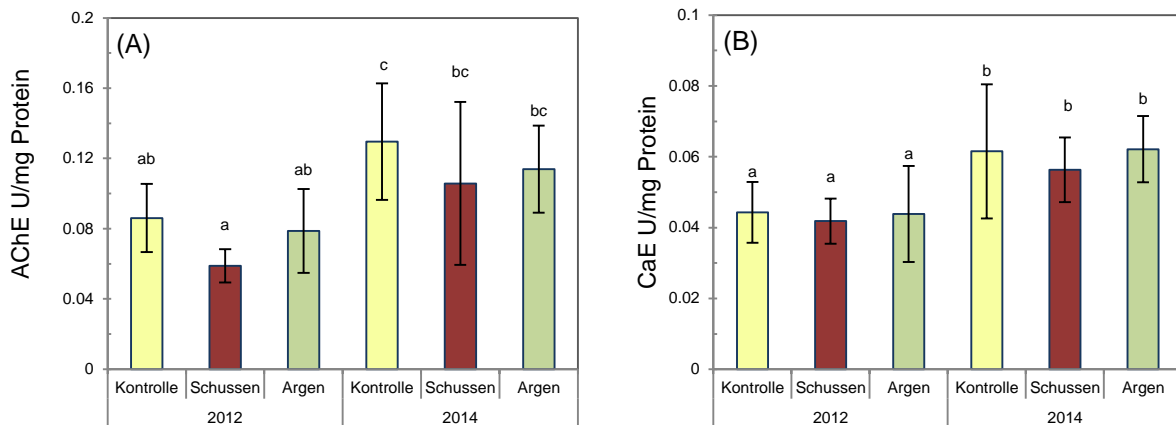


Abb. 240: Mittelwert und Standardabweichung der Acetylcholinesterase-Aktivität (A) und der Carboxylesterase-Aktivität (B) in Regenbogenforellen vor (2012) und nach (2014) dem Ausbau. Balken mit denselben Buchstaben sind bei einem Signifikanzlevel von 5 % nicht signifikant verschieden

## 4.17.7 Vitellogenin

Wilhelm, Henneberg, Tribskorn (UTUE)

### Käfigexpositionen an der KA Langwiese

Der Vitellogeningehalt im Blut der weiblichen Regenbogenforellen, die in Käfigen oberhalb und unterhalb der Kläranlage exponiert wurden, wurde nicht durch den Ausbau der Kläranlage beeinflusst. (Abb. 241). Bei den männlichen Regenbogenforellen konnte weder vor noch nach dem Ausbau eine Induktion von Vitellogenin nachgewiesen werden (Nachweisgrenze <0,39ng Vtg/ml Blut).

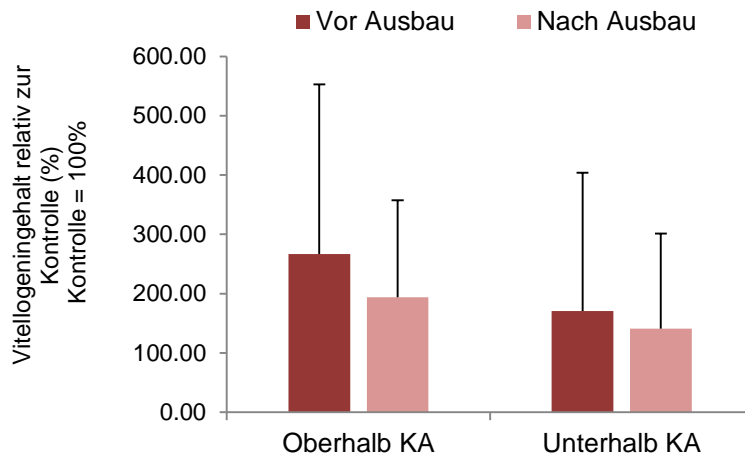


Abb. 241: Relativer Vitellogeningehalt (%) in Blutproben von weiblichen Regenbogenforellen aus den Käfig-Expositionen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. Oberhalb KA/vor Ausbau: n=15, nach Ausbau: n=15; Unterhalb/vor Ausbau: n=7, nach Ausbau: n=23

#### *Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)*

Auch bei den weiblichen Regenbogenforellen, die in den Bypass-Systemen exponiert wurden, konnten keine signifikante Veränderung im Vitellogeningehalt festgestellt werden (Abb. 242). Bei den männlichen Regenbogenforellen konnte ebenso wie bei den männlichen Bachforellen keine Vitellogeninbildung nachgewiesen werden (Nachweisgrenze für Regenbogenforellen: <0,39ng Vtg/ml Blut).

Vor dem Ausbau traten bei den exponierten weiblichen Bachforellen keine signifikanten Unterschiede im Vitellogenin-Level zwischen den Expositionsgruppen auf (Abb. 243). Nach dem Ausbau waren die Vitellogenin-Level bei weiblichen Bachforellen an der Schussen signifikant niedriger als vor dem Ausbau.

Die Analysen der juvenilen Bach- und Regenbogenforellen, die in den Bypässen an der Schussen und Argen exponiert waren, zeigten deutliche Unterschiede: Bei den Regenbogenforellen konnte weder vor noch nach dem Ausbau der KA Langwiese eine Induktion von Vitellogenin nachgewiesen werden. Die juvenilen Bachforellen, die an der Schussen und der Argen exponiert waren, zeigten vor dem Ausbau der KA signifikant höhere Vitellogeninlevel verglichen mit der Kontrolle (Abb. 244). Nach dem Ausbau waren die Vitellogeninlevel an beiden Probestellen vergleichbar mit denen der Kontrolltiere.

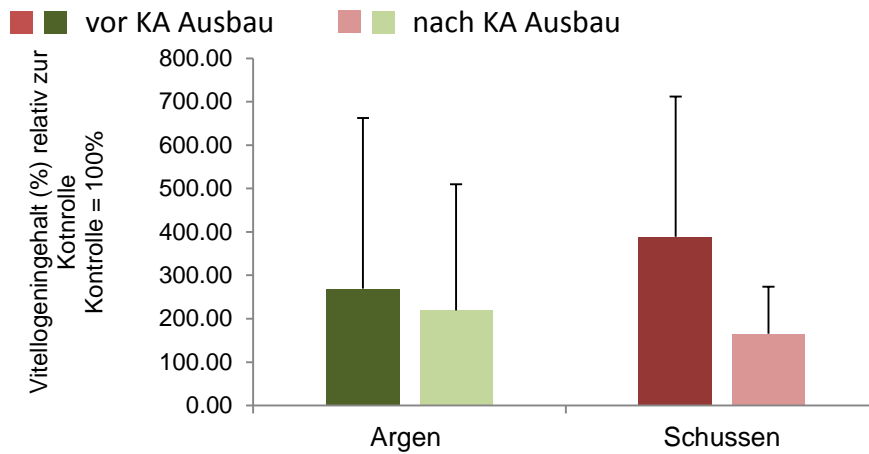


Abb. 242: Relativer Vitellogeningehalt (%) in Blutproben von weiblichen Regenbogenforellen aus den Bypässen an Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. Argen/vor Ausbau: n=8, nach Ausbau: n=14; Schussen/vor Ausbau: n=4, nach Ausbau: n=15

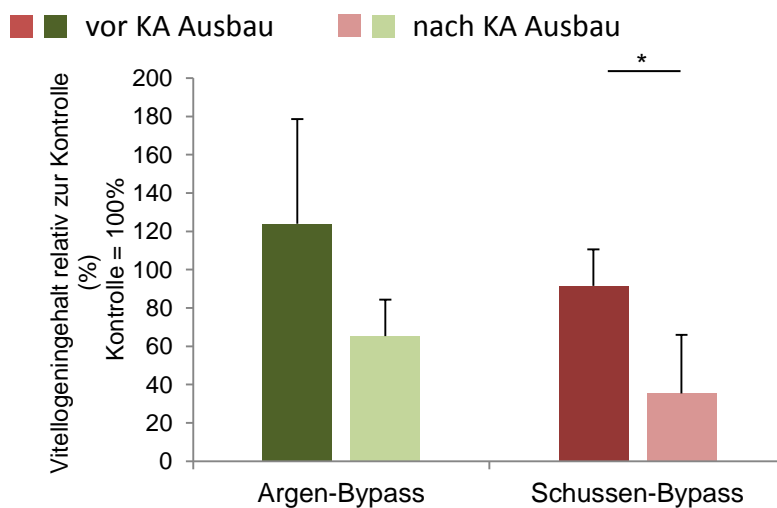


Abb. 243: Relativer Vitellogeningehalt (%) in Blutproben von Bachforellen aus den Bypässen an Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle; Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*=sig. Unterschied. Argen/vor Ausbau: n=4, nach Ausbau: n=11; Schussen/vor Ausbau: n=3, nach Ausbau: n=19

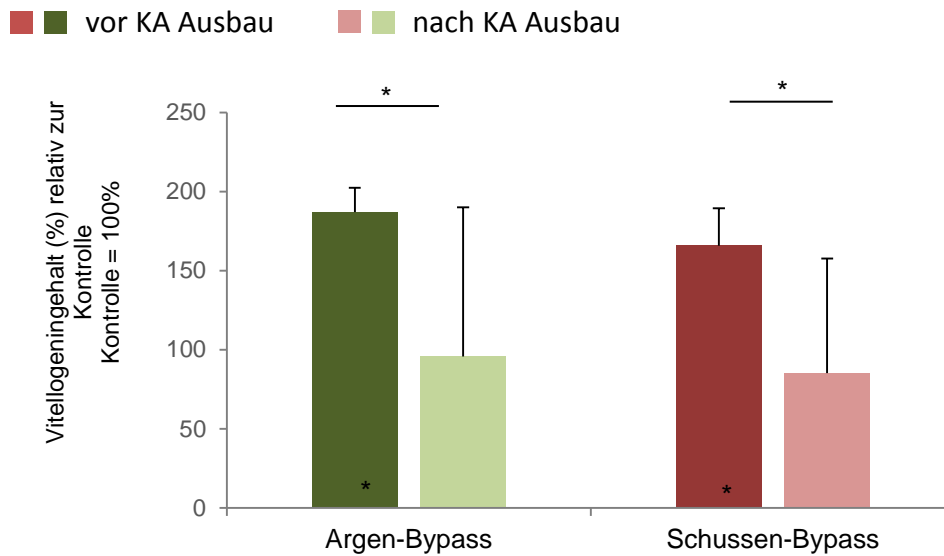


Abb. 244: Relativer Vitellogeningehalt (%) in Homogenaten von juvenilen Bachforellen, die in den Bypässen an Schussen und Argen exponiert wurden. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. Argen/vor Ausbau: n=6, nach Ausbau: n=26; Schussen/vor Ausbau: n=7, nach Ausbau: n=27

## Diskussion

In der Literatur gibt es viele Beispiele dafür, dass Vitellogenin in männlichen Fischen induziert werden kann, wenn diese gegenüber östrogen-aktivem Kläranlagenabwasser exponiert werden (An et al. 2008; Bjerregaard et al. 2006; Bjerregaard et al. 2008; Burki et al. 2006; Hansen et al. 1998). Da weder an der Schussen noch an der Argen bei männlichen Fischen Vitellogenin nachgewiesen werden konnte, ist davon auszugehen, dass die östrogene Belastung in diesen beiden Gewässern als eher gering einzustufen ist.

Die weiblichen Regenbogenforellen, die unterhalb der Kläranlage exponiert waren, zeigten sowohl vor als auch nach dem Ausbau tendenziell niedrigere Vitellogeninwerte als Tiere, die oberhalb der Kläranlage gehalten wurden. Bei weiblichen Bachforellen, die am Bypass an der Schussen exponiert waren, war nach dem Ausbau der Kläranlage ebenfalls eine signifikante Verringerung des Vitellogeninlevels nachzuweisen. Für eine solche Senkung des Vitellogeningehaltes im Blut weiblicher Tiere können anti-östrogen wirkende Stoffe verantwortlich sein, auf deren Präsenz auch die in Kapitel 4.15.4 beschriebenen anti-östrogenen Wirkpotentiale im Wasser der Schussen hinweisen. Generell integrieren die Vitellogeninlevel der exponierten weiblichen Fische über die gemeinsame Wirkung von östrogenartig, anti-östrogen, androgen und anti-androgen wirkenden Stoffen. Zudem scheinen jahresspezifische Effekte eine Rolle zu spielen, worauf die Effekte in den Tieren, die an der Argen exponiert waren, hindeuten.



Die juvenilen Bachforellen zeigten vor dem Ausbau der Kläranlage Langwiese signifikant erhöhte Vitellogeninlevel an Schussen und Argen im Vergleich zu den im Labor gehaltenen Kontrollfischen. Dies spricht für eine Belastung des Wassers der beiden Flüsse mit östrogenaktiven Substanzen. Nach dem Ausbau sanken die Vitellogeninlevel unter das Niveau der Kontrolle. Da dieser Effekt auch an der Argen beobachtet wurde, ist davon auszugehen, dass hier jahresspezifische Effekte den Einfluss des Kläranlagenausbaus überlagerten. Bei den exponierten juvenilen Regenbogenforellen konnte weder vor noch nach dem Ausbau eine Induktion von Vitellogenin nachgewiesen werden, was wiederum für keine östrogene Belastung an Schussen und Argen spricht.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass das Abwasser der KA Langwiese weder vor noch nach Ausbau zur Vitellogenin-Induktion bei männlichen Forellen führte und deshalb die Belastung durch östrogenaktive Stoffe als gering einzustufen ist. Bei den Untersuchungen an den Bypass-Anlagen vor dem Ausbau der KA Langwiese gab es bei den Bachforellen Hinweise auf eine leichte östrogene Belastung. Da jedoch auch starke jahresspezifische Effekte auftraten, können die sichtbaren Effekte nicht eindeutig auf den Kläranlagenausbau zurückgeführt werden.

## 4.18 Fischentwicklung im Freiland

*Wilhelm, Henneberg, Tribskorn (Universität Tübingen)*

*Bypässe (Regenbogenforellen und Bachforellen)*

### Herzschlagrate

Da sich die Wassertemperaturen während der Expositionen vor und nach dem Ausbau der Kläranlage Langwiese um bis zu 1,5 °C unterschieden und die Temperatur die Herzschlagfrequenz stark beeinflusst, wurden die gemessenen Herzschlagraten mit dem theoretisch zu erwartenden Wert bei dieser Temperatur verrechnet. Der theoretisch zu erwartende Werte wurde mit folgender Formel berechnet:  $y = 4,4202x + 37,954$  ( $y$ =Herzschlagrate,  $x$ =Temperatur) (Thellmann 2012). In Abb. 245 sind die Differenzen zwischen zu erwartender und gemessener Herzschlagrate dargestellt. Generell waren die Herzschlagraten an den Bypässen vor Ausbau niedriger als die zu erwartenden theoretischen Herzschlagraten. Eine Ausnahme bildeten die Herzschlagraten bei den Regenbogenforellen, die an der Schussen exponiert waren. Vor dem Ausbau zeigten diese Tiere deutlich höhere Herzschlagraten als der theoretisch zu erwartende Wert. Im ersten Jahr nach Ausbau (2014) verringerte sich der Unterschied zu den erwarteten Werten. Im Jahr 2015 lagen die Herzschlagraten jedoch generell über den erwarteten Werten.

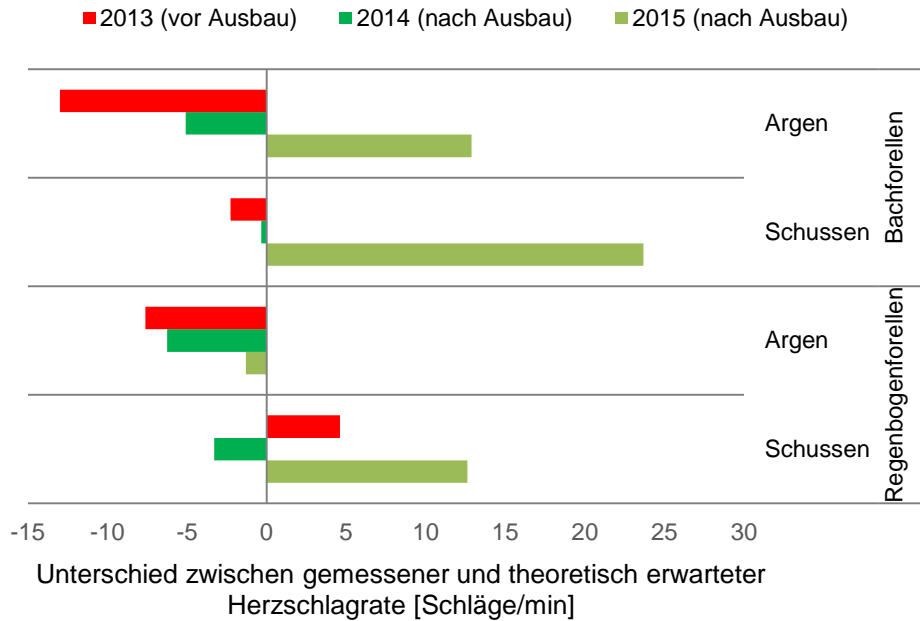


Abb. 245: Unterschiede in den Herzschlagraten bei exponierten Regenbogen- und Bachforellen aus den Bypässen an Schussen und Argen. Als Null-Wert wurden die Herzschlagraten der Kontrolltiere bei vergleichbarer Temperatur angenommen

Nach dem Ausbau der KA Langwiese erhöhte sich relativ zur Kontrolle gesehen der Schlupferfolg der Regenbogen- und Bachforellen, die an der Schussen und der Argen in den Bypässen exponiert waren, signifikant (Abb. 246).

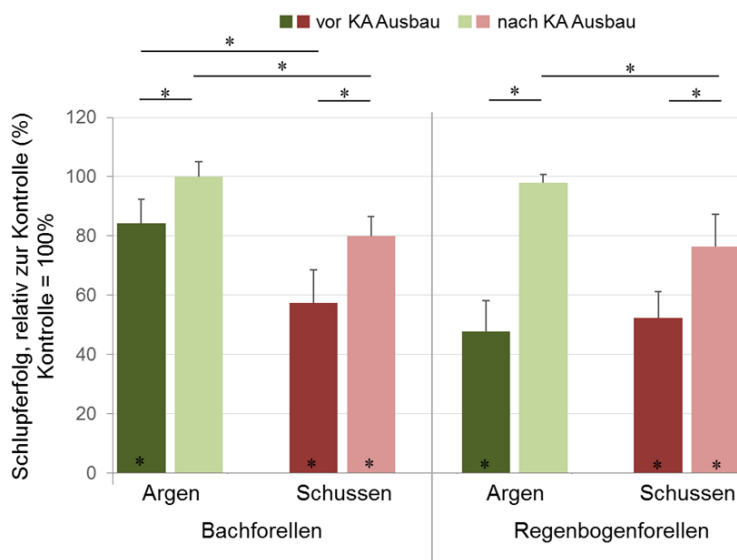


Abb. 246: Relativer Schlupferfolg (%) von Regenbogen- und Bachforellen, die in den Bypässen an Schussen und Argen exponiert wurden. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \*=signifikante Unterschiede.

Nach dem Ausbau der KA Langwiese waren auch die Mortalitätsraten bei den an Schussen und Argen exponierten Bachforellen signifikant erniedrigt. Bei den exponierten Regenbogenforellen war diese Reduktion nur im Argen-Bypass sichtbar (Abb. 247).

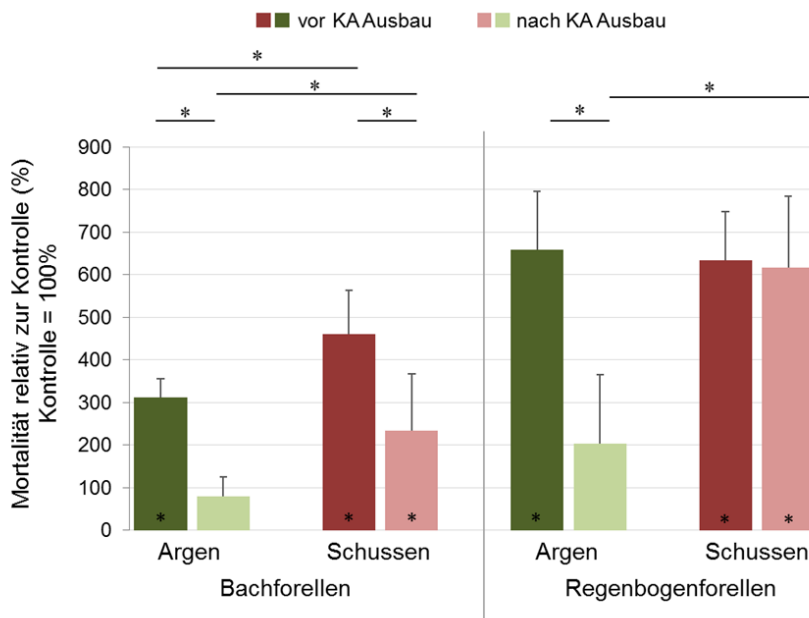


Abb. 247: Relative Mortalität (%) von exponierten Regenbogen- und Bachforellen an den Bypässen Schussen und Argen. Mittelwerte + Standardabweichung relativ zur Kontrolle, Kontrolle auf 100 % gesetzt. \* = signifikante Unterschiede.

## Diskussion

Die Herzschlagraten waren vor dem Ausbau nur bei Regenbogenforellen, die an der Schussen exponiert waren, im Vergleich zu den Laborkontrollen erhöht. Höhere Herzschlagraten können die Folge einer Belastung des Wassers mit Schadstoffen (Stasiūnaitė und Kazlauskienė 2002), aber auch anderen Faktoren, wie erhöhte Temperatur (Luckenbach et al. 2001b) sein. Um Schadstoffe besser metabolisieren zu können, wird die Stoffwechselrate gesteigert, was zu einer höheren Herzschlagrate führt (Luckenbach et al. 2001a). Nach dem Ausbau verringerten sich die Herzschlagraten bei den Regenbogenforellen aus dem Bypass an der Schussen, und die Unterschiede zu den theoretisch zu erwarteten Herzschlagraten wurden geringer. Diese Reduktion trat jedoch nur im ersten Jahr nach Ausbau der Kläranlage auf. Im zweiten Jahr nach der Aufrüstung mit einer vierten Reinigungsstufe waren die Herzschlagraten dieser Tiere wieder deutlich höher als erwartet. Da vergleichbare Veränderungen auch bei Fischen, die im Argen-Bypass exponiert waren auftraten, ist es wahrscheinlich, dass jahresspezifische Schwankungen die Herzschlagrate beeinflussten.

Der Schlupferfolg bei Regenbogen- und Bachforellen, die an der Schussen exponiert waren, stieg nach dem Ausbau der Kläranlage Langweise signifikant an. Dieser Effekt war allerdings auch bei den Forellen, die an der Argen exponiert waren, zu beobachten, so dass hier wahrscheinlich ebenso jahresspezifische Effekte für die Verbesserung des Schlupferfolgs mit verantwortlich waren. Auch bei den Mortalitätsraten beider Arten war eine signifikante Verbesserung nach dem Ausbau der Kläranlage an beiden Flüssen zu beobachten. Hier ist ebenfalls davon auszugehen, dass jahresspezifische Effekte eine große Rolle spielten, es ist jedoch nicht auszuschließen, dass auch der Ausbau der Kläranlage zu einer Verbesserung führte. So zeigten die chemischen Analysen nach dem Ausbau deutlich geringere Konzentrationen an Arzneimitteln (Carbamazepin, Metoprolol und Diclofenac) in der Schussen unterhalb der Kläranlage. Diese Substanzen können bei Fischeiern zu Entwicklungsstörungen, vermindertem Schlupferfolg und zu höheren Mortalitätsraten führen (Feito et al. 2012; Galus et al. 2013; Stasiūnaitė und Kazlauskienė 2002).

## 4.19 Wirkungen bei Flohkrebse

*Peschke, Triebskorn (Universität Tübingen)*

Innerhalb der Invertebratenfauna eines Fließgewässers stellen Flohkrebse (Gammariden) bedeutende Stellvertreter dar (Schirling et al. 2005). Aufgrund ihrer weiten natürlichen Verbreitung und den oft enormen Individuenanzahlen in Flohkrebpopulationen bilden sie vor allem für Fische eine bedeutende Nahrungsquelle (Meijering und Pieper 1982). Da Flohkrebse zudem sehr sensibel auf verschiedene Umweltstressoren reagieren (Schirling et al. 2006; Williams et al. 1984) und sich durch eine hohe Sensitivität gegenüber Schadstoffen auszeichnen (Meijering und Pieper 1982), sind sie auch als Monitororganismen hervorragend geeignet.

Zum Nachweis toxischer und hormoneller Wirkungen bei Flohkrebse wurden an den Probestellen an der Schussen ober- und unterhalb der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg sowie an einer Probestelle an der Argen in regelmäßigen Abständen bis zu 4 Mal pro Jahr Proben entnommen. An allen Probestellen wurden populationsökologische und biochemische Untersuchungen mit Gammariden durchgeführt.

### 4.19.1 Stressproteine

Mit Hilfe der Stressproteinanalysen konnten positive Auswirkungen der Pulveraktivkohlestufe auf der Kläranlage Ravensburg auf den Gesundheitszustand von Gammariden nachgewiesen werden (Abb. 248). Zu mehreren Beprobungszeitpunkten im Sommer vor

Ausbau der Kläranlage Langwiese konnten signifikant höhere Stressproteinlevel bei Individuen unterhalb der Kläranlage im Vergleich zur Probestelle oberhalb ermittelt werden. Dies deutet auf das Vorkommen von Substanzen mit proteotoxischer Wirkung unterhalb der Kläranlage zu Zeitpunkten vor Ausbau der Kläranlage hin. Im Sommer nach Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe war der Hsp70-Level in Individuen an beiden Probestellen der Schussen zwar signifikant höher als in den Vorjahren, jedoch unterhalb der Kläranlage nicht mehr signifikant erhöht im Vergleich zu oberhalb, was auf eine Reduktion proteotoxisch wirkender Substanzen durch die Pulveraktivkohlestufe hindeutet. Im Vergleich mit dem Referenzgewässer Argen konnten im Herbst vor Ausbau der Kläranlage signifikante Unterschiede hinsichtlich des Stressproteinlevels bei Gammariden ermittelt werden. Hier war der Stressproteinlevel von Flohkrebse an Probestelle 3, unterhalb der Kläranlage, signifikant erhöht im Vergleich zu demjenigen von Flohkrebse an Probestelle 5 an der Argen.

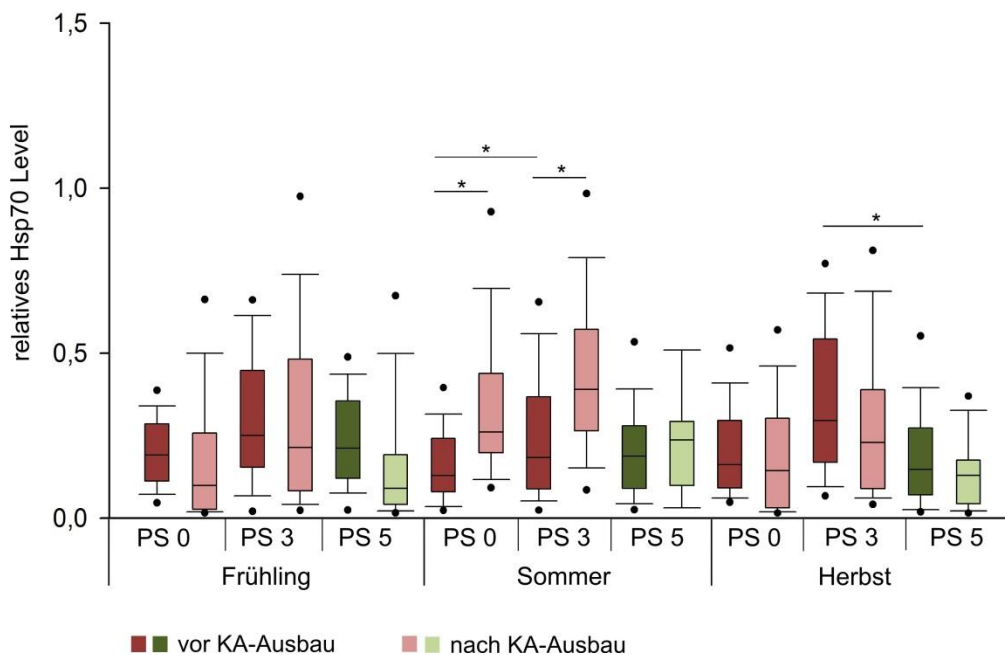


Abb. 248: Relative Hsp70-Level von Gammariden im Frühling, Sommer und Herbst an der Argen sowie ober- und unterhalb der Kläranlage Langwiese an der Schussen, zu Zeitpunkten vor (2010-2012) und nach (2014-2016) Ausbau der Kläranlage. Darstellung in Box-Whisker-Plots mit Mediane, Minima und Maxima sowie Obere und Untere Quartile. KA = Kläranlage, PS = Probestelle. PS 0: Schussen, oberhalb KA; PS 3: Schussen, unterhalb KA; PS 5: Argen. Signifikante Unterschiede wurden innerhalb einer Jahreszeit zwischen den einzelnen Probestellen innerhalb eines Zeitraumes (vor und nach KA-Ausbau) sowie zwischen dem Zeitraum vor und nach dem KA-Ausbau an den einzelnen Probestellen ermittelt. Wilcoxon-Test mit Bonferroni-Holm Anpassung. Signifikanzen: \*  $p \leq 0,05$

#### 4.19.2 Geschlechterverhältnis

Vor Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe war das Geschlechterverhältnis unterhalb der Kläranlage Langwiese im Frühling und Sommer signifikant zugunsten der Weibchen

verschoben (Abb. 249). Dies deutet auf mögliche endokrin wirksame Substanzen flussabwärts des Kläranlageneinleiters hin. Nach Ausbau der Kläranlage war das Geschlechterverhältnis unterhalb der Kläranlage nur noch im Frühling signifikant zugunsten der Weibchen verschoben. Möglicherweise wirken sich Pestizide, die im Frühjahr verstärkt eingesetzt werden und auch endokrin wirken können, auf das Geschlechterverhältnis aus. Die im Sommer nach Ausbau der Kläranlage erzielten Ergebnisse lassen jedoch den Schluss zu, dass der Einsatz der Pulveraktivkohlestufe den Eintrag endokrin wirkender Substanzen über das Abwasser in die Gewässer verringert, da das Geschlechterverhältnis im Vergleich zu den Vorjahren nicht mehr signifikant zugunsten der Weibchen verschoben war. Im Probenahmezeitraum nach Ausbau der Kläranlage war das Geschlechterverhältnis im Referenzgewässer Argen zu jeder Jahreszeit signifikant zugunsten der Männchen verschoben.

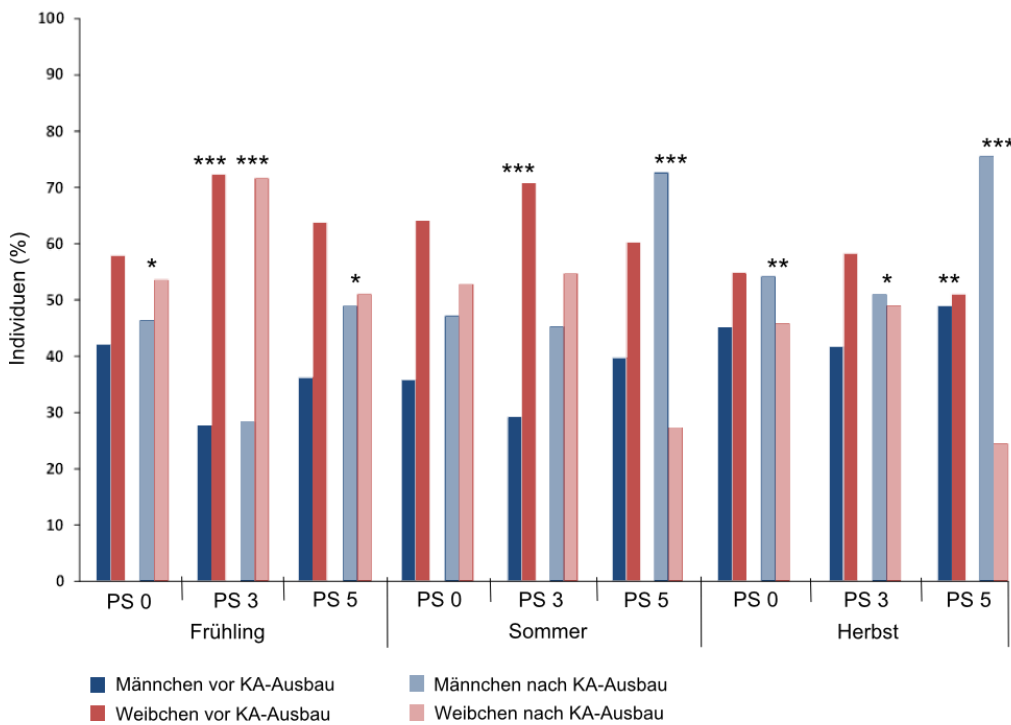


Abb. 249: Geschlechterverhältnis bei Gammariden im Frühling, Sommer und Herbst an der Argen sowie ober- und unterhalb der Kläranlage Langwiese an der Schussen, zu Zeitpunkten vor (2010-2012) und nach (2014-2016) Ausbau der Kläranlage. KA = Kläranlage, PS = Probestelle. PS 0: Schussen, oberhalb KA; PS 3: Schussen, unterhalb KA; PS 5: Argen. Dargestellt ist der prozentuale Anteil an Männchen und Weibchen der entnommenen Stichproben. Die ermittelten Geschlechterverhältnisse wurden auf signifikante Abweichungen von einer hypothetischen 1:1,5 Verteilung zugunsten der Weibchen getestet. Maximum Likelihood Ratio: \*\*\*  $p \leq 0,001$ , \*\*  $p \leq 0,01$ , \*  $p \leq 0,05$

Die Gründe hierfür sind bisher noch unklar und bedürfen weiterer Untersuchungen. Im Herbst war das Geschlechterverhältnis im Zeitraum nach Ausbau der Kläranlage an allen Probestellen an der Schussen und Argen signifikant zugunsten der Männchen verschoben.

Dies ist möglicherweise auf die erhöhte Mortalität der Weibchen im Herbst, hervorgerufen durch die energiezehrende Fortpflanzung, zurückzuführen (Pockl 1993).

#### 4.19.3 Fekundität

Generell konnte an allen Probestellen ein Trend zu abnehmender Fekundität von Frühjahr zu Sommer gezeigt werden (Abb. 250). Dies entspricht dem natürlichen Reproduktionszyklus und wurde bereits in mehreren Studien beschrieben (Ladewig et al. 2006; Pockl 1993). Allerdings war vor Ausbau der Kläranlage der Fekunditätsindex brütender Weibchen in den Sommermonaten unterhalb der Kläranlage Langwiese signifikant niedriger als oberhalb. Watts et al. (2002) diskutierten eine erhöhte Fekundität in Zusammenhang mit endokriner Disruption. Die niedrigeren Werte unterhalb der Kläranlage stehen deshalb wahrscheinlich weniger mit endokrinen als mit zusätzlich toxischen Einflüssen im Zusammenhang. Diese wurden durch den Ausbau der Kläranlage reduziert, so dass zwischen den Probestellen ober- und unterhalb der Kläranlage keine signifikanten Unterschiede mehr auftraten.

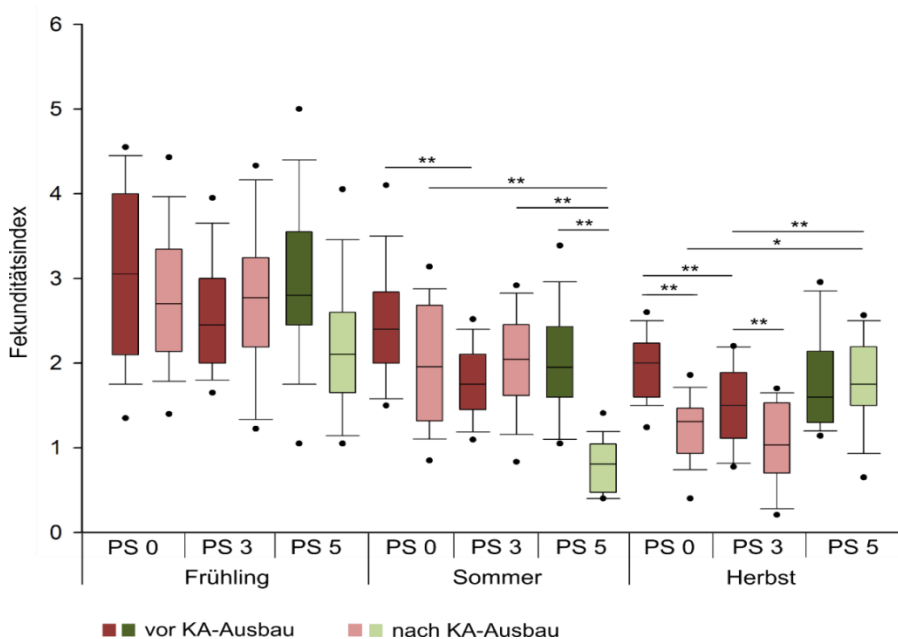


Abb. 250: Fekunditätsindex brütender Weibchen im Frühjahr, Sommer und Herbst an der Argen sowie ober- und unterhalb der Kläranlage Langwiese an der Schussen, zu Zeitpunkten vor (2010-2012) und nach (2014-2016) Ausbau der Kläranlage. Darstellung in Box-Whisker-Plots mit Mediane, Minima und Maxima sowie Obere und Untere Quartile. KA = Kläranlage, PS = Probestelle. PS 0: Schussen, oberhalb KA; PS 3: Schussen, unterhalb KA; PS 5: Argen. Signifikante Unterschiede wurden innerhalb einer Jahreszeit zwischen den einzelnen Probestellen innerhalb eines Zeitraumes (vor und nach KA-Ausbau) sowie zwischen dem Zeitpunkt vor und nach dem KA-Ausbau an den einzelnen Probestellen ermittelt. Wilcoxon-Test mit Bonferroni-Holm Anpassung. Signifikanzen: \*\*  $p \leq 0,01$ , \*  $p \leq 0,05$

Im Beprobungszeitraum nach Ausbau der Kläranlage war der Fekunditätsindex im Herbst an den Probestellen der Schussen signifikant niedriger als in den Jahren vor Ausbau der

Kläranlage. Ein Trend dazu ist auch schon in den Probenahmen des Sommers zu erkennen. Umso wichtiger ist es, dass der Einfluss der Kläranlage den Fekunditätsindex nun nach Inbetriebnahme der Pulveraktivkohlestufe nicht noch weiter verringert. Im Herbst traten höhere Fekunditätsindizes in brütenden Weibchen an der Argen auf im Vergleich zu den Probestellen der Schussen. Dies deutet auf geringere toxische Wirkungen im Herbst in der Argen hin.

## 4.20 Effekte in der Biozönose

*Wurm (Gewässerökologisches Labor, Starzach)*

### 4.20.1 Gewässergüte/Saprobie

In den Jahren 2012 bis 2014 wurden insgesamt vier Gewässergüteaufnahmen in der Schussen vor Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe zur Spurenstoffelimination durchgeführt. Diese dienen als Vergleichsbasis zur Beurteilung der Veränderungen der Gewässergüte, die in sechs Aufnahmen in den Jahren 2014 bis 2016 erhoben wurden<sup>2</sup>.

Die Aufnahmen im Frühjahr bzw. Frühsommer dienen zur Auswertung nach den Kriterien der WRRL (Saprobie, Allgemeine Degradation), die in größeren Fließgewässern eine biologische Untersuchung zwischen April und Juli voraussetzen.

Bei der Herbstaufnahme wird der pessimale Gütezustand, d. h. die maximale Belastung im Gewässer ermittelt, welche über den Gesamtzustand entscheidet. Bei der Herbstaufnahme fällt der biologische Befund in der Regel schlechter aus, da sich die Abwasserbelastung aufgrund der höheren Temperaturen im Sommerhalbjahr und des ungünstigeren Mischungsverhältnisses bis zum Herbst wesentlich stärker auswirkt im Vergleich zum Frühjahr<sup>3</sup>.

Wie aus Abb. 251 hervorgeht, bewegte sich die Schussen im gesamten Untersuchungsabschnitt von PS 0 (Weissenau) bis PS 3 (Oberbaumgarten) in allen 10 Erhebungen stabil im Bereich der „guten“ saprobiellen Zustandsklasse. Des Weiteren ist

---

<sup>2</sup> Die Aktivkohlestufe zur Spurenstoffelimination auf der KA Langwiese ist im Sommer 2013 in Betrieb gegangen. Da die Umstellung der Gewässerbiozönose (Makrozoobenthos) mindestens einige Monate benötigt (Generationszeiten, Eindriftung etc.) ist davon auszugehen, dass die Auswirkungen der Spurenstoffelimination auf die Biozönose erst ab Frühjahr 2014 zu Tragen gekommen sind.

<sup>3</sup> Der Unterschied zwischen der Frühjahrs- und der Herbstaufnahme ist vom Mischungsverhältnis zwischen der Abflusshöhe im Gewässer und der Abwassereinleitung abhängig und ist daher in kleineren Fließgewässern mit ungünstigeren Verdünnungsverhältnissen in der Regel stärker ausgeprägt.



ersichtlich, dass die Saprobienindices zwischen den einzelnen Untersuchungsstellen nur einen relativ engen Schwankungsbereich aufwiesen.

Abb. 251 zeigt auch, dass die KA Langwiese aufgrund ihres zuvor schon hohen Reinigungsgrades bereits vor Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe nur geringe Auswirkungen auf die Saprobie/Gewässergüte der Schussen an der Untersuchungsstelle PS 2 hatte.

In der Regel war ein leichter Anstieg des Saprobienindex zwischen der jeweiligen Frühjahrs- und Herbstbeprobung erkennbar, besonders deutlich an der Referenzstelle PS 0. Nach Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe ist an der Untersuchungsstelle PS 2, unterhalb der KA Langwiese, eine Verringerung der Differenz zwischen Frühjahr und Herbst zu erkennen; d. h. der Anstieg fiel in den Herbstaufnahmen an dieser Stelle nur noch gering aus.

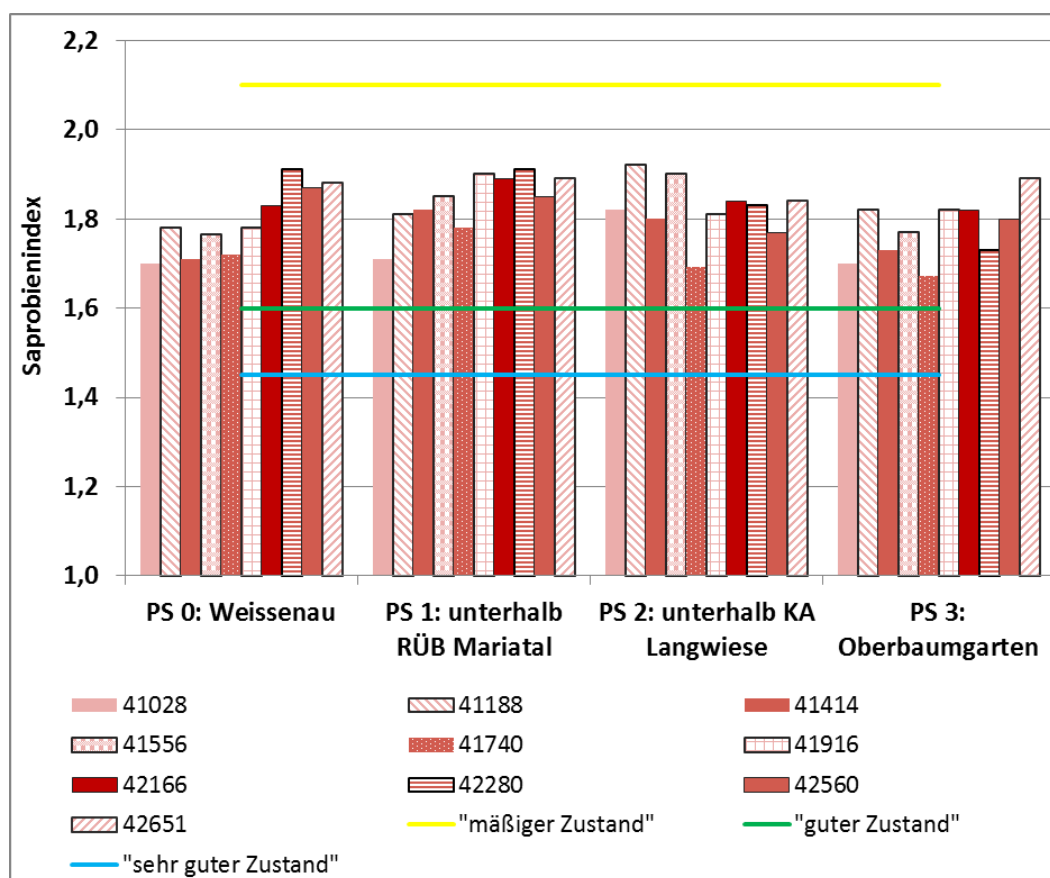


Abb. 251: Der Verlauf des Saprobienindex an den vier Untersuchungsstellen der Schussen in den Jahren 2012 bis 2016 mit der typspezifischen Güteeinstufung (Typ 3.2) der WRRL. Unterhalb der blauen Linie befindet sich der vom Menschen unbeeinflusste saprobielle Referenzzustand für den Gewässertyp 3.2. Zwischen der blauen und grünen Linie befindet sich der „sehr gute“ saprobielle Zustand und zwischen der grünen und gelben Linie der nach WRRL mindestens geforderte „gute saprobielle Zustand“. Saprobienindices über der gelben Linie weisen auf einen nur noch „mäßigen“ saprobiellen Zustand hin

In drei der vier Voruntersuchungen trat unterhalb der KA Langwiese ein leichter Anstieg des Saprobienindex von durchschnittlich  $\Delta S = 0,09$  auf. In der vierten Aufnahme am 20.05.2013

wurde die Auswirkung der Kläranlage durch den starken Anstieg des Saprobienindex an der oberstromigen Untersuchungsstelle PS 1, unterhalb des RÜB Mariatal, überdeckt, wie aus Abb. 252 hervorgeht.

Bereits bei der ersten Erhebung am 11.04.2014 nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe hat sich der Saprobienindex unterhalb der KA Langwiese deutlich verbessert – sowohl im Vergleich zu den Voruntersuchungen an dieser Stelle als auch im Vergleich zur Referenzstelle PS 0 (s. Abb. 252).

Wie aus Abb. 252 weiter ersichtlich ist, war in allen sechs Güteuntersuchungen der Jahre 2014 bis 2016 zwischen den Untersuchungsstellen PS 1 und PS 2 eine leichte Verringerung des Saprobienindex und damit eine Verbesserung der Gewässergüte in der Schussen unterhalb der KA Langwiese festzustellen. Der schlechteste Saprobienindex trat ab 2014 nicht mehr unterhalb der KA Langwiese (s. PS 2) auf, sondern an PS 1 unterhalb der Mischwassereinleitung des RÜB Mariatal.

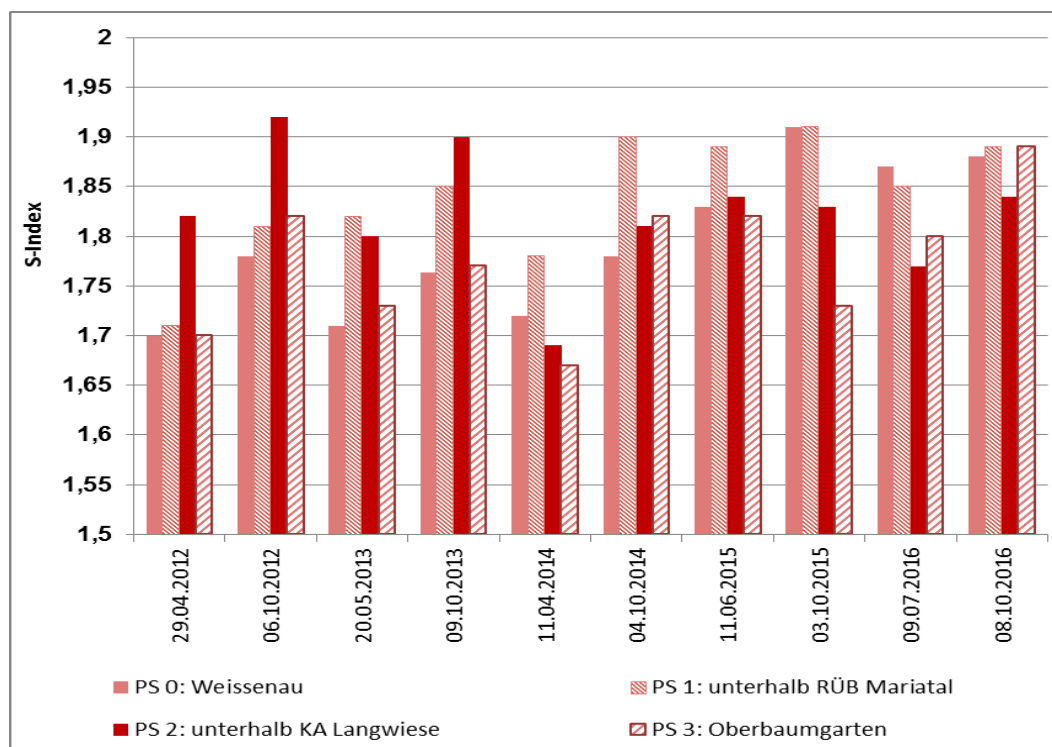


Abb. 252: Der Verlauf des Saprobienindex an den vier Untersuchungsstellen der Schussen in den 10 Aufnahmen von 04/2012 bis 10/2016

Dass der Saprobienindex an den Untersuchungsstellen PS 0 und PS 1 in den Herbstaufnahmen 2015 und 2016 nahezu identisch ist, liegt in der langen Periode ohne Mischwasserentlastungen am RÜB Mariatal in den niederschlagsarmen Sommerhalbjahren 2015 und 2016 begründet. Dass der Saprobienindex an den Untersuchungsstellen PS 0 und PS 1 sogar im Vergleich zur Stelle PS 2 etwas schlechter ist, hängt mit der Ablagerung von

Feinsedimenten auf der Gewässersohle in diesen langen Zeiträumen mit niedrigen Abflüssen zusammen. Dies führte zu einem großflächigen leichten Überzug der Gewässersohle durch Sedimente der Sand- und Schlufffraktion, wodurch sich die Lebensbedingungen für anspruchsvolle Arten verschlechterten (s. Abb. 255). Im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 trat dies nicht in diesem Umfang auf. Aufgrund der hier noch geringeren Gewässerbreite herrscht eine höhere Strömungsgeschwindigkeit, wodurch Feinsedimentablagerungen weitgehend unterbleiben.

Der biologische Befund zeigt, dass für die Verbesserung der Gewässergüte unterhalb der KA Langwiese sowohl der Anstieg von verschmutzungssensitiven Arten (s. Abb. 260 und 261) verantwortlich ist, als auch der quantitative Rückgang einiger saprophiler<sup>4</sup> Arten, v. a. des Rollegels *Eprobodella octoculata* und des Schlammröhrenwurms *Tubifex* spp. Während die Wasserassel *Proasellus coxalis* nur in den Jahren 2012 und 2013 an der Untersuchungsstelle PS 2 nachgewiesen werden konnte, trat ihre Schwesterart *Asellus aquaticus* auch nach Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe hier noch sporadisch in Erscheinung.

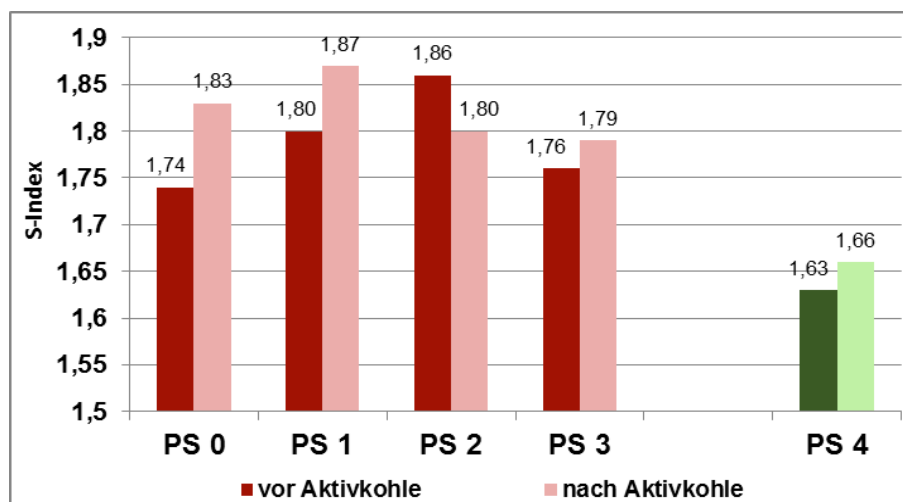


Abb. 253: Der gemittelte Saprobienindex an den vier Untersuchungsstellen der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Argen – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese

Abb. 253 zeigt, dass an der Untersuchungsstelle PS 2 entgegen dem Trend an den drei anderen Stellen in der Schussen (s. PS 0, PS 1 und PS 3) im Mittel der Jahre 2014 bis 2016 ein Rückgang des Saprobienindex von durchschnittlich 1,86 auf 1,80 stattgefunden hat. Von

<sup>4</sup> Als saprophil werden die Arten bezeichnet, welche von einer organischen Verschmutzung des Gewässers profitieren.

besonderem Interesse ist hierbei, dass der Anstieg des Saprobienindex, wie er sich in der Schussen mit Ausnahme der Stelle PS 2 zeigt, auch im Referenzgewässer, der Unteren Argen, aufgetreten ist (s. P4 in Abb. 253).

Anzumerken ist noch, dass die Untere Argen an der Referenzstelle P4 mit Saprobienindices zwischen 1,59 und 1,73 im gesamten Untersuchungszeitraum von 2012 bis 2016 saprobiell geringer belastet war im Vergleich zur Schussen. Die Saprobie bewegte sich hier nahezu konstant an der Grenze zwischen dem „guten“ und „sehr guten“ Zustand, die sich bei  $S = 1,60$  befindet (s. Abb. 254).

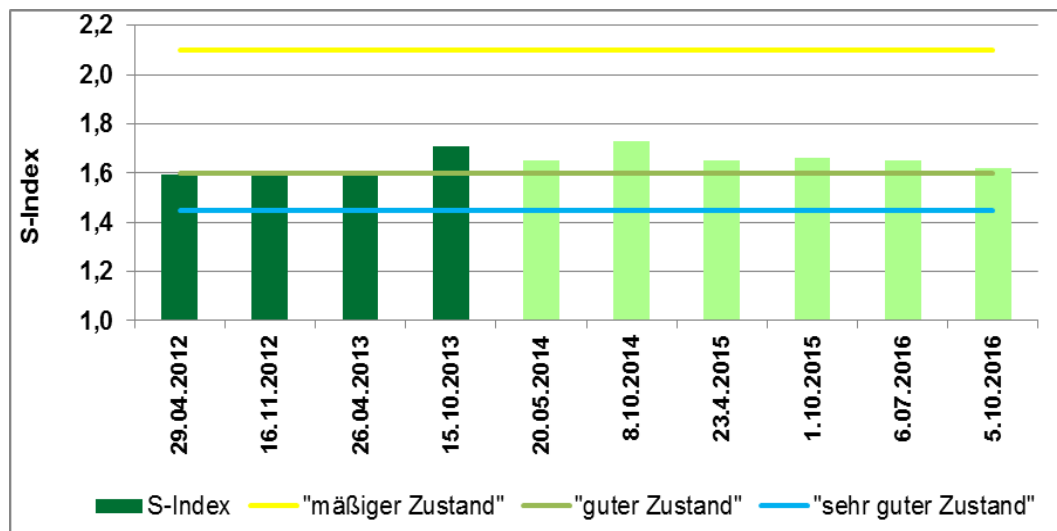


Abb. 254: Der Verlauf des Saprobienindex (S-Index) an der Untersuchungsstelle PS 4 in der Unteren Argen in den 10 Aufnahmen der Jahre 2012 bis 2016



Abb. 255: Die Gerölle auf der Gewässersohle der Schussen an der Untersuchungsstelle PS 0 waren nach der langen Niedrigwasserphase im Herbst 2016 großflächig mit Sand- und Schluffablagerungen überzogen (Aufnahme am 8.10.2016)

## 4.20.2 Auswirkungen auf die Zusammensetzung des Makrozoobenthos

Zur besseren Übersicht wurden in den Abb. 256 bis 262 jeweils die Befunde der biologischen Aufnahmen vor (2012 – 2013) und nach (2014 – 2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese an den einzelnen Untersuchungsstellen gemittelt und einander gegenübergestellt.

Aus Abb. 256 ist ersichtlich, dass die Anzahl der Arten des Makrozoobenthos in der Schussen in den vier Aufnahmen der Jahre 2012 und 2013 unterhalb der Einleitung der KA Langwiese (s. PS 2) mehr oder weniger deutlich zurückgegangen ist. An den Untersuchungsstellen PS 2 und PS 3 war der Artenbestand in diesen vier Aufnahmen konstant geringer im Vergleich zu PS 0 und PS 1.

Während die Stelle PS 3 bei Oberbaumgarten nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe in vier von sechs Erhebungen immer noch den geringsten Artenbestand aufwies, wurde an der Stelle PS 2 ab dem Jahr 2014 ein deutlicher Anstieg der Artenzahlen festgestellt (s. Abb. 256).

Wie aus Abb. 257 hervorgeht, hat entgegen des Trends an den drei anderen Untersuchungsstellen in der Schussen und der Referenzstelle PS 4 in der Unteren Argen die Anzahl der Arten des Makrozoobenthos unterhalb der KA Langwiese nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe leicht zugenommen (s. PS 2 in Abb. 257)

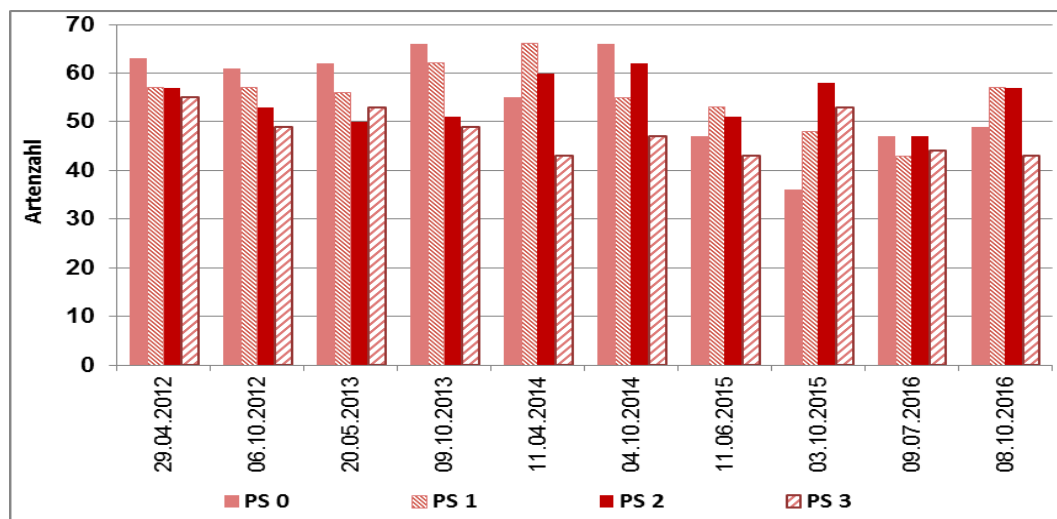


Abb. 256: Die Veränderung der Artenzahl des MZB in der Schussen in den 10 Aufnahmen im Zeitraum 2012 bis 2016

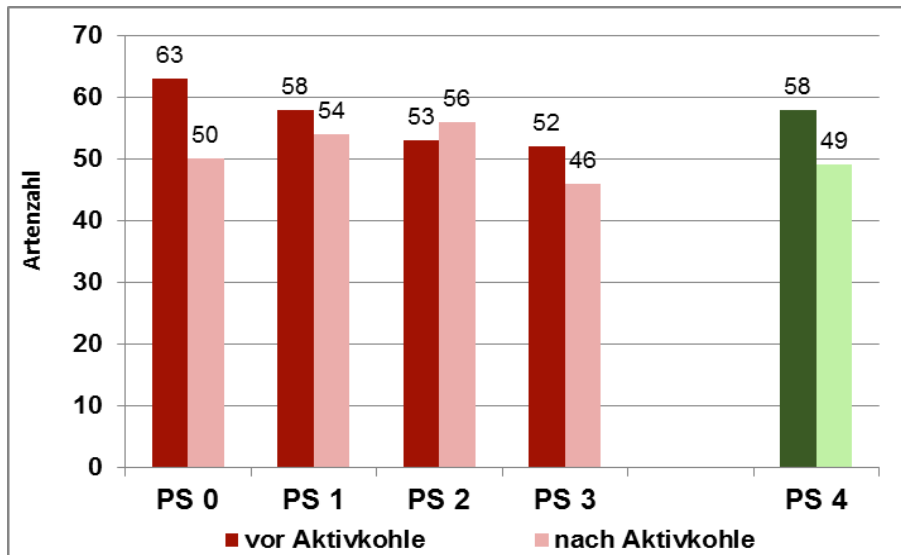


Abb. 257: Die durchschnittliche Artenzahl des Makrozoobenthos an den vier Untersuchungsstellen in der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Unteren Argen – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese

Die Besiedlungsdichte des Makrozoobenthos eines Fließgewässers kann erheblichen Schwankungen unterliegen - sowohl im Jahresverlauf als auch zwischen den Jahren. Diese werden sowohl von endogenen Faktoren (z. B. Entwicklungszyklus der Insekten) als auch exogenen Faktoren (z. B. Geschiebetrieb bei hohen Abflüssen, Kolmation der Gewässersohle) beeinflusst. Den Hauptanteil am Sohlsubstrat der Schussen bilden überwiegend Gerölle mit 6 bis 15 cm Durchmesser, welche bei höheren Abflüssen leicht umgelagert werden und daher keine stabilen Besiedlungsbedingungen bieten. Bei hohen Abflüssen ist deshalb in der Schussen von einer starken Verdriftung der Organismen auszugehen.

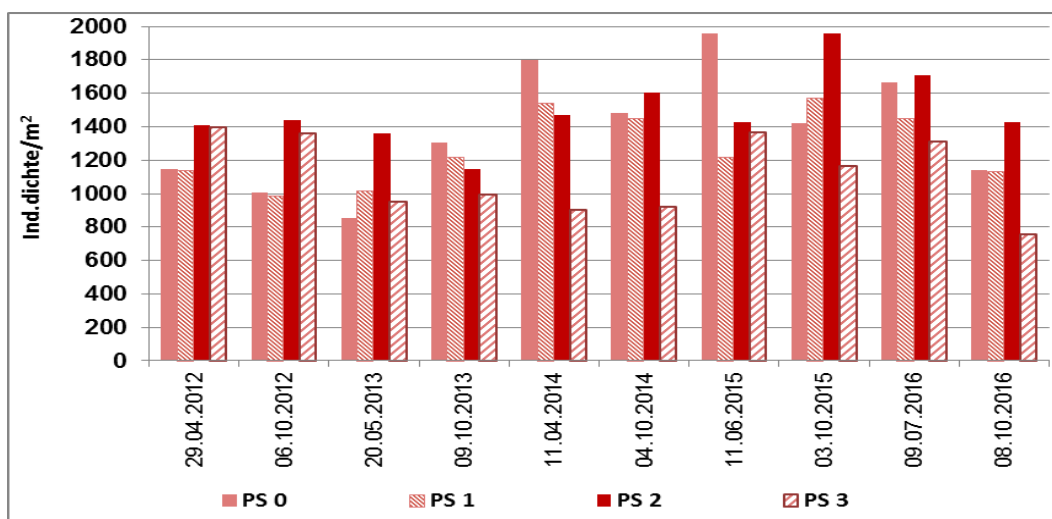


Abb. 258: Die Veränderung der Besiedlungsdichte des MZB an den vier Untersuchungsstellen der Schussen in den 10 Aufnahmen der Jahre 2012 bis 2016

Aus Abb. 258 ist ersichtlich, dass die Individuendichte des MZB in der Schussen zwischen den einzelnen Aufnahmen sehr starken Schwankungen unterliegt; daher ist hier kein Trend erkennbar. Unterhalb der KA Langwiese war im Zeitraum 2014 bis 2016 eine Zunahme der Besiedlungsdichte festzustellen, die jedoch auch an allen anderen Untersuchungsstellen einschließlich der Argen (PS 4) verzeichnet wurde (s. Abb. 259).

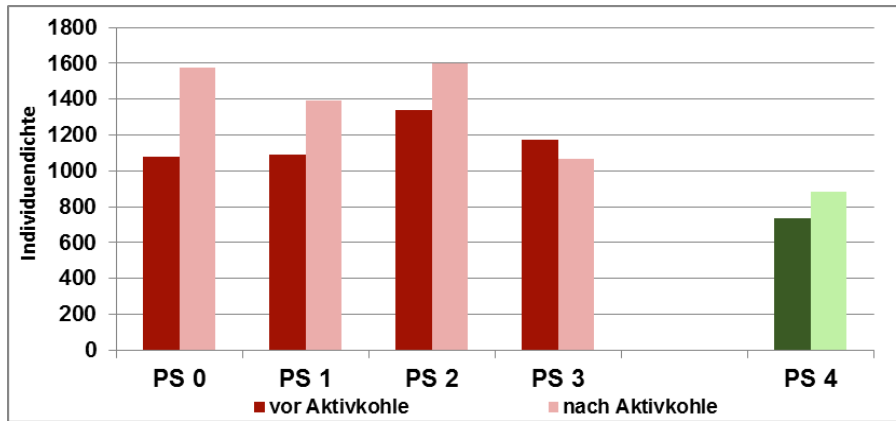


Abb. 259: Die durchschnittliche Artenzahl des Makrozoobenthos an den vier Untersuchungsstellen der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Unteren Argen – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese

Innerhalb des Makrozoobenthos wurden zwei Gruppen detailliert betrachtet: die sensitiven Arten nach der Austria-Liste und die EPT-Taxa.

Das Vorkommen der sensitiven Arten<sup>5</sup> zeigte deutliche Schwankungen zwischen den verschiedenen Untersuchungsstellen und –terminen (s. Abb. 260). Diese in Bezug auf die Wasserqualität besonders anspruchsvolle Gruppe wies in den Erhebungen vor Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe an der Untersuchungsstelle PS 2 den niedrigsten Bestand entlang der gesamten Untersuchungsstrecke in der Schussen auf.

<sup>5</sup> Zu den sensitiven Arten innerhalb des MZB in der Schussen zählen z. B. die Eintagsfliegen *Oligoneuriella rhenana*, *Epeorus assimilis*, *Electrogena* sp., *Heptagenia* sp., *Habroleptoides confusa*, *Ephemera danica* und die Steinfliegen *Perla marginata*, *P. abdominalis*, *Isoperla* sp., *Taeniopteryx schoenemundi* sowie die Hakenkäfer der Gattungen *Elmis*, *Esolus* und *Riolus* (Ofenböck et al. 2010).

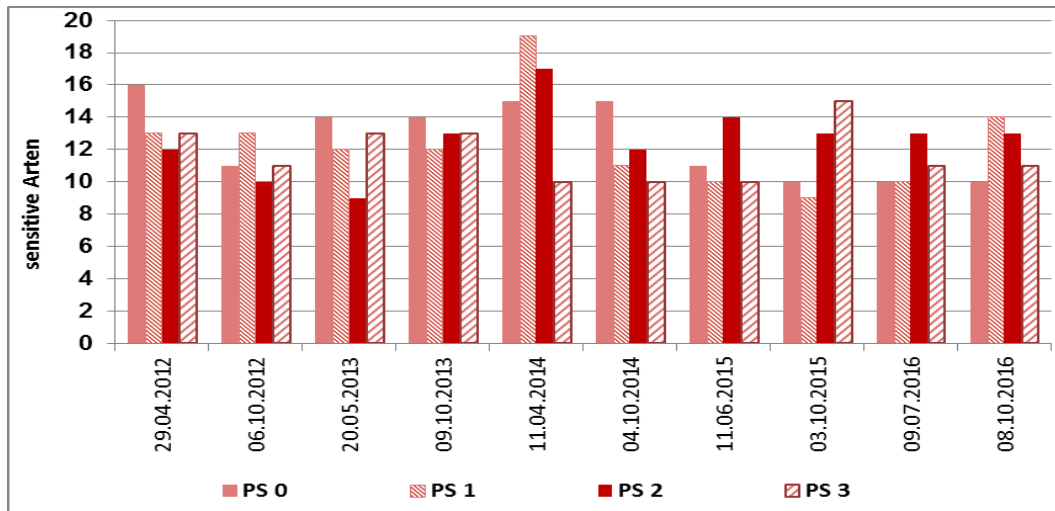


Abb. 260: Die Veränderung der Anzahl der sensitiven Arten an den vier Untersuchungsstellen der Schussen in den 10 Aufnahmen der Jahre 2012 bis 2016

Aus Abb. 261 geht hervor, dass im Untersuchungszeitraum 2014 bis 2016 an den Untersuchungsstellen PS 0 und PS 3 in der Schussen und auch in der Referenzstelle in der Unteren Argen ein leichter Rückgang in der Gruppe der Sensitiven um durchschnittlich zwei Arten verzeichnet wurde. An der Untersuchungsstelle PS 1, unterhalb des RÜB Mariatal gab es bei dieser Artengruppe im Mittel dieser Jahre keine Veränderung und an der Stelle PS 2, unterhalb der KA Langwiese war ein leichter Anstieg um durchschnittlich zwei Arten zu beobachten (s. Abb. 261).

Das bedeutet, dass das Defizit bei den sensitiven Arten in der Schussen unterhalb der KA Langwiese nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe aufgehoben wurde und auch an dieser Stelle mit 14 Arten die maximal mögliche Anzahl in diesem Schussenabschnitt vorhanden war<sup>6</sup>.

<sup>6</sup> Da zwischen den Untersuchungsstellen PS 1 und PS 2 kein nennenswerter Zufluss in die Schussen erfolgt, über den weitere Arten aus der Gruppe der Sensitiven in die Schussen einwandern könnten, ist es äußerst unwahrscheinlich, dass an der Untersuchungsstelle PS 2 mehr sensitive Arten auftreten im Vergleich zu den oberstromigen Untersuchungsstellen PS 0 und P1.



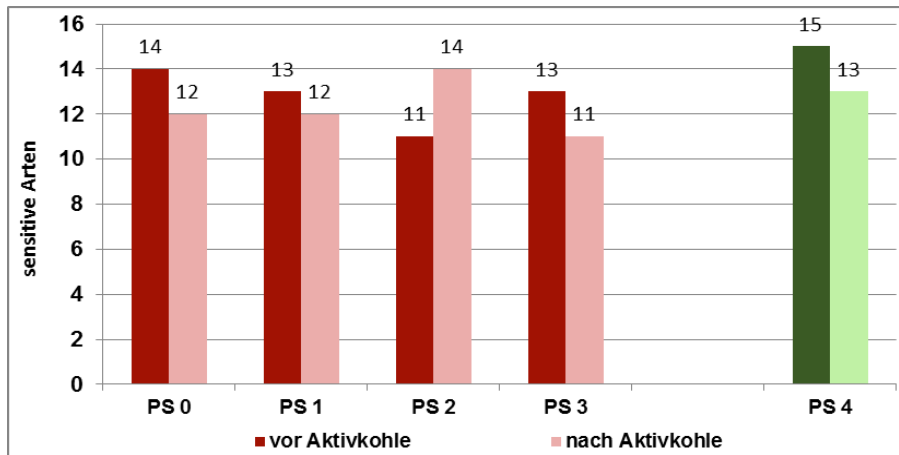


Abb. 261: Die durchschnittliche Anzahl der sensitiven Arten an den vier Untersuchungsstellen in der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Argen – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese

Bei den EPT-Taxa<sup>7</sup> trat ein ähnlicher Befund auf wie bei den sensitiven Arten (vgl. Abb. 261 und 262). Bei der Gruppe der Eintags-, Stein- und Köcherfliegen traten in den Untersuchungen der Jahre 2012 und 2013 an der Referenzstelle PS 0 mit durchschnittlich 27 die höchsten Artenzahlen auf – genauso viel wie im Referenzgewässer Argen (s. PS 4 in Abb. 262). In den Jahren 2014 bis 2016 wurde ein Rückgang der EPT-Taxa an der Referenzstelle PS 0 von 27 auf 22 Arten beobachtet. Ursache ist sehr wahrscheinlich auch hier die leichte Kolmation an der Gewässersohle. Während die Zahl der EPT-Taxa an den Untersuchungsstellen PS 1 und PS 3 nahezu unverändert blieb, kam es unterhalb der KA Langwiese nach Inbetriebnahme zu einem Anstieg der EPT-Taxa von durchschnittlich 21 auf 25 Arten. Im Referenzgewässer Argen hat sich dagegen die Zahl der EPT-Taxa in diesem Zeitraum nicht wesentlich verändert (s. Abb. 262).

<sup>7</sup> Dieser Metric summiert die Taxazahl der Ephemeroptera, Plecoptera und Trichoptera. Die Anzahl der EPT-Taxa ist einer der verlässlichsten Metrics und sehr sensitiv gegenüber Veränderungen der Wasserqualität, bzw. verschiedenster Belastungsarten. Diese Maßzahl zeigt weniger Variabilität als die Gesamttaxazahl; sie wird daher weltweit häufig für Bewertungsverfahren eingesetzt. Der Metric spiegelt in erster Linie die Artendiversität wider. Da die EPT-Ordnungen zudem überwiegend intolerante Taxa beinhalten, reagiert der Metric empfindlicher auf Belastungen als die Gesamttaxazahl, insbesondere auch auf toxische Einflüsse. Die drei Insektenordnungen umfassen darüber hinaus Arten mit relativ hohen Habitatansprüchen, sowohl im aquatischen Bereich wie auch im terrestrischen Umfeld. Ein hoher Metric-Wert steht daher für ungestörte, strukturreiche Gewässer mit hoher Diversität.

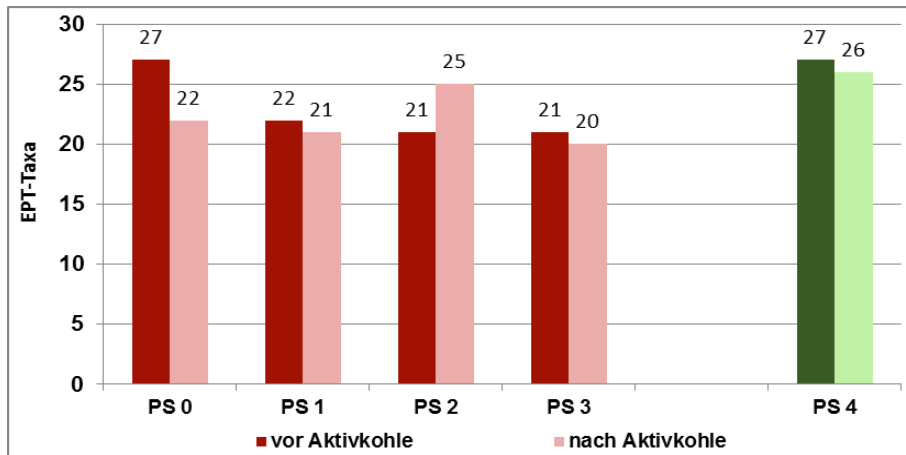


Abb. 262: Die durchschnittliche Anzahl der EPT-Taxa an den vier Untersuchungsstellen der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Argen – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese

Die Ordnung der Plecoptera (Steinfliegen) enthält sehr viele belastungsempfindliche, stenöke<sup>8</sup> Arten, die überwiegend im Bereich der Güteklasse I oder I-II eingestuft sind. Zusammen mit ihrer teilweise langen Generationszeit - das aquatische Larvenstadium dauert bei den *Perla*- und *Dinocras*-Arten zwei Jahre - stellen sie gute Indikatoren zur Bewertung der Wasserqualität dar. Wie aus Tab. 26 hervorgeht, kam es bei einigen Arten der Plecoptera unterhalb der KA Langwiese (PS 2) zu einer deutlichen Zunahme der Abundanz in den Jahren 2014 bis 2016 im Vergleich zu den Voruntersuchungen 2012 bis 2013 (s. *Leuctra fusca*-Gr., *Protonemura* sp.).

Tab. 26: Die Veränderungen innerhalb der Steinfliegenfauna an der Untersuchungsstelle PS 2 in der Schussen unterhalb der KA Langwiese – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe

DV-Nr (original)	Taxonname (original)	PS 2: 29.04.2012	PS 2: 6.10.2012	PS 2: 20.05.2013	PS 2: 9.10.2013	Mittelwert	PS 2: 11.04.2014	PS 2: 4.10.2014	PS 2: 11.06.2015	PS 2: 3.10.2015	PS 2: 9.07.2016	PS 2: 8.10.2016	Mittelwert
20930	<i>Perla abdominalis</i>	3	4	0	2	2	1	4	0	10	3	5	4
143	<i>Perla marginata</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	1
397	<i>Dinocras cephalotes</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	3	1
139	<i>Isoperla</i> sp.	21	0	5	3	7	35	0	8	0	0	0	7
128	<i>Amphinemura</i> sp.	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	1
325	<i>Perlodes</i> sp.	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
111	<i>Protonemura</i> sp.	1	0	0	0	0	14	0	1	0	4	0	3
723	<i>Taeniopteryx schoenemundi</i>	0	16	0	19	9	0	48	0	0	0	7	9
20924	<i>Nemoura/Nemurella</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	1
20381	<i>Leuctra fusca</i> -Gr.	21	0	5	1	7	0	0	67	8	49	0	21

<sup>8</sup> Stenöke Arten können nur in einem eng begrenzten Bereich hinsichtlich der Wasserqualität leben.

Abb. 263: Oben: Die „stark gefährdete“ Plecoptere *Taeniopteryx schoenemundi* wurde an den vier Untersuchungsstellen der Schussen und an der Referenzstelle PS 4 in der Argen bereits in den Aufnahmen vor (2012-2013) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese festgestellt (Aufnahme: Mevius). Unten: Die Plecoptere *Perla marginata* wird in der Schussen erst seit dem Jahr 2010 regelmäßig an den zwei Untersuchungsstellen PS 0 und PS 1 nachgewiesen. In den Aufnahmen nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe (2014-2016) wurde diese empfindliche Steinfliege auch unterhalb der KA Langwiese registriert (Aufnahme: Wurm)



Einige Plecoptera traten erst in der Phase nach Beginn der Spurenstoffelimination erstmals in der Schussen unterhalb der KA Langwiese auf (Abb. 263). Hier wäre besonders *Perla marginata* hervorzuheben, eine oligosaprobe Steinfliege, die in den Voruntersuchungen nur im Bereich der Untersuchungsstellen PS 0 und PS 1 vereinzelt auftrat. *Perla marginata* wurde zwischen 2014 und 2016 in drei von sechs Aufnahmen an der Untersuchungsstelle PS 2 nachgewiesen (s. Tab. 26). Die Häufigkeit (Abundanz) mit 1 bis 3 Ind./m<sup>2</sup> entspricht dabei dem Vorkommen dieser seltenen Art an den Untersuchungsstellen PS 0 und PS 1. Die etwas unempfindlichere Geschwisterart, *Perla abdominalis*, trat schon vor Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe in der Schussen unterhalb der KA Langwiese auf (s. Tab. 26). Allerdings wurde diese Plecoptere ab 2014 zeitweise in wesentlich größerer Abundanz festgestellt. In der Schussen wird diese Art seit den 90er Jahren im Bereich der Stellen PS 0 und PS 1 registriert.

Neben den Plecopteren zeigten die Elmiden (Hakenkäfer) mit den Gattungen *Elmis*, *Esolus* und *Riolus* nach Inbetriebnahme eine Ausbreitung in der Schussen unterhalb der KA Langwiese, wie aus Tab. 27 ersichtlich ist. Diese Arten stellen aufgrund ihrer besonderen

Atmung mit Hilfe einer „physiologischen Kieme“ eine Ausnahme innerhalb der sonst größtenteils wenig verschmutzungsempfindlichen Käferfauna in den Gewässern dar.

Tab. 27: Die Veränderungen innerhalb der Familie der Hakenkäfer (Elmidae) an der Untersuchungsstelle PS 2 in der Schussen unterhalb der KA Langwiese – in den Aufnahmen vor (2012-2013) und nach (2014-2016) Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe

DV-Nr (original)	Taxonname (original)	PS 2: 29.04.2012	PS 2: 6.10.2012	PS 2: 20.05.2013	PS 2: 9.10.2013	Mittelwert	PS 2: 11.04.2014	PS 2: 4.10.2014	PS 2: 11.06.2015	PS 2: 3.10.2015	PS 2: 9.07.2016	PS 2: 8.10.2016	Mittelwert
0	<i>Elmis rioloides Ad.</i>	3	10	0	2	4	10	3	13	17	3	12	10
0	<i>Elmis aenea Ad.</i>	0	0	3	2	1	0	5	0	0	0	0	1
0	<i>Elmis maugetii Ad.</i>	16	16	10	8	12	15	30	55	30	39	10	30
0	<i>Esolus parallelepipedus Ad.</i>	7	27	23	12	17	15	19	83	8	61	14	33
0	<i>Limnius perrisi Ad.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	<i>Limnius volckmari Ad.</i>	16	26	14	3	15	23	50	4	13	10	7	18
0	<i>Riolus cupreus Ad.</i>	4	36	0	5	11	1	9	11	7	67	19	19
0	<i>Riolus subviolaceus Ad.</i>	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0
17	<i>Oulimnius tuberculatus</i>	4	0	4	0	2	6	0	0	0	0	0	1

Unter den Köcherfliegen (Trichoptera) ist vor allem *Brachycentrus subnubilus* zu erwähnen, welche ab 2014 eine deutlich höhere Bestandsdichte unterhalb der KA Langwiese (PS 2) ausbildete.

Bei den Ephemeroptera ist vor allem die oligosaprobe *Epeorus assimilis* hervorzuheben, welche nach 2013 im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 regelmäßig nachgewiesen werden konnte. Auch *Heptagenia longicauda* und *H. sulphurea* wurden hier ab dem Jahr 2014 sporadisch gefunden.

Die Gammariden gehören zu den Arten des MZB, welche am empfindlichsten auf toxische Einflüsse reagieren.

Während der Bachflohkrebs *Gammarus fossarum*, der im Oberlauf der Schussen und in ihren Zuflüssen (Wolfegger Ach, Ettishofer Ach etc.) dominiert, unterhalb der KA Langwiese nur noch sporadisch gefunden wurde und hier offensichtlich seine natürliche Ausbreitungsgrenze in der Schussen hat, wiesen der Gewöhnliche Flohkrebs *G. pulex* und der Flussflohkrebs *G. roeseli* regelmäßig hohe Populationsdichten auf. Beide Krebsarten zeigten nach Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe ab dem Jahr 2014 eine leichte Zunahme an der Untersuchungsstelle PS 2 (*G. pulex* von Ø 210 auf 330 Ind./m<sup>2</sup> und *G. roeseli* von Ø 250 auf 300 Ind./m<sup>2</sup>).

Daneben ist der quantitative Rückgang einiger saprophiler Arten, v. a. des Rollegels *Erpobdella octoculata* und des Schlammröhrenwurms *Tubifex* spp. zu erwähnen, welcher auf eine weitere, leichte Verringerung der ohnehin schon niedrigen organischen Belastung nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe hinweist.

Während die Wasserassel *Proasellus coxalis* nur in den Jahren 2012 und 2013 an der Untersuchungsstelle P2 nachgewiesen wurde, trat ihre Schwesterart *Asellus aquaticus* auch nach Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe hier noch sporadisch in Erscheinung.

Bei den Benthosaufsammlungen und den Lichtfallenfängen wurden sowohl in der Argen als auch der Schussen zahlreiche gefährdete Arten der Roten Liste nachgewiesen. Die beiden „vom Aussterben bedrohten“ (R-L 1) Köcherfliegen *Drusus biguttatus* und *Allotrichia pallicornis* konnten nur im adulten Stadium bei den Lichtfallenfängen vereinzelt in der Schussen und der Unteren Argen nachgewiesen werden (s. Tab. 28).

Tab. 28: Der Nachweis von gefährdeten Arten der Roten Liste (BRD) an den Untersuchungsstellen in der Schussen und der Argen im Zeitraum 2012 – 2016 larval (L) und/oder adult (A) im Rahmen der Lichtfallenfänge

Rote Liste Kategorie:	Art	Schussen PS 0	Schussen PS 1	Schussen PS 2	Schussen PS 3	Unt. Argen PS 4
		(Weißenu)	(uh RÜB Mariatal)	(uh KA Langwiese)	(Oberbaumg.)	(Neumühle)
RL Kat. 1:	<i>Allotrichia pallicornis</i> (EATON, 1870)					A
"Vom Aussterben bedroht"	<i>Drusus biguttatus</i> (CURTIS, 1834)		A			
	<i>Ecdyonurus insignis</i> (EATON, 1870)	L	A, L	A, L	A, L	L
	<i>Oligoneuriella rhenana</i> (IMHOFF, 1852)		A, L	A, L	L	L
	<i>Rhithrogena beskidensis</i> ALBA-TERC. & SOWA, 1987	A, L	A, L	A, L	A, L	L
	<i>Perla abdominalis</i> BURMEISTER, 1839	A, L	A, L	A, L	A, L	
RL Kat. 2:	<i>Perla marginata</i> (PANZER, 1799)	A, L	A, L	L		
"Stark gefährdet"	<i>Taeniopteryx schoenemundi</i> (MERTENS, 1923)	A, L	A, L	A, L	A, L	L
	<i>Brachycentrus subnubilus</i> CURTIS, 1834	A, L	A, L	A, L	A, L	L
	<i>Glossosoma boltoni</i> CURTIS, 1834	L	A	A, L	A	A
	<i>Hydroptila angulata</i> MOSELY, 1922		A			
	<i>Oxyethira flavicornis</i> (PICTET 1834)		A			
RL Kat. 3: "Gefährdet"	<i>Agrypnia pagetana</i> CURTIS 1835 (RL D)	A				
	<i>Ithytrichia lamellaris</i> EATON 1873 (RL D)				A	
	<i>Baetis vardarensis</i> IKONOMOV, 1962	A, L	A, L	A, L	A, L	L
Erstfund Baden-Württemberg?	<i>Amphinemura borealis</i> (MORTON, 1894)					A

In der Rote-Liste Kategorie 2 („stark gefährdet“) befinden sich insgesamt 10 der in Argen und Schussen gefundenen Arten. Wie aus Tab. 28 hervorgeht, konnten die meisten dieser Arten sowohl im Larvenstadium als auch adult, d. h. als flugfähige Insekten, nachgewiesen werden.

Nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe wurde insbesondere bei der Steinfliege *Perla marginata* und der Köcherfliege *Brachycentrus subnubilus* eine Ausbreitung in der Schussen unterhalb der KA Langwiese (PS 2) beobachtet.

Der Nachweis der Plecoptere *Amphinemura borealis* in der Unteren Argen im Juli 2012 stellt sehr wahrscheinlich einen Erstdnachweis dieser Art für Baden-Württemberg dar.

Abschließend ist zu erwähnen, dass sich beim zweiten Bewertungsmodul des MZB, der Allgemeinen Degradation, die Schussen an allen vier Probestellen bereits zu Beginn der Untersuchungen im Jahr 2012 zwischen den Qualitätsklassen „gut“ und „sehr gut“ bewegt

hat. Während die Untersuchungsstelle PS 2, unterhalb der KA Langwiese in drei von vier Voruntersuchungen bei diesem Modul nur die Stufe „gut“ erreichte, wurde ab Herbst 2013 bis zum Ende der Aufnahmen im Oktober 2016 hier kontinuierlich die Qualitätsklasse „sehr gut“ verzeichnet.

### **Diskussion und Bewertung der Ergebnisse**

Die biologischen Untersuchungsergebnisse zeigen nahezu übereinstimmend, dass nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe im Sommer 2013 eine Verbesserung der Gewässergüte und der Zusammensetzung des Makrozoobenthos in der Schussen unterhalb der KA Langwiese eingetreten ist.

Die Unterschiede waren allerdings bei den meisten besiedlungstypischen Parametern nicht stark ausgeprägt. Dies war allerdings auch nicht zu erwarten, da die in den Referenzuntersuchungen der Jahre 2012 bis 2013 zu Tage getretenen Verschlechterungen beim MZB in der Schussen unterhalb der KA Langwiese aufgrund der damals bereits hohen Reinigungsleistung der Kläranlage ebenfalls nicht sehr stark ausgeprägt waren.

Da die Unterschiede in der Besiedlung hauptsächlich die gegenüber der Gewässerqualität anspruchsvollen Arten der Plecopteren (Steinfliegen), Eintags- und Köcherfliegen sowie der Elmiden (Hakenkäfer) betreffen, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit von einem ursächlichen Zusammenhang mit der Einrichtung der Aktivkohlestufe auf der KA Langwiese auszugehen.

Da die Besiedlung eines Flusses hauptsächlich über die natürliche Drift von oben nach unten und bei den Insekten zusätzlich über den Kompensationsflug erfolgt, kann die Schussen unterhalb der KA Langwiese im Wesentlichen auch nur durch solche Arten neu besiedelt werden, welche bereits im Fluss vorhanden sind bzw. aus den Zuflüssen in die Schussen einwandern. Dies konnte auch an der Untersuchungsstelle PS 2 beobachtet werden. Das vorher bestehende leichte Defizit im Artenbestand des MZB unterhalb der KA Langwiese ist ab 2014 vollständig verschwunden.

Schussen und Untere Argen weisen eine große Ähnlichkeit in der Zusammensetzung des MZB auf, wodurch die Untere Argen ein gutes Referenzgewässer für die Schussen darstellt. Durch den Vergleich der Entwicklung der Biozönose zwischen Schussen und Argen ist es z. B. möglich, witterungsbedingte Einflüsse aufzuzeigen.

Das Makrozoobenthos in der Unteren Argen zeigte tendenziell die gleiche Entwicklung in den Jahren 2012 bis 2016 wie die Schussen an den Untersuchungsstellen PS 0, PS 1 und PS 3. Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, dass die z. T. gegenläufigen, positiven Veränderungen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 nicht zufallsbedingt sind oder von den Witterungsbedingungen beeinflusst wurden.

Eine sehr wahrscheinlich untergeordnete Rolle bei der positiven Entwicklung des Makrozoobenthos unterhalb der KA Langwiese dürfte auch die strukturelle Umgestaltung dieses Schussenabschnittes infolge der Eigendynamik des Flusses spielen. Zwischen den Jahren 2012 und 2015 hat sich das Gewässerbett der Schussen im Bereich der Untersuchungsstelle PS 2 aufgrund der Erosion am linken Ufer deutlich verbreitert, was zu Kiesanlandungen und einer Erhöhung der Strömungs- und Substratdiversität geführt hat (vgl. Abb. 72 und 73 in Kap. 3.17).

Der biologische Befund zeigt allerdings eindeutig, dass für die Verbesserung der Gewässergüte unterhalb der KA Langwiese sowohl der Anstieg von verschmutzungssensitiven Arten als auch der quantitative Rückgang einiger saprophiler Arten verantwortlich ist. Insofern dürfte die Verbesserung der Wasserqualität hier auch den hauptsächlichen Wirkfaktor darstellen.

An der 14,4 km unterhalb der KA Langwiese befindlichen Untersuchungsstelle PS 3 bei Oberbaumgarten waren die positiven Veränderungen innerhalb des Makrozoobenthos im Wesentlichen nicht mehr feststellbar.

Obwohl an der Stelle PS 3 etwas günstigere Siedlungsbedingungen für das Makrozoobenthos vorliegen (z. B. ein wesentlich höherer Anteil größerer, stabil gelagerter Steine mit 20 bis 50 cm Durchmesser) war nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe in den Aufnahmen der Jahre 2014 bis 2016 keine wesentliche Verbesserung in der Zusammensetzung des Makrozoobenthos zu erkennen, wie dies an der Untersuchungsstelle PS 2 der Fall war.

Zwischen den Untersuchungsstellen PS 2 und PS 3 erfolgt zwar ein leichter Wechsel im Arteninventar, der auf die Veränderung der biozönotischen Längsgliederung in der Schussen zurückzuführen ist<sup>9</sup>; dies scheidet jedoch als Ursache für die zeitweise aufgetretene Verschlechterung des Makrozoobenthos an dieser Stelle aus.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass das Makrozoobenthos im Bereich von Oberbaumgarten sporadisch auch stärkeren Pestizideinträgen aus dem Intensivanbau von Obst und Hopfen ausgesetzt ist<sup>10</sup>, was im Bereich der Untersuchungsstellen PS 0 bis PS 2 noch nicht der Fall ist. Dies könnte die stärkeren Schwankungen des Saprobienindex und der

---

<sup>9</sup> Ein Beispiel für den Wechsel in der biozönotischen Längsgliederung stellt die Ablösung des Rollegels *Erpobdella octoculata*, der an den Stellen PS 0, P1 und PS 2 regelmäßig auftritt, durch den Egel *Dina punctata* im Bereich von Oberbaumgarten dar.

<sup>10</sup> Ein solcher Eintrag kann auch über die Schwarzach stattfinden, welche zwischen den Stellen PS 2 und PS 3 in die Schussen einmündet, da sich im Wassereinzugsgebiet der Schwarzach größere Flächen mit landwirtschaftlichen Sonderkulturen befinden.

populationsbiologischen Indices an dieser Stelle zwischen den verschiedenen Untersuchungsjahren erklären.

Abschließend ist festzustellen, dass in den Jahren 2014 bis 2016 nach Inbetriebnahme der Aktivkohlestufe beim Makrozoobenthos in der Schussen unterhalb der KA Langwiese kein Defizit mehr aufgetreten ist. Das bedeutet, dass die Einleitung der KA Langwiese heute keine merklichen negativen Auswirkungen mehr auf die Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos der Schussen zur Folge hat.

### 4.21 Befischungsdaten für die Schussen

*Tribskorn (Universität Tübingen)*

Von Herrn Willi Angele, Gewässerwart des Angelsportvereins Meckenbeuren Kehlen e.V., wurden dem Projekt Befischungsdaten für die Schussen vor (2011-2013) und nach (2012-2013) Ausbau der Kläranlage Langwiese zur Verfügung gestellt (Abb. 264).

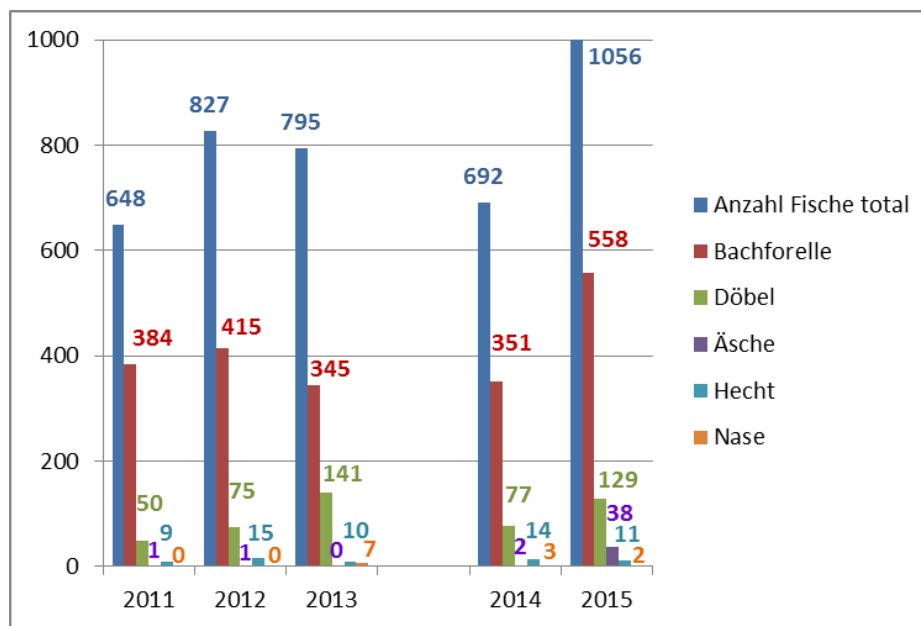


Abb. 264: Fangdaten für die Schussen vor und nach Ausbau der Kläranlage Langwiese

Hierbei handelt es sich um Rückfangdaten, die von Anglern gemeldet wurden, und nicht um Fangdaten, die aus wissenschaftlichem Interesse erhoben wurden. Laut Herrn Angele stammen die Daten von keiner expliziten Probestelle, sondern entsprechen dem Jahresfangergebnis der Angler, die die Schussen zwischen Ravensburg/Raue Rampe Deisenfang und der unteren Gewässergrenze oberhalb von Meckenbeuren befischt haben.



Die Daten sollen hier ergänzend zu den anderen Befunden an der Schussen dargestellt werden. Auch bei den Fangzahlen zeichnet sich nämlich eine Verbesserung der Situation an der Schussen nach Ausbau der Kläranlage ab.

## **4.22 Zusammenfassende statistische Datenauswertung (Auswirkungen auf das Ökosystem der Schussen)**

*Schwarz, Seifan, Köhler, Triebkorn (Universität Tübingen)*

### **4.22.1 Spurenstoffe Freiland**

Die Analyse wurde, wie bereits im entsprechenden Kapitel zur Anlagenbewertung beschrieben, auf ein kleineres Spektrum an Spurenstoffen eingeschränkt, die untereinander wenige Korrelationen zeigten. Auffällig war im Vergleich zu der für die Kläranlagenabläufe separat durchgeführte Analyse die schlechte Korrelation von  $SAK_{254}$  mit anderen Parametern im Freiland. Die Redundanzanalyse zeigte eine sichtbare Auftrennung und Gruppierung des Datensatzes anhand der Parameter Probenahmejahr, Wasserstand und Probestelle (Abb. 265). Die erste Achse ist vornehmlich durch das Probenahmejahr bestimmt und erklärt 27,1 % der Variation (57,9 % der erklärbaren Variation). Die zweite Achse ist durch den Wasserstand bestimmt und erklärt gemeinsam mit der ersten Achse 38,8 % der Variation (82,9 % der erklärbaren Variation). Auffällig war hierbei die starke Korrelation des Parameters  $SAK_{254}$  mit dieser Achse. Die dritte Achse trennt die Probestelle 4 an der Argen von denen der Schussen und erklärt kumulativ mit den vorherigen Achsen 43,9 % der Variation (93,7 % der erklärbaren Variation). Mit der vierten Achse werden insgesamt maximal 45,7 % der Variation durch die Umweltvariablen erklärt.

Um genauere Unterschiede zwischen den Probestellen der Schussen herauszuarbeiten, wurde die Referenzprobestelle PS 4 an der Argen aus der Analyse entfernt (Abb. 266). Die Einflüsse auf die Achsen änderten sich hierdurch kaum, und auch die erklärbare Variation wurde nur minimal erhöht: Erste Achse 28,5 % (60,2 %), zweite Achse 42,8 % (90,4 %), dritte Achse 45,7 % (96,4 %), maximal 47 %. Auch in diesem Fall zeigte sich wieder ein starker Einfluss des Wasserstandes (zweite Achse) auf den Parameter  $SAK_{254}$ . Wie bei der vorherigen Analyse zeigte sich die Probestelle PS 6, kurz vor der Mündung der Schussen in den Bodensee, als am stärksten mit Spurenstoffen belastet. Des Weiteren war ein deutlicher Trend zur Abnahme der Spurenstoffkonzentrationen an den Probestellen 0, 1 und 3 in den späteren Jahren der Untersuchung zu beobachten.

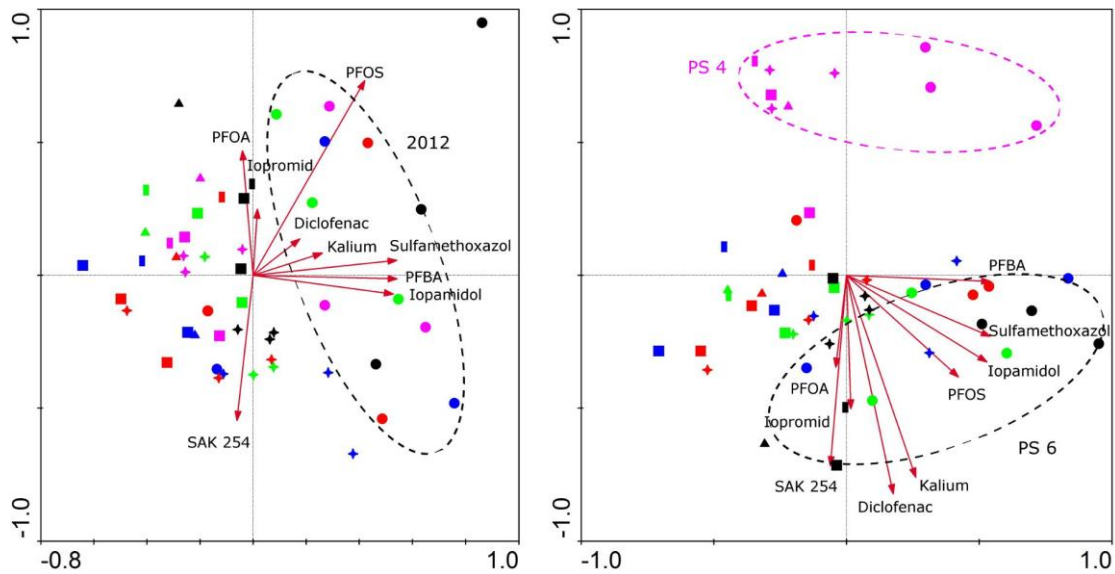


Abb. 265: RDA zur Spurenstoffanalytik an Schussen und Argen. Probestelle 0 (oberhalb RÜB Mariatal) ist in blau, Probestelle 1 (unterhalb RÜB, oberhalb Kläranlage) in rot, Probestelle 3 (unterhalb Kläranlage) in grün, Probestelle 4 (Referenzstelle an der Argen) in violett und Probestelle 6 (Mündung) in schwarz dargestellt. Dargestellt ist links die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal, rechts die erste Achse horizontal und die dritte Achse vertikal. Kreise: 2012, Sterne: 2013, Quadrate: 2014, Dreiecke: 2015, Rechtecke: 2016. Die Daten zeigen einen deutlichen Trend zu höheren Spurenstoffkonzentrationen in den ersten Jahren, zum anderen trennt sich die Referenzstelle an der Argen sichtbar von den Probestellen der Schussen ab

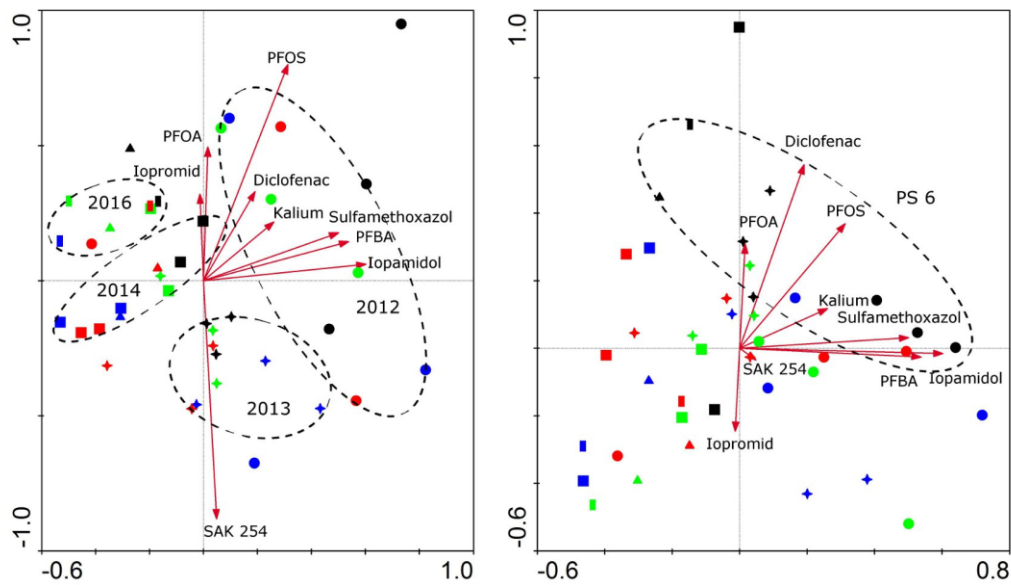


Abb. 266: RDA zur Spurenstoffanalytik an der Schussen. Probestelle 0 (oberhalb RÜB Mariatal) ist in blau, Probestelle 1 (unterhalb RÜB, oberhalb Kläranlage) in rot, Probestelle 3 (unterhalb Kläranlage) in grün und Probestelle 6 (Mündung) in schwarz dargestellt. Dargestellt ist links die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal, rechts die erste Achse horizontal und die dritte Achse vertikal. Kreise: 2012, Sterne: 2013, Quadrate: 2014, Dreiecke: 2015, Rechtecke: 2016. Bei den meisten der betrachteten Spurenstoffe nimmt die Konzentration über die Jahre hinweg ab. Zusätzlich erweist sich die Probestelle 6 als tendenziell stärker belastet

## 4.22.2 Effektpotentiale Freiland

Im Freiland waren insbesondere die Parameter Probenahmejahr und Wasserstand von Bedeutung (Abb. 267). Die erste Achse wird primär vom Probenahmejahr beeinflusst und erklärt 44,5 % der Variation (74,3 % der erklärbaren Variation). Hier sind insbesondere erhöhte Mortalität von *Danio rerio*, sowie erhöhte Werte der Potentialtests bei Niedrigwasser, und erhöhte Schlupfrate und verringerte Effektpotentiale bei Hochwasser zu beobachten. Die zweite Achse wird vornehmlich auch vom Probenahmejahr bestimmt und erklärt mit der ersten Achse 56,5 % der Variation (94,4 % der erklärbaren Variation). Die dritte Achse trennt die Probestellen voneinander und erklärt kumulativ 58,3 % der Variation (97,4 % der erklärbaren Variation).

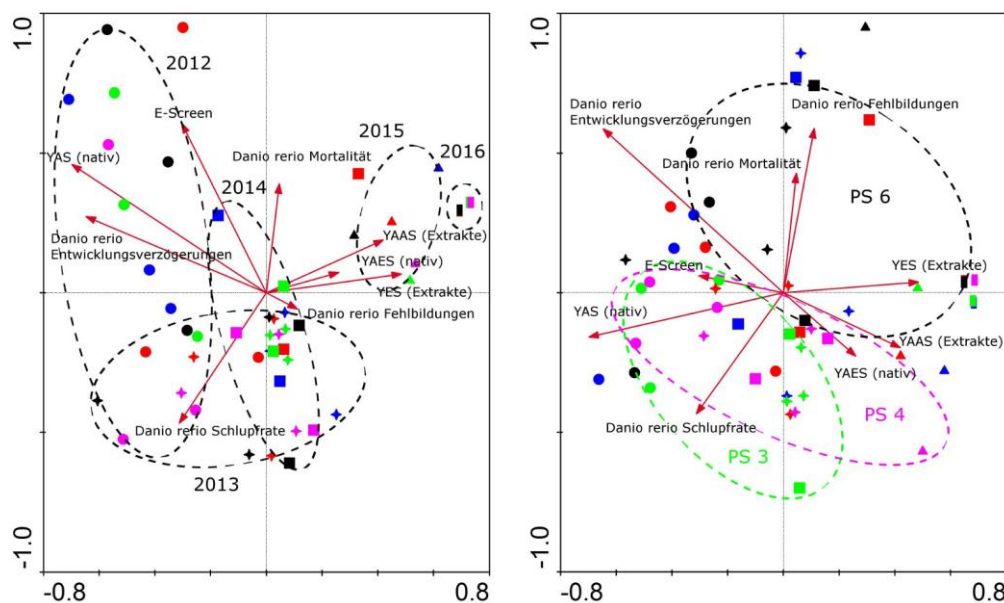


Abb. 267: RDA zur Effektpotentialanalytik an Schussen und Argen. Probestelle 0 (oberhalb RÜB Mariatal) ist in blau, Probestelle 1 (unterhalb RÜB, oberhalb Kläranlage) in rot, Probestelle 3 (unterhalb Kläranlage) in grün, Probestelle 4 (Referenzstelle an der Argen) in violett und Probestelle 6 (Mündung) in schwarz dargestellt. Dargestellt ist links die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal, rechts die erste Achse horizontal und die dritte Achse vertikal. Kreise: 2012, Sterne: 2013, Quadrate: 2014, Dreiecke: 2015, Rechtecke: 2016. Links zeigt sich ein deutlicher Einfluss des Wasserstandes auf die gemessenen Effektpotentiale dahingehend, dass höhere Effektpotentiale bei geringen Wasserständen gemessen wurden. Weiterhin sind starke, jahresspezifische Einflüsse zu beobachten, welche das gesamte Datenmuster prägen. Die Probestellen sind im Vergleich dazu nur von untergeordneter Bedeutung

Nennenswert sind hierbei die tendenziell schlechteren Werte zu Mortalität, Fehlbildungen und Entwicklungsverzögerungen bei *D. rerio* für die Probestelle 6, sowie ein sehr ähnliches Muster der Probestellen 3 und 4. In Bezug auf die Effektpotentiale zeigt die Schussen unterhalb der Kläranlage Langwiese also eine ähnliche Tendenz wie die Referenzstelle an der Argen. Es muss jedoch ebenfalls erwähnt werden, dass sich die Auftrennung und

Interpretation der Effektpotentiale im Freiland deutlich schwieriger gestaltet als an der Anlage, und ebenfalls schwieriger als die Interpretation der Spurenstoffe im Freiland. Ein klarer Gradient ist vor allem für den Wasserstand ersichtlich und es zeigt sich eine stark jahresspezifische Variation. Die Probestellen selbst erklären nur einen geringen Teil der Variation.

### 4.22.3 Wirkungen Freiland – Bypassanlagen

Die an den Bypassanlagen exponierten Eier/Larven von Bach- und Regenbogenforellen zeigten sich von mehreren berücksichtigten Faktoren beeinflusst, wobei die Temperatur, das jeweilige Jahr und der Expositionsort hervorstachen (Abb. 268). Die erste Achse ist vornehmlich davon bestimmt, ob das Aquarium der Bypassanlage temperiert oder unbeheizt war und erklärt 23,6 % der Variation (54,3 % der erklärbaren Variation).

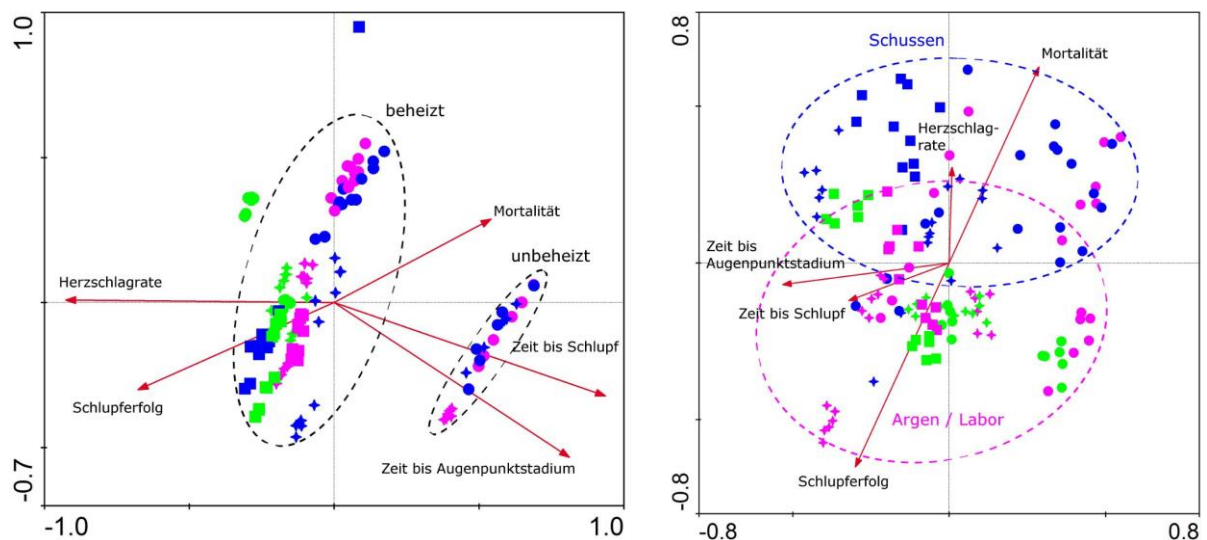


Abb. 268: RDA zu den an den Bypassanlagen beobachteten Wirkungen auf Regenbogen- und Bachforellenlarven. Die Schussen (Gunzenhaus) ist in blau, die Argen (Pflegelberg) ist in violett und der Laborversuch (Tübingen) ist in grün dargestellt. Links sind die erste Achse horizontal und die zweite Achse vertikal, rechts die zweite Achse horizontal und die dritte Achse vertikal dargestellt. Kreise: 2012/2013, Sterne: 2013/2014, Quadrate: 2014/2015. Links zeigt sich der deutliche Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung und Herzschlagrate der Larven. Der rechte Graph veranschaulicht die Unterschiede zwischen den Probestellen an Argen und Schussen, die sich jedoch auch über die Jahre hinweg verändern

Die zweite Achse trennt die untersuchten Jahre voneinander und erklärt mit der ersten Achse 36,6 % der Variation (84,2 % der erklärbaren Variation). Die dritte Achse trennt die Probestellen voneinander, wobei die Stelle an der Argen starke Ähnlichkeiten zur Laborkontrolle zeigt und sich von der Schussen absetzt – die drei Achsen erklären zusammen 42,2 % der Variation (97,1 % der erklärbaren Variation). Insgesamt zeigten sich erwartungsgemäß deutlich längere Entwicklungszeiten in den unbeheizten Aquarien,

wohingegen Schlupferfolg und Herzschlagrate in den beheizten Becken höher waren. Die an der Schussen exponierten Tiere zeigten eine höhere Mortalität als an der Argen oder im Labor, wobei dieser Effekt vor allem im Winter 2012/2013, vor Ausbau der Kläranlage, auftrat. Die an Argen und im Labor exponierten Tiere zeigten hingegen höhere Schlupferfolge, wobei auch hier jahresspezifische Unterschiede zu verzeichnen waren.

Bei den an den Bypassanlagen exponierten einjährigen Tieren wurden getrennte Analysen für Bach- und Regenbogenforellen durchgeführt, da für Regenbogenforellen eine größere Zahl an untersuchten Parametern vorhanden war. Da das für Bachforellen generierte Modell nur maximal 5,2 % der Variation erklärte (nicht gezeigt), wurde es nicht weiter untersucht. Bei Regenbogenforellen konnte hingegen ein deutlich höherer Anteil der Variation erklärt werden (Abb. 269).

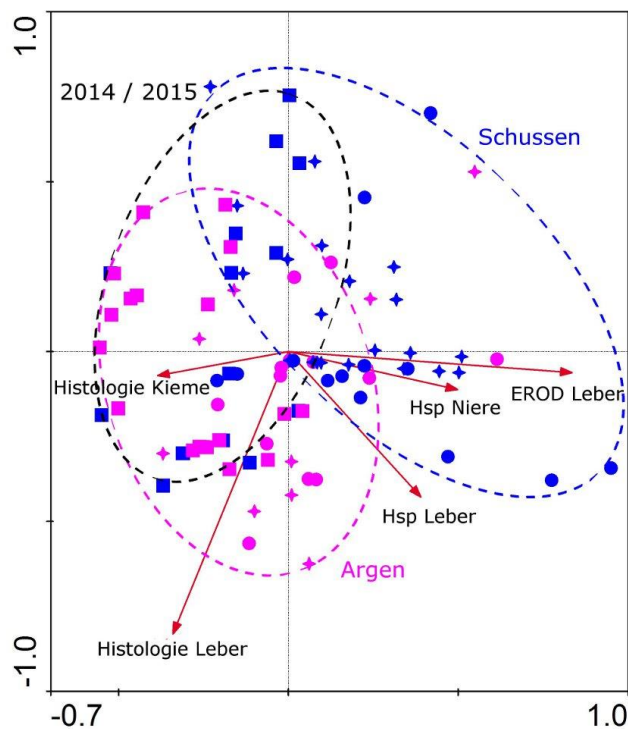


Abb. 269: RDA zu an den Bypassanlagen beobachteten Wirkungen auf einjährige Regenbogenforellen. Die Schussen (Bypass Gunzenhaus) ist in blau und die Argen (Bypass Pffegelberg) in violett dargestellt. Die erste Achse ist horizontal und die zweite Achse vertikal dargestellt. Kreise: 2012/2013, Sterne: 2013/2014, Quadrate: 2014/2015. Die Schussen (rechts oben) wird deutlich von der Argen (links unten) getrennt – es zeigt sich jedoch auch eine Annäherung der beiden Gruppen, insbesondere im letzten Untersuchungsjahr

Die erste Achse wurde in erster Linie durch das Jahr, aber auch durch die beiden Flüsse bestimmt und erklärte 22,8 % der Variation (84 % der erklärbaren Variation). Die zweite Achse trennte weiter zwischen den beiden Probestellen auf und erklärte gemeinsam mit der ersten Achse 27,1 % der Variation (100 % der erklärbaren Variation). Die beiden

untersuchten Flüsse konnten durch die Analyse weitestgehend voneinander getrennt werden, aber es waren auch Veränderungen über die Jahre hinweg zu verzeichnen. Insbesondere die Parameter oxidative Biotransformation (EROD) und Stressproteine (Hsp) verbesserten sich im letzten untersuchten Jahr. Die Trennung zwischen den Flüssen ist für das letzte Jahr schwächer, so dass davon ausgegangen werden kann, dass sich die Qualität beider Systeme aneinander annähert – ein Indiz für eine Verbesserung der Gewässerqualität der Schussen nach dem Ausbau der Kläranlage.

#### 4.22.4 Wirkungen Freiland – Käfigexposition an der Kläranlage Langwiese

Im Modell für die an der Kläranlage Langwiese exponierten Regenbogenforellen (Abb. 270) erklärte die erste Achse, vorwiegend bestimmt durch das Jahr aber auch zu einem gewissen Teil durch die Position des Käfigs, 30 % der Variation (92,2 % der erklärbaren Variation).

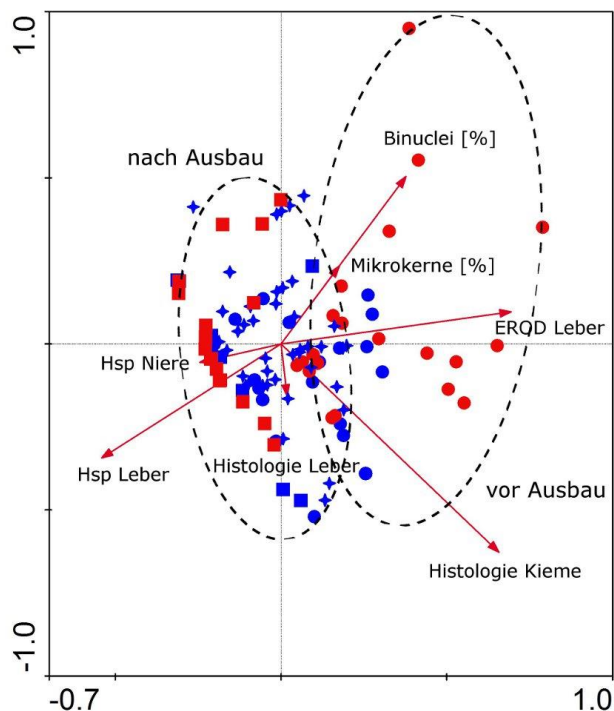


Abb. 270: RDA zu Wirkungen auf in Käfigen oberhalb und unterhalb der Kläranlage Langwiese exponierten Regenbogenforellen. Die Käfige oberhalb sind in blau, die Käfige unterhalb in rot eingezeichnet. Die erste Achse ist horizontal und die zweite Achse vertikal dargestellt. Kreise: 2012/2013, Sterne: 2013/2014, Quadrate: 2014/2015. Es zeigen sich insbesondere starke Unterschiede für das erste untersuchte Jahr (vor Ausbau der Kläranlage), besonders auf die Parameter Genotoxizität (Mikrokerne und Binuclei), EROD und Histologie der Kieme. In den beiden Jahren nach dem Ausbau der Anlage ist diese Trennung nicht mehr zu beobachten. Insbesondere die Daten für die Position unterhalb der Kläranlage vor Ausbau derselben (rote Kreise) separieren in auffälliger Weise

Gemeinsam mit der zweiten Achse, bestimmt durch die Käfigexposition, wurden insgesamt 32,5 % der Variation erklärt (100 % der erklärbaren Variation). Im ersten Untersuchungsjahr (vor Ausbau) war eine deutliche Trennung zwischen den Expositionsstellen oberhalb und unterhalb der Kläranlage zu beobachten, welche in den beiden folgenden Jahren (nach Ausbau) nicht zu verzeichnen war. Besonders die Parameter Gentoxizität (Mikrokerne und Binuclei), oxidative Biotransformation (EROD) und Histologie der Kieme wiesen unterhalb des Kläranlagenauslaufs deutlich höhere Werte auf. Dieses beobachtete Muster ist ein deutliches Anzeichen dafür, dass die Qualität des Kläranlagenablaufs durch den Ausbau soweit verbessert wurde, dass weniger schädliche Effekte auf die direkt exponierten Fische induziert werden.

#### **4.22.5 Wirkungen Freiland – Passives Monitoring an Döbel und Schneider**

Die Gesamtanalyse für die im Freiland beprobten Fische war insgesamt deutlich schwieriger zu interpretieren als die Analysen von Bypass und Käfigexposition. Das für Döbel erstellte Modell (Abb. 271) konnte insgesamt nur 11,6 % der Variation erklären. Das Jahr war hierbei der wichtigste Faktor – die erste Achse alleine erklärte bereits 10,9 % der Variation (94,3 % der erklärbaren Variation). Die zweite und dritte Achse trennten nach den Probestellen auf, konnten aber nur 11,3 % (erste und zweite Achse) bzw. 11,5 % (alle drei Achsen) der Variation erklären. Besonders im ersten und zweiten Untersuchungsjahr (2012 und 2014) waren zahlreiche erhöhte Werte zu beobachten, die jedoch sowohl für die Probestellen oberhalb als auch unterhalb gefunden wurden. Insbesondere die Parameter Histologie, Gentoxizität (Mikrokerne) und oxidative Biotransformation (EROD) waren hierbei beeinflusst. In den beiden letzten Untersuchungsjahren (2015 und 2016) waren solch hohe Werte nicht mehr zu verzeichnen – es liegt also insgesamt eine Verbesserung der Situation der Schussen über die Jahre hinweg vor.

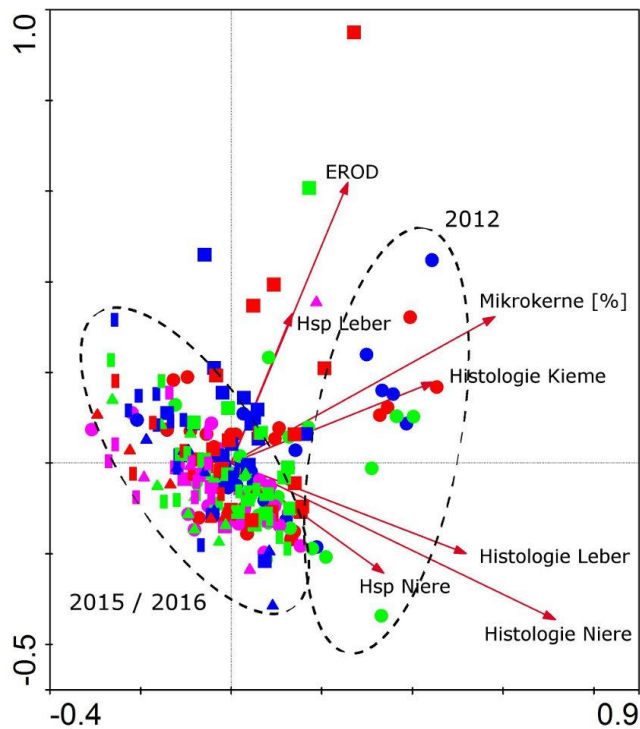


Abb. 271: RDA zu bei Döbeln (*Leuciscus cephalus*) im passiven Monitoring gefundenen Effekten in Schussen und Argen. Probestelle 0 (oberhalb RÜB Mariatal) ist in blau, Probestelle 1 (unterhalb RÜB, oberhalb Kläranlage) in rot, Probestelle 3 (unterhalb Kläranlage) in grün und Probestelle 4 (Argen) in violett dargestellt. Die erste Achse ist horizontal und die zweite Achse vertikal eingezeichnet. Kreise: 2012, Quadrate: 2014, Dreiecke: 2015, Rechtecke: 2016. Besonders im ersten Jahr sind an der Schussen noch höhere Werte für histologischen Zustand, Genotoxizität und EROD-Aktivität zu verzeichnen. In den späteren Jahren treten diese nicht mehr auf – allerdings ist diese Veränderung nicht nur unterhalb, sondern auch oberhalb der Kläranlage Langwiese zu beobachten

Die zu beobachtenden Tendenzen waren bei Schneidern stärker ausgeprägt. Im Modell (Abb. 272) erklärte die erste Achse, vorwiegend beeinflusst vom Probenahmejahr, 28,6 % der Variation (95,5 % der erklärbaren Variation). Gemeinsam mit der zweiten Achse wurden 29,5 % der Variation erklärt, mit der dritten Achse 29,9 % (99,9 % der erklärbaren Variation) – beide trennen die Probestellen weiter voneinander auf. Das erhaltene Muster zeigte vor allem insgesamt eine bessere Situation der Flüsse in den beiden letzten Jahren (2015 und 2016). Zusätzlich ließ sich die Referenzprobestelle an der Argen in den ersten beiden Jahren (2012 und 2014) sichtbar von den Probestellen an der Schussen unterscheiden. Diese Trennung war in den letzten Jahren nicht mehr möglich, was für eine Annäherung der Qualität beider Flüsse spricht. An der Schussen konnte jedoch nicht zwischen den Probestellen oberhalb und unterhalb des Kläranlagenablaufs differenziert werden.



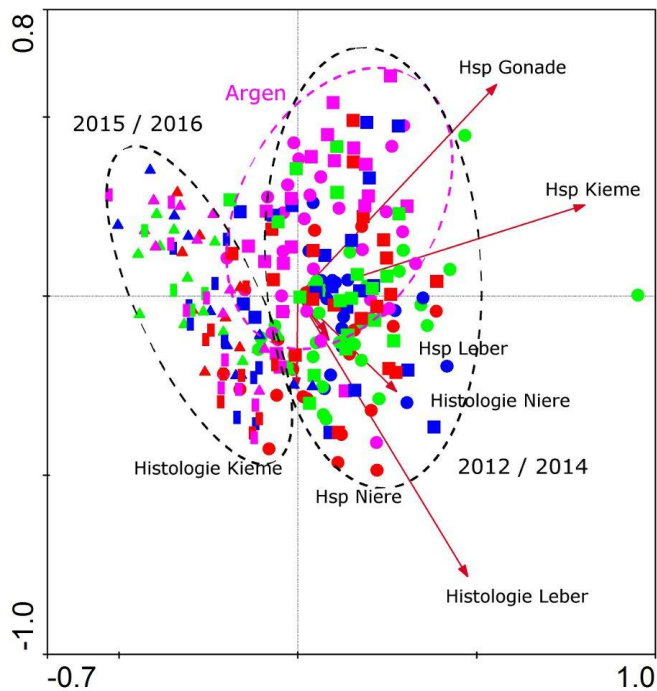


Abb. 272: RDA zu bei Schneidern (*Alburnoides bipunctatus*) im passiven Monitoring gefundenen Effekten in Schussen und Argen. Probestelle 0 (oberhalb RÜB Mariatal) ist in blau, Probestelle 1 (unterhalb RÜB, oberhalb Kläranlage) in rot, Probestelle 3 (unterhalb Kläranlage) in grün und Probestelle 4 (Argen) in violett dargestellt. Die erste Achse ist horizontal und die zweite Achse vertikal eingezeichnet. Kreise: 2012, Quadrate: 2014, Dreiecke: 2015, Rechtecke: 2016. Es zeigt sich zum einen eine deutliche Trennung der ersten Jahre (2012/2014) von den letzten Jahren (2015/2016), wobei in den letzten Jahren schwächere Effekte beobachtet werden. In den ersten Jahren ist noch ein qualitativer Unterschied zwischen Argen und Schussen zu beobachten, der in den späteren Jahren so nicht mehr auftritt

Die Tatsache, dass die für das passive Monitoring erstellten Modelle einen geringeren Anteil der Variation erklären und insgesamt schwerer zu interpretieren sind als die für aktive Expositionen, entspricht den Erwartungen. Im Freiland kommen (im Vergleich zu Bypass oder Käfigexposition) zahlreiche weitere Umweltfaktoren hinzu, welche die allgemeine Variabilität erhöhen. Zusätzlich integrieren die Fische im Freiland über einen sehr langen Zeitraum, weshalb Veränderungen ggf. erst nach mehreren Jahren zu sehen sind. Dies stellen die Analysen sehr anschaulich dadurch dar, als dass das Jahr 2014 (direkt nach Ausbau) noch große Ähnlichkeiten zum Jahr 2012 (vor Ausbau) aufweist. Dagegen unterscheiden sich die späteren Jahre (2015 und 2016) deutlich von den frühen, was die Wichtigkeit einer, wie hier durchgeführten, langfristigen Untersuchung unterstreicht.

## 4.23 Bilanzierung für das Einzugsgebiet der Schussen

*Jedele, Müller (Jedele & Partner, Stuttgart)*

Die im Gesamtprojekt ermittelten Ergebnisse und Erkenntnisse wurden im Rahmen einer theoretischen Betrachtung in die Praxis übertragen. Auf der Basis der hierbei getroffenen Annahmen und Vorgaben wurde eine Bilanzierung für das Einzugsgebiet der Schussen vorgenommen. Mit der Bilanzierung soll abgeschätzt werden, welcher Erfolg in Bezug auf die Spurenstoffverminderung in diesem Einzugsgebiet erreichbar ist und welche Aufwendungen dafür notwendig wären.

### 4.23.1 Einzugsgebiet der Schussen

Die Schussen ist der größte Bodenseezufluss in Baden – Württemberg. An ihr liegen unter anderem die Städte Ravensburg, Weingarten und Baienfurt (Abb. 273). In diesen Kommunen leben mehr als die Hälfte der insgesamt im Einzugsgebiet des Gewässers vorhandenen nahezu 200.000 natürlichen Einwohner.

Das Einzugsgebiet umfasst ca. 815 km<sup>2</sup> (Abb. 274). Der größte Nebenfluss ist die Wolfegger Ach, die sich in der Höhe von Baienfurt mit der Schussen vereint. Am Pegel Gerbertshaus im Ortsteil Kehlen der Gemeinde Meckenbeuren ergibt sich kurz vor Eriskirch ein mittlerer Abfluss von ca. 11 m<sup>3</sup>/s. Der mittlere Niedrigwasserabfluss MNQ beträgt ca. 3,4 m<sup>3</sup>/s bei einem bislang gemessenen höchsten Abfluss von 142 m<sup>3</sup>/s.



Quelle: Kartendienst Landesanstalt für Umwelt, Messung und Naturschutz Baden-Württemberg

Abb. 273: Bodenseezufluss Schussen

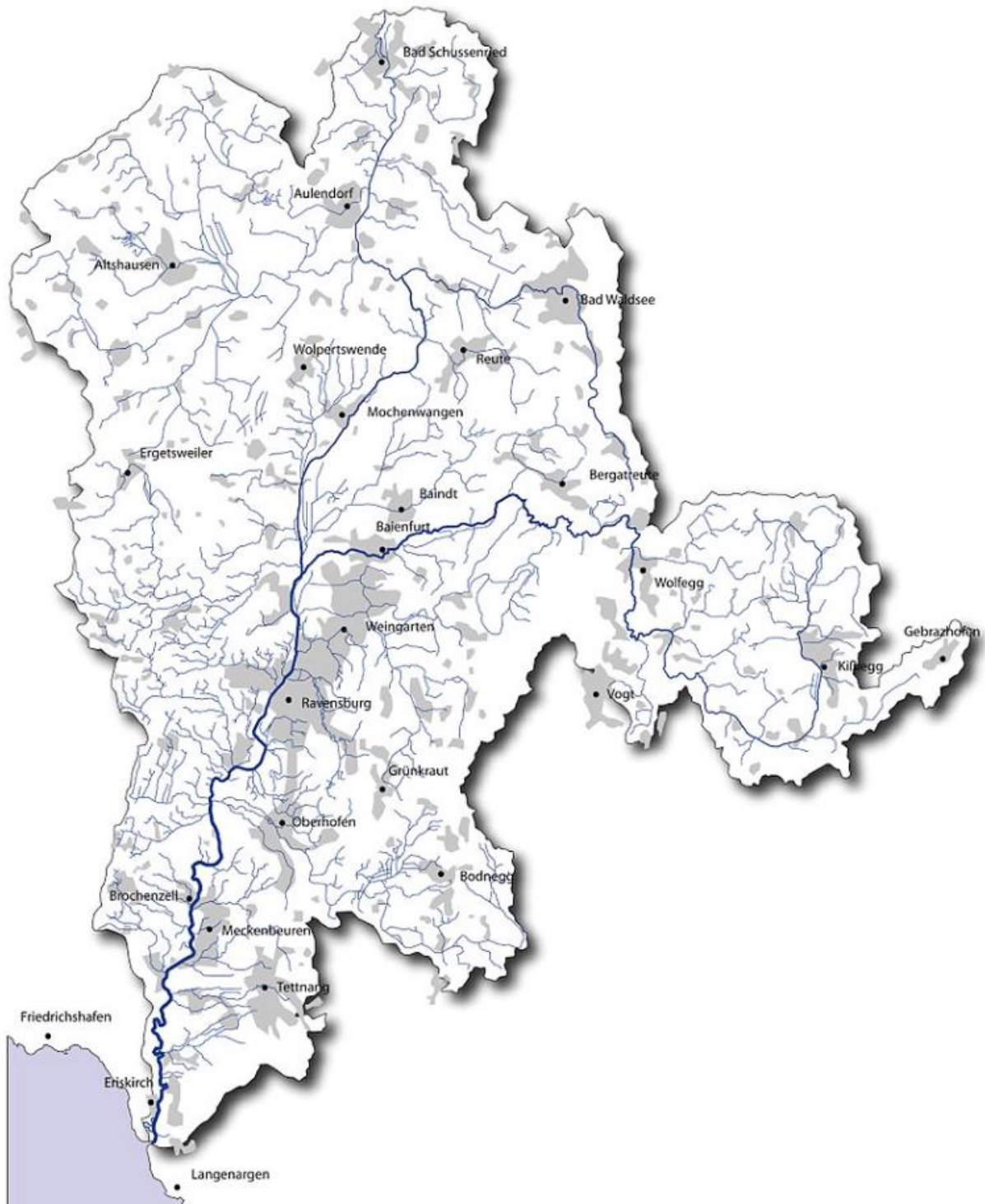


Abb. 274: Bodenseezufluss Schussen / Einzugsgebiet (aus: LUBW, 2010)

Die Schussen entspringt nördlich von Bad Schussenried, mündet ca. 60 km flussabwärts bei Eriskirch in den Bodensee und hat dabei das behandelte Schmutzwasser von nahezu 400.000 Einwohnerwerten (EW) aufgenommen. Bezogen auf den MNQ-Abfluss entspricht die Schmutzwassermenge einem Anteil von ca. 15 %. Der Anteil erhöht sich, wenn derselbe Bezug, aber der Abfluss bei extremem Trockenwetter im Gewässer zugrunde gelegt wird.

Die Abflussverhältnisse in der Schussen am Pegel Gerbertshaus sind für die Jahre 2012 bis 2014 in Abb. 275 wiedergegeben. Die Mittelwerte errechnen sich zu ca. 8 m<sup>3</sup>/s (50 % Wert) bzw. ca. 11 m<sup>3</sup>/s (arithmetisches Mittel) bei einem Maximalabfluss von 114 m<sup>3</sup>/s. Die Niederschlagsereignisse sind deutlich erkennbar (Schwankungsbereich Niederschlag 900 – 1.200 mm/a). Im dargestellten Zeitraum beträgt der Abwasseranteil insgesamt im Mittel ca. 17 % (Schwankungsbereich je nach Wasserführung 1 – 35 %).

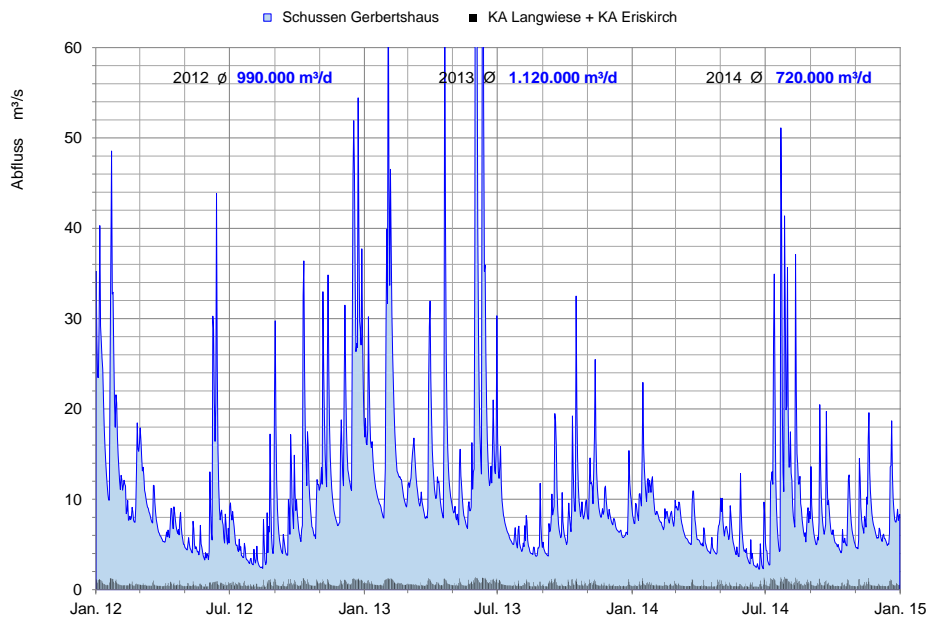


Abb. 275: Abflussverhältnisse Schussen 2012 / 2014

Die Abwassermengen der beiden im Rahmen von SchussenAktivplus (SAP) untersuchten Kläranlagen Langwiese (Abwasserzweckverband Mariatal) und Eriskirch (Abwasserverband Unteres Schussental) mit zusammen ca. 200.000 EW sind als Abfluss mit eingetragen.

#### 4.23.2 Abwasserreinigung entlang der Schussen

Im Einzugsgebiet des Bodensees sind die Vorgaben der Internationalen Gewässerschutzkommission für den Bodensee (IGKB) maßgebend. Die gültigen Anforderungen sind in Tab. 29 angegeben. Von einzelnen Ausnahmen abgesehen (Abwasserzweckverband Mittleres Schussental) sind alle größeren Kläranlagen (Kategorie III) mit Anlagen zur weitergehenden Phosphorelimination ausgerüstet. In der Regel wird eine Simultanfällung durchgeführt und diese mit einer Nachfällung kombiniert, die in Verbindung mit einem Feststoffrückhalt als Flockungsfiltration ausgeführt ist.

Die Kommunen entwässern ihre Einzugsgebiete im Trenn- und Mischsystem. Von wenigen Ausnahmen abgesehen entsprechen alle Systeme (Regenklärbecken, Regenüberlaufbecken) den Forderungen der IGkB.

Im Einzugsgebiet der Schussen sind insgesamt 66 Regenüberläufe (RÜ), 36 Regenklärbecken (RKB, 5.800 m<sup>3</sup> mit ca. 35 m<sup>3</sup>/ha<sup>+</sup>) sowie 114 Regenüberlaufbecken (RÜB, 83.700 m<sup>3</sup> mit ca. 45 m<sup>3</sup>/ha<sup>+</sup>) vorhanden (ha<sup>+</sup>: befestigte Hektar) (Abb. 276). Das Einzugsgebiet umfasst ca. 4.400 ha, wovon 42 %, d.h. ca. 1.850 ha befestigt sind (1850 ha<sup>+</sup>). Die Drosselabflüsse aller RÜB betragen im Regenwetterfall ca. 6,7 m<sup>3</sup>/s und deren rechnerische Entlastungsmenge im Bemessungsfall insgesamt ca. 170 m<sup>3</sup>/s.

Tab. 29: Vorgaben der IGkB für Kläranlagen im Bodensee-Einzugsgebiet

Parameter	Anlagengröße EW <sup>2)</sup>			Probendefinition
	50 - 1'000 Kategorie I	>1'000 - 40'000 Kategorie II	> 40'000 Kategorie III	
Biochemischer Sauerstoffbedarf (BSB <sub>5</sub> mit Nitrifikationshemmung)	20 mg/l und 90% Reinigungseffekt	15 mg/l und 93% Reinigungseffekt	15 mg/l und 93% Reinigungseffekt	24-h-Sammelprobe; Rohabwasser (aufgemischt, homogenisiert)
Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) <sup>3),4)</sup>	90 mg/l	60 mg/l	60 mg/l	24-h-Sammelprobe; Rohabwasser (aufgemischt, homogenisiert)
Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) <sup>2)</sup>	15 mg/l	10 mg/l	10 mg/l	24-h-Sammelprobe; Membranfilter 0,45 µm
Gesamtphosphor (P)	es gelten die nationalen Anforderungen	1 mg/l und 90% Reinigungseffekt	0,3 mg/l <sup>5)</sup> und 95% Reinigungseffekt	24-h-Sammelprobe; Rohabwasser (aufgemischt, homogenisiert)
Gesamtstickstoff	es gelten die nationalen Anforderungen			
Adsorbierbare organische Halogenverbindungen (AOX)	0,1 mg/l X <sup>6)</sup>	0,1 mg/l X <sup>6)</sup>	0,1 mg/l X <sup>6)</sup>	

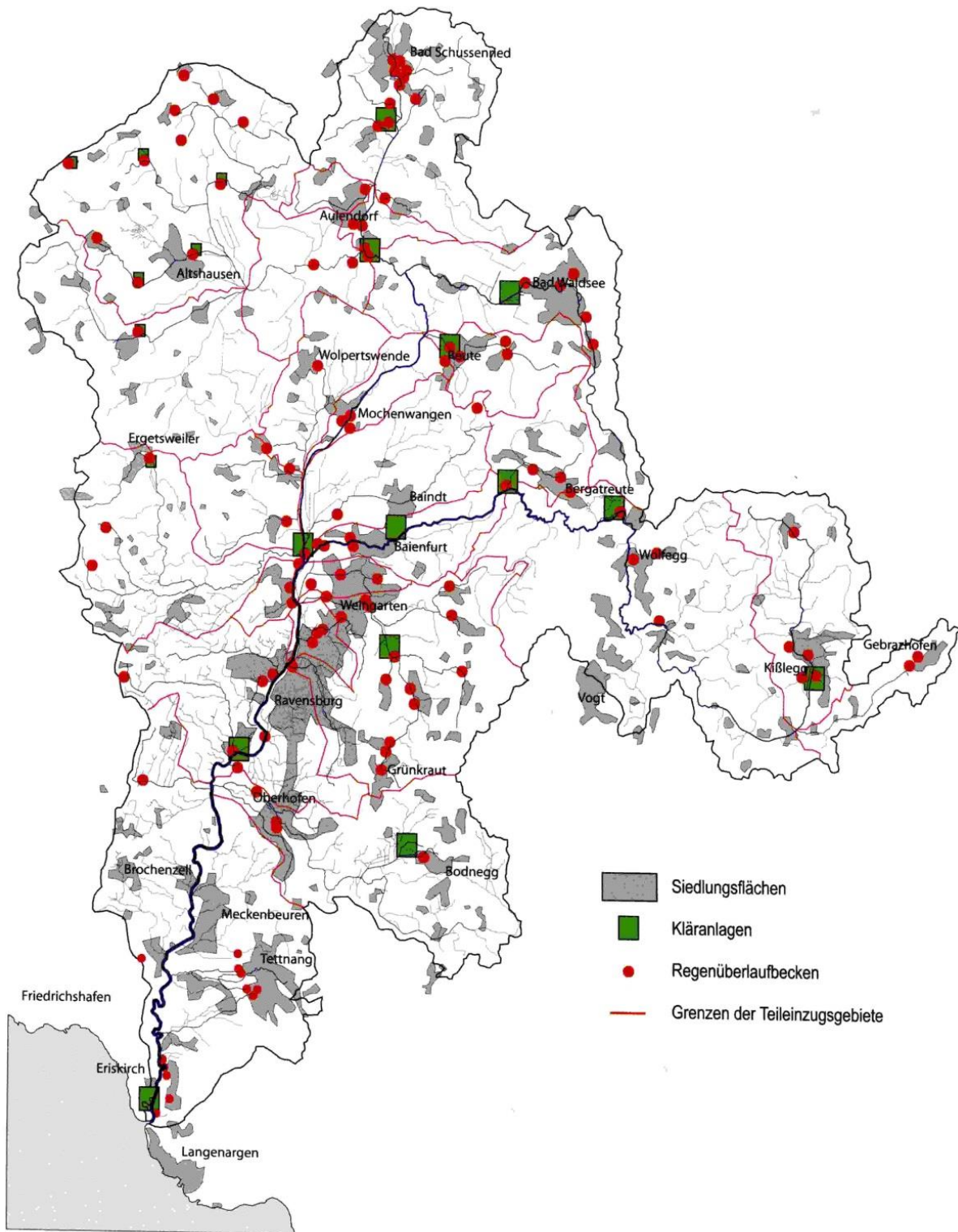


Abb. 276: Schussen / Anlagen zur Abwasserbehandlung (aus LUBW, 2010).

Das anfallende Abwasser gelangt in 19 Kläranlagen (KA). Der tägliche Abwasserabfluss beläuft sich auf ca. 100.000 m<sup>3</sup>/d.

## Abwassertechnische Zuordnung

Bei den Spurenstoffen muss zwischen den partikulär und den gelöst vorliegenden unterschieden und deren Eintragspfad in das Gewässer betrachtet werden.

Alle im Abwasser enthaltenen Spurenstoffe gelangen mit den stark verdünnten Entlastungsmengen an den Regen- und Beckenüberläufen (RÜ, BÜ) ohne jegliche Veränderung in das Gewässer (Abb. 277). Bei der Regenwasserbehandlung können partikulär gebundene Spurenstoffe in den Regenüberlaufbecken (RÜB) partiell zurückgehalten werden. Ansonsten gelangen sie mit den gelöst vorliegenden Spurenstoffen über den Klärüberlauf (KÜ) in den Vorfluter.

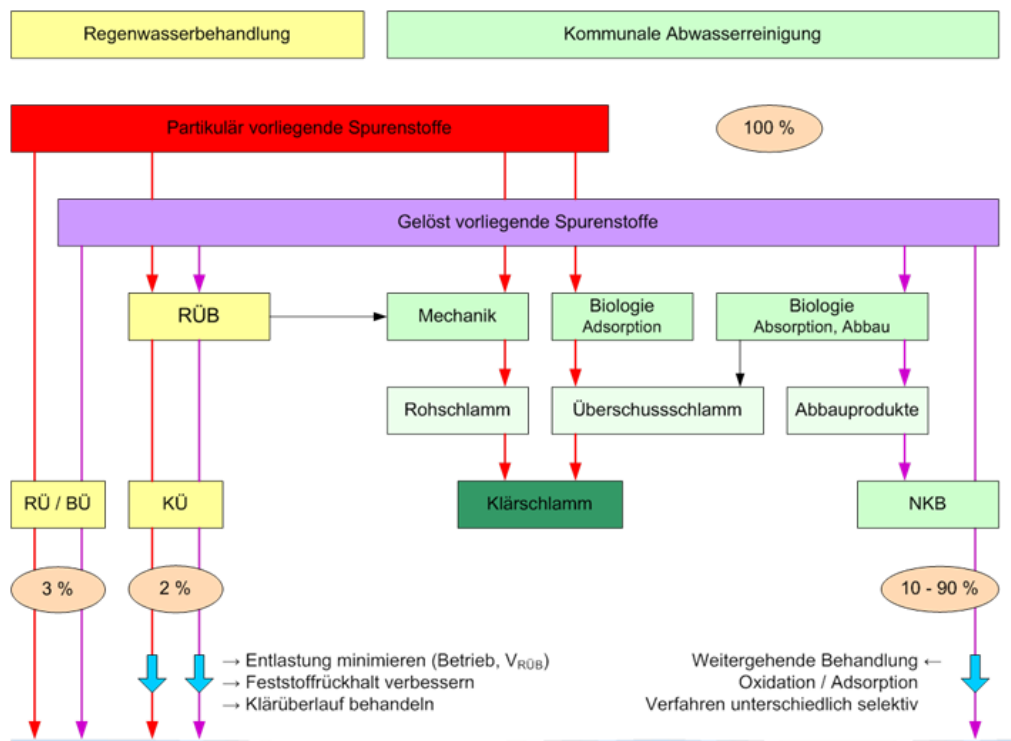


Abb. 277: Abwassertechnische Zuordnung der Spurenstoffe

In der Kläranlage ankommende und partikulär gebundene Spurenstoffe werden in der mechanischen und biologischen Stufe sehr weitgehend eliminiert und gelangen in den Klärschlamm. Alle anderen könnten in der biologischen Stufe infolge der dort ablaufenden Prozesse (Adsorption, Absorption, Strippung, Fällung, Abbau) vermindert werden. Die zu verzeichnende Entnahmewirkung ist allerdings sehr unterschiedlich. Der im Ablauf verbleibende Rest kann deshalb Spurenstoffbezogen sehr unterschiedlich sein.

Vereinfachend kann davon ausgegangen werden, dass von den im Gewässer summarisch feststellbaren Spurenstoffen ca. 5 % bei der Regenwasserbehandlung entlastet werden und ca. 10 % - 90 % im Kläranlagenablauf enthalten sind.

Zu beachten ist dabei, dass im Einzelfall der im Gewässer partikulär vorliegende und aus dem Abwasser stammende Anteil praktisch vollständig über die Entlastungsmengen im Regenwetterfall eingeleitet wurde. In diesem Zusammenhang sind auch die Belastungen aus diffusen sonstigen Quellen und von landwirtschaftlich genutzten Flächen zu beachten.

Werden die Ergebnisse durchgeführter Schmutzfrachtsimulationen ausgewertet und die Eingangsparameter auch mit Annahmen für die Spurenstoffe und Keime versehen, zeigt sich, dass im Mittel der in den Simulationen betrachteten Einzugsgebiete die Restbelastung im Gewässer unterschiedlichen Eintragspfaden zugeordnet werden kann.

### **Abwassermenge**

In den betrachteten Mischsystemen gelangen ca. 83 % des gesamten anfallenden Abwassers zur Kläranlage und werden dort gereinigt (Abb. 278). Die verbleibenden 17 % werden im Regenwetterfall an den Entlastungs- und Behandlungsanlagen abgeführt.

### **Organische Restfracht**

Durch die hohe Reinigungsleistung in den Kläranlagen weisen die Anlagenabläufe nur noch einen geringen Rest-CSB auf und verursachen damit nur noch ein Drittel der Gewässerbelastung. Dieser Rest-CSB weist keine spontane Sauerstoffzehrung mehr auf. Zwei Drittel entstehen durch Regenwasserentlastungen – ein Hinweis darauf, dass der Auslegung und dem Betrieb dieser Anlagen eine höhere Aufmerksamkeit geschenkt werden muss.

### **Spurenstoffe**

Wird unterstellt, dass in den kommunalen Kläranlagen die dort ankommenden Spurenstoffe durch die mechanische, biologische und chemische Reinigung zu ca. 40 % entnommen werden, verursachen die im Ablauf noch enthaltenen Reste ca. 90 % der Gewässerbelastung. Somit muss die Spurenstoffelimination in der Kläranlage ansetzen.



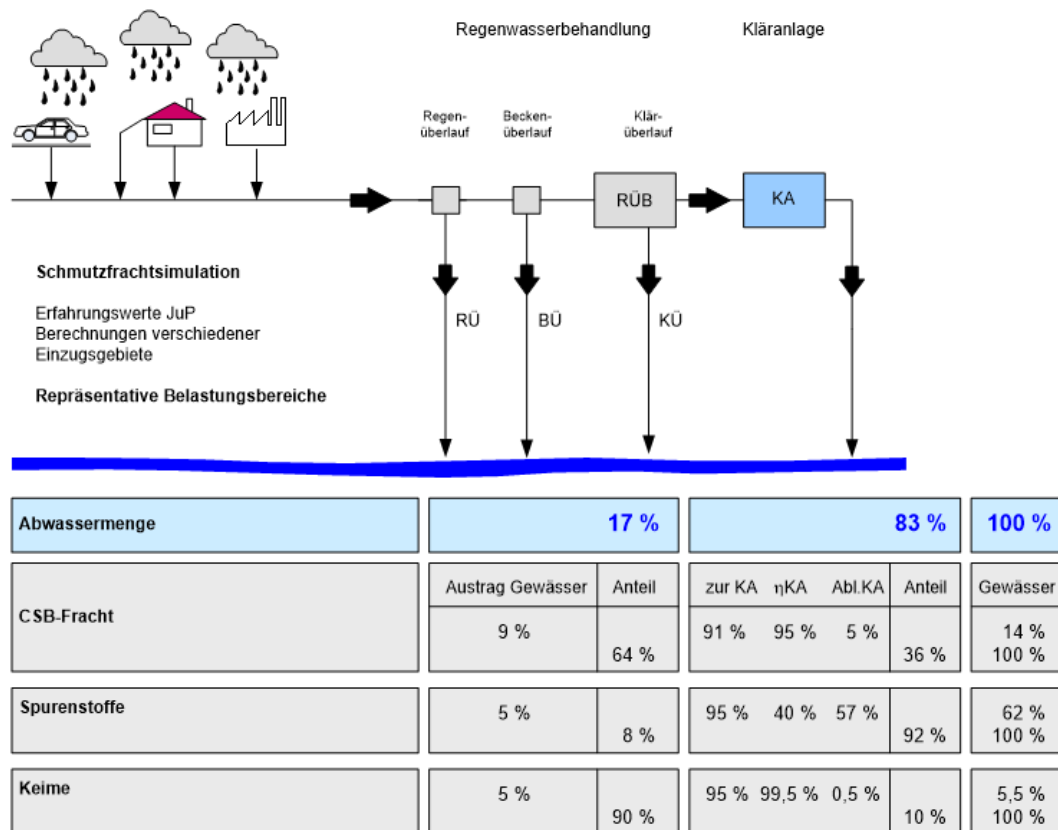


Abb. 278: Belastung des Gewässers / Mischsystem

## Keime

Da in der Kläranlage die Keime sehr gut vermindert werden, andererseits aber im entlasteten Abwasser sehr hohe Keimzahlen zu verzeichnen sind, wird die Keimbelastung des Gewässers zu ca. 90 % an den Entlastungsanlagen eingetragen.

### 4.23.3 Ergebnis der Bilanzierung Einzugsgebiet Schussen

#### Rückhalt von Spurenstoffen

Ausgehend von den ca. 400.000 Einwohnerwerten (EW) im Einzugsgebiet der Schussen und einem Abwasseranfall von ca. 100.000 m<sup>3</sup>/d ergeben sich unter Beachtung der bei den Untersuchungen gewonnenen Daten die in der Tab. 30 angegebenen Entnahmewirkungen.

In der Tab. 30 sind für die ausgewählten Spurenstoffe und Keime die Eingangsbelastung in die Kläranlagen (Ablauf Vorklärung) und die im Ablauf eines vorhandenen Filters noch feststellbare Restbelastung nach biologischer und chemischer Reinigung angegeben. Die Restfrachten und Entnahmewirkungen sind von Parameter zu Parameter unterschiedlich.

Tab. 30: Belastungen im Zu- und Ablauf der Kläranlagen / Entnahmewirkungen

Zuordnung Parameter	Kläranlage			4. Stufe		Gesamt	
	Abl.VKB	Abl.Filter	Δ	Δ min. <sup>1)</sup>	Δ max. <sup>1)</sup>	min.	max.
<b>1H-Benzotriazol</b>							
Fracht kg/a	365	130	235	51	112		
Entnahme %			64	39	86	78	95
<b>Carbamazepin</b>							
Fracht kg/a	30	29	1	25	28		
Entnahme %			3	87	96	87	97
<b>Diclofenac</b>							
Fracht kg/a	77	51	26	46	50		
Entnahme %			34	91	98	94	99
<b>Iomeprol</b>							
Fracht kg/a	1.060	175	885	55	131		
Entnahme %			83	31	75	89	96
<b>E - coli</b>							
Anzahl x 10 <sup>15</sup> /a	1.095	2,2	1093	1,1	2,1		
Entnahme %			99,80	50	95	99,90	99,99

1) bezogen auf Ablauf Filter

Bezogen auf die angegebenen Restfrachten wurde berechnet, in welchem Umfang diese durch eine vierte Reinigungsstufe noch vermindert werden können. Die aufgezeigte Spannweite ergibt sich aus den möglichen Verfahren und Verfahrenskombinationen.

Bezogen auf den Ablauf der Vorklärung können in den um eine vierte Stufe erweiterten kommunalen Kläranlagen Entnahmewirkungen jenseits der 90 % erreicht werden.

Aus den Ansätzen errechnen sich für die exemplarisch dargestellten Spurenstoffe bei den unterstellten und aus den Untersuchungsergebnissen abgeleiteten Entnahmewirkungen bei einer Ausstattung aller kommunalen Kläranlagen im Schussen Einzugsgebiet die aufgeführten Frachtminderungen. Diese Frachten würden nicht mehr in den Bodensee gelangen.

Für die einzelnen Stoffe ergeben sich bei dem:

Korrosionsschutzmittel 1 <i>H</i> -Benzotriazol	bis zu ca.	100 kg/a
Antiepileptikum Carbamazepin	bis zu ca.	30 kg/a
Schmerzmittel Diclofenac	bis zu ca.	50 kg/a
Röntgenkontrastmittel Iomeprol	bis zu ca.	130 kg/a

Die kontinuierlich mit dem Ablauf aus den kommunalen Kläranlagen abgeleitete Keimbelastung würde sich bei *E. coli* um weitere 50 - 95 % vermindern. Wobei die Werte deutlich über 50 % nur durch den Einsatz von Ozon erreichbar sind. Bei der Gewässerbelastung mit Keimen sind bezüglich der Maximalwerte die Entlastungen aus den Regenwasserbehandlungsanlagen mitentscheidend. Verminderungen wären dort mit Retentionsbodenfiltern möglich. Diese würden den aus der Regenwasserbehandlung kommenden Spurenstoffanteil reduzieren. Der Eintrag über das Regenwasser ist aber ohne weitergehende Maßnahmen in der Kläranlage bei den gegebenen Restfrachten aktuell nicht von entscheidender Bedeutung.

### Investitionsaufwand

Für die neunzehn im Einzugsgebiet der Schussen vorhandenen Kläranlagen gilt bezüglich der Einwohnerbelastung die in Tab. 31 aufgeführte Verteilung.

Tab. 31: Kläranlagen im Einzugsgebiet der Schussen / Aktueller Stand

Kläranlagen kommunal Einzugsgebiet Schussen	Anzahl -	Belastung EW	Anteil %	Anteil % sum
Langwiese (AZV Mariatal)	1	170.000	42	42
Kläranlagen > 30.000 EW	2	100.000	25	67
Kläranlagen > 10.000 EW	6	100.000	25	92
Kläranlagen < 10.000 EW	10	35.000	8	100

Alleine die Kläranlage Langwiese reinigt ca. 42 % des insgesamt im Schussen-Einzugsgebiet anfallenden Abwassers. In dieser Kläranlage ist die vierte Stufe in Form der Adsorption mittels pulverisierter Aktivkohle (PAK) technisch als Vollstromverfahren realisiert.

Je 25 % des Abwassers verteilen sich auf zwei Kläranlagengruppen. Die erste umfasst zwei Anlagen der Größe über 30.000 EW und die zweite sechs Kläranlagen zwischen 10.000 und 30.000 EW.

Wird zusätzlich zu dem Abwasser in Langwiese auch in den beiden genannten Gruppen eine weitergehende Spurenstoffelimination technisch realisiert und betrieben, würden damit ca. 92 % des gesamten Abwassers im Schussen Einzugsgebiet weitergehend behandelt.

Der verbleibende Rest von 8 % verteilt sich auf zehn kleinere Kläranlagen mit Ausbaugrößen unter 10.000 Einwohnerwerten.

Mit den ermittelten spezifischen Kosten und der unterstellten Ausbaugröße errechnen sich die notwendigen Investitionen wie in Tab. 32 angegeben.

Mit den verwendeten Ansätzen und Eingangsgrößen würde sich bei einer Erweiterung der Kläranlagen um eine vierte Reinigungsstufe nach dem Ulmer Verfahren ein Investitionsaufwand von insgesamt ca. 48 Mio. € ergeben.

Würde der Ausbau auf Kläranlagen mit mehr als 10.000 EW Anschlussgröße beschränkt, vermindert sich der Aufwand auf ca. 36 Mio. €.

Tab. 32: Investitionsaufwand für eine vierte Reinigungsstufe in den vorhandenen Kläranlagen im Einzugsgebiet der Schussen.

Kläranlage / Vierte Stufe * Einzugsgebiet Schussen	Anzahl -	Ausbau EW	Kosten Mio. €	Anteil PAK Mio. €
Langwiese (AZV Mariatal)	1	realisiert	ca.10	ca. 6,5
Kläranlagen > 30.000 EW	2	100.000		16
Kläranlagen > 10.000 EW	6	100.000		20
Kläranlagen < 10.000 EW	10	35.000		12

\*) Gewählte Verfahrenstechnik: Adsorption / Einsatz pulverisierter Aktivkohle

Technische Realisierung des Ulmer Verfahrens (Adsorption + Sedimentation + Filtration)

Bemessung der Anlagen auf Mischwasserzufluss (Vollstromverfahren)

Die angegebenen Investitionskosten werden sich verringern, wenn andere technische Lösungen realisiert werden, deren Kosten für den Bau und die technische Ausrüstung geringer sind als beim Ulmer Verfahren. Je nach Kläranlagenstandort sind spezifische Lösungen möglich, bei denen die örtlichen Gegebenheiten stärker berücksichtigt werden. Im

Einzelfall werden möglicherweise zugunsten geringerer Investitionskosten etwas höhere Betriebskosten in Kauf genommen.

Bei der Regenwasserbehandlung sollte nach heutigem Kenntnisstand zuerst die Nutzung der bestehenden Einrichtungen und Bauwerke dahingehend optimiert werden, dass so wenig wie möglich Mischwasser in das Gewässer abgeschlagen wird und die zurückgehaltenen Feststoffe nicht bei nachfolgenden Regenereignissen wieder ausgespült werden. Wenn dies bei den im Bodensee-Bereich realisierten Becken der Fall ist, kann eine weitergehende Verminderung der Restbelastung bei den bestehenden Anlagen zur Regenwasserbehandlung in erster Linie dadurch erreicht werden, dass ein Teil des Ablaufs in das Gewässer in Retentionsbodenfiltern gestaut und behandelt wird.

Könnten ca. 30 % der im Einzugsgebiet vorhandenen RÜB mit einem Retentionsbodenfilter ergänzt werden und würde bei deren Auslegung die in Tettnang realisierte Größe angesetzt, wären dafür bei den aktuell realisierten Anlagen und der dort getätigten Investitionen insgesamt ca. 96 Mio. € notwendig.

Die Größenordnung belegt, dass die Entscheidung für eine weitergehende Behandlung des Mischwassers auf Einzelfälle beschränkt werden muss. Sie müssen unter dem Gesichtspunkt der möglichen Entlastungswirkung (Größe Einzugsgebiet, Zustand des Gewässers und daraus ableitbaren Forderungen) und unter den die Kosten beeinflussenden örtlichen Gegebenheiten (Platzbedarf, Randbedingungen Bebauung, Randbedingungen Speicherung und Ableitung) gezielt ausgewählt werden.

### **Betriebsaufwand**

Der Betriebsaufwand für die vierte Stufe setzt sich aus dem Personalaufwand, den Kosten für die Wartung- und Instandhaltung sowie den Aufwendungen für die Hilfsstoffe (Aktivkohle, Energie, Fällmittel und Flockungshilfsmittel) zusammen. Die Kosten für die Hilfsstoffe betragen in der Kläranlage Langwiese ca. 8 Ct/m<sup>3</sup> Trinkwasser oder ca. 3,5 €/EW a. Sie verursachen etwas mehr als die Hälfte der gesamten Betriebsaufwendungen, so dass für das Personal sowie die Wartung und Instandhaltung ca. 7 Ct/m<sup>3</sup> Trinkwasser oder ca. 3 €/EW a zu veranschlagen sind. Der gesamte Betriebsaufwand beläuft sich auf ca. 15 Ct/m<sup>3</sup> Trinkwasser oder als Jahreskosten ca. 6,5 €/EW a. Bei 400.000 EW im Einzugsgebiet müssten für den Betrieb der vierten Stufe in der Summe jährlich ca. 2,6 Mio. € aufgewendet werden.

## Zusammenfassung

Die weitergehende Reinigung und der Rückhalt variieren stoffspezifisch. Werden alle Kläranlagen im Einzugsgebiet der Schussen mit einer vierten Reinigungsstufe ausgerüstet, könnte bei ausgewählten Spurenstoffen zwischen 30 kg/a und 130 kg/a dem Bodensee ferngehalten werden. Für die Trinkwasseraufbereitung ist dies von erheblicher Bedeutung, weil dort jedes Nanogramm zählt.

Der erforderliche Investitionsaufwand beträgt für alle Kläranlagen ca. 48 Mio. €. Dies betrifft achtzehn Anlagen, weil die größte in Langwiese (AZV Mariatal) bereits über eine Anlage zur adsorptiven Entnahme von Spurenstoffen verfügt. Würden nur Anlagen > 10.000 EW Ausbaugröße damit ausgerüstet, verringert sich der Investitionsbedarf auf 36 Mio. €. Damit könnten 92 % des anfallenden Abwassers weitergehend gereinigt werden. Jeder Bürger müsste für den Bau und den Betrieb einer entsprechenden Anlage ca. 1 € pro Monat aufwenden.

Anlagen zur weitergehenden Regenwasserbehandlung werden sich auf Einzelfälle beschränken, bei denen der Zustand des Gewässers dies erfordert und die örtlichen Bedingungen die Realisierung eines Retentionsbodenfilters ermöglichen. Dessen Platzbedarf ist erheblich und kann spezifisch die Kosten sehr stark beeinflussen.

### **4.24 Zusammenfassung: Auswirkungen der Pulveraktivkohlestufe auf der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg auf das Ökosystem der Schussen und Bilanzierungen für das Einzugsgebiet der Schussen**

*Triebskorn (Universität Tübingen), Jedele (Jedele & Partner, Stuttgart), Lüddecke (LUBW, Institut für Seenforschung, Langenargen), Scheurer (TZW Karlsruhe), Vogel (ehem. RP Tübingen)*

Die Pulveraktivkohlestufe auf der Kläranlage Langwiese, AZV Mariatal bei Ravensburg, wirkte sich bereits 3 Jahre nach Inbetriebnahme positiv auf das Gewässerökosystem der Schussen aus. Es konnte eine stoffspezifische Reduktion der Spurenstoffkonzentrationen im KA-Ablauf, Oberflächenwasser und in Fischen unterhalb der KA nach deren Ausbau nachgewiesen werden. Einhergehend hiermit wurden vor allem dioxinähnliche, östrogene, androgene und für den Fisch entwicklungstoxische Wirkpotentiale reduziert.

Eine Verbesserung der Fischgesundheit bei in Käfigen und im Bypass unterhalb der Kläranlage exponierten sowie im Freiland gefangenen Fischen wurde deutlich. Hierbei zeigten sich in den Käfigen und im Bypass klarere Ergebnisse als im Freiland. Allerdings

waren auch in Freiland bereits Verbesserungen zu beobachten. Auch bei Flohkrebse als Vertreter wirbelloser Tiere konnte eine deutliche Verbesserung des Gesundheitszustands nachgewiesen werden. Auf der Ebene der Lebensgemeinschaft konnte an der Probestelle direkt unterhalb der Kläranlage nach deren Ausbau eine Verbesserung der Gewässergüte sowie eine zunehmende Wiederbesiedlung mit seltenen und sensitiven Arten gezeigt werden.

Die Effekte des Kläranlagenausbaus auf die Gewässerorganismen und auf die gemessenen Wirkpotentiale waren teilweise von jahresspezifischen bzw. Jahreszeit-bedingten Einflüssen (wie z. B. Wasserstand) überlagert, was sich dadurch äußerte, dass ähnliche Reaktionen auch bei Tieren an den Referenzstellen auftraten. Aus Tab. 33 wird jedoch ersichtlich, dass bestimmte Verbesserungen auch ausschließlich an den Probestellen unterhalb der Kläranlage Langwiese auftraten, so dass für diese der positive Effekt des Kläranlagenausbaus wahrscheinlich ist.

Auch die statistische Gesamtauswertung, in die der gesamte Datensatz aller ermittelten Resultate eingeflossen ist, unterstützt diese Aussage.

Im Einzugsgebiet der Schussen kommen ca. 95 % der Einträge an Spurenstoffen aus Kläranlagen. Durch einen Ausbau können dort bis zu 80 % zurückgehalten werden. Eine Bilanzierung der Keim-Belastung ist schwierig und kann zu falschen Schlussfolgerungen führen, weil unterschiedlich relevante wasserwirtschaftliche Situationen maßgebend sein können (Wasserschutzgebiete, versickernde Gewässer, Badegewässer). Der Eintrag durch Regenüberlaufbecken (RÜB) ist zudem temporär. Je nach wasserwirtschaftlicher Situation sind deshalb zusätzliche Maßnahmen an RÜBs notwendig. Der untersuchte Retentionsbodenfilter zeigte eine sehr gute Entnahmeleistung für Spurenstoffe und Indikatorkeime, die mit einer konventionellen Kläranlage vergleichbar ist. Der untersuchte Lamellenklärer in einem Regenüberlaufbecken war in dieser Hinsicht nicht effizient.

Würden alle 19 Kläranlagen im Einzugsgebiet der Schussen mit einer 4. Reinigungsstufe ertüchtigt werden, könnten damit pro Jahr ca. 100 kg 1H-Benzotriazol, 140 kg Iomeprol, 23 kg Carbamazepin und 45 kg Diclofenac weniger in die Schussen eingetragen werden. Darüber hinaus würde noch eine Vielzahl anderer Substanzen deutlich vermindert.

Bei einer Ausstattung aller Kläranlagen > 10.000 Einwohnerwerte im Einzugsgebiet (entspricht 90 % des anfallenden Abwassers) mit Pulveraktivkohle, würden 36 Mio. € Investitionskosten anfallen. Dies entspräche der schweizerischen Konzeption. Alle Kläranlagen mit Pulveraktivkohle auszustatten, würde weitere 12 Mio. € kosten. Würde ein

Drittel der RÜBs mit Retentionsbodenfiltern ausgestattet werden, soweit dies netzspezifisch und vom Platzbedarf her möglich ist, wären zusätzlich ca. 96 Mio. € notwendig.

Die Jahreskosten für die Anlagen zur gezielten Spurenstoffelimination sind von der gewählten Technologie, der Anlagengröße (Einwohnerwerte - EW) und den örtlichen Randbedingungen (nutzbarer Bestand) abhängig. Bei Anlagengrößen von 100.000 EW sind ohne Berücksichtigung von Fördermitteln Kosten zwischen 6 € pro EW und Jahr und 14 € pro EW und Jahr realistisch. Der darin enthaltene Anteil für den Betriebsaufwand beläuft sich auf ca. 50 %.

Tab. 33: Messparameter, bei denen Verbesserungen nach Ausbau der Kläranlage auftraten

	<b>Deutliche Verbesserung durch PAK nur unterhalb der KA, nicht an anderen Probestellen</b>	<b>Verbesserung unterhalb KA, aber auch an anderen Probestellen gleiche Tendenz</b>
<b>Käfigexpositionen Regenbogenforellen unterhalb KA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Spurenstoffakkumulation</li> <li>• Gentoizität</li> <li>• Dioxinähnliche Toxizität Weibchen (Entgiftung)</li> <li>• Gewebetoxizität (Kieme)</li> <li>• Proteotoxizität (Leber)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dioxinähnliche Toxizität Männchen (Entgiftung)</li> <li>• Carboxylesterase</li> </ul>
<b>Bypass-Expositionen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dioxinähnliche Toxizität Bachforellen (Entgiftung)</li> <li>• Gewebetoxizität Bachforellen (Niere, Leber)</li> <li>• Gewebetoxizität Regenbogenforellen ( Leber)</li> <li>• Proteotoxizität (Niere)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dioxinähnliche Toxizität Regenbogenforellen Männchen (Entgiftung)</li> <li>• Proteotoxizität Regenbogenforellen (Leber)</li> <li>• Entwicklungstoxizität Bach-, Regenbogenforellen (Mortalität, Schlupferfolg)</li> <li>• Östrogenität (juv. Bachforellen)</li> <li>• Glykogengehalt Leber</li> <li>• Carboxylesterase</li> </ul>
<b>Freilandfische</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gewebetoxizität (Leber)</li> <li>• Höhere Fangzahlen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gentoizität (Döbel)</li> <li>• Gewebetoxizität Niere, Kieme (Döbel, Schneider), Leber (Schneider)</li> <li>• Cholinesterase</li> <li>• Carboxylesterase Schneider</li> </ul>
<b>Flohkrebse (Freiland)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Geschlechterverhältnis</li> <li>• Fertilität</li> <li>• Proteotoxizität</li> </ul>	
<b>Makrozoobenthos-gemeinschaft</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Artenzahl Herbst</li> <li>• Saprobienindex</li> <li>• Sensitive Taxa überleben</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Artenzahl Frühling</li> </ul>



## 5 KOMMUNIKATION, ÖFFENTLICHKEITSARBEIT UND VERWERTUNG DER ERGEBNISSE

### 5.1 Kommunikation und Öffentlichkeitsarbeit

*Schneider-Rapp, Amler (Ökonsult, Stuttgart), Triebkorn (Universität Tübingen)*

Ziel des Teilprojekts „Kommunikation und Dissemination“ war es, das Projekt bzw. seine Inhalte, Ziele und Ergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene bekannt zu machen und die Öffentlichkeit sowie verschiedene Akteure und Multiplikatoren für die Themen „Spurenstoffe“ und „Keime im Wasserkreislauf“ sowie die Bedeutung der Thematik im Zusammenhang mit dem Gewässerschutz zu sensibilisieren. Der Projektteil war getragen von interdisziplinären und transdisziplinären Ansätzen (Abb. 279).

Die Agentur für Ökologie und Kommunikation (Ökonsult) war von Anfang 2012 bis 30. Juni 2015 zusammen mit der Koordinatorin des Projekts, Frau Prof. Dr. Rita Triebkorn, für die Kommunikation in die fachliche und breite Öffentlichkeit von SchussenAktivplus zuständig. Die wissenschaftliche Kommunikation und Publikation übernahmen darüber hinaus die forschenden Projektpartner.

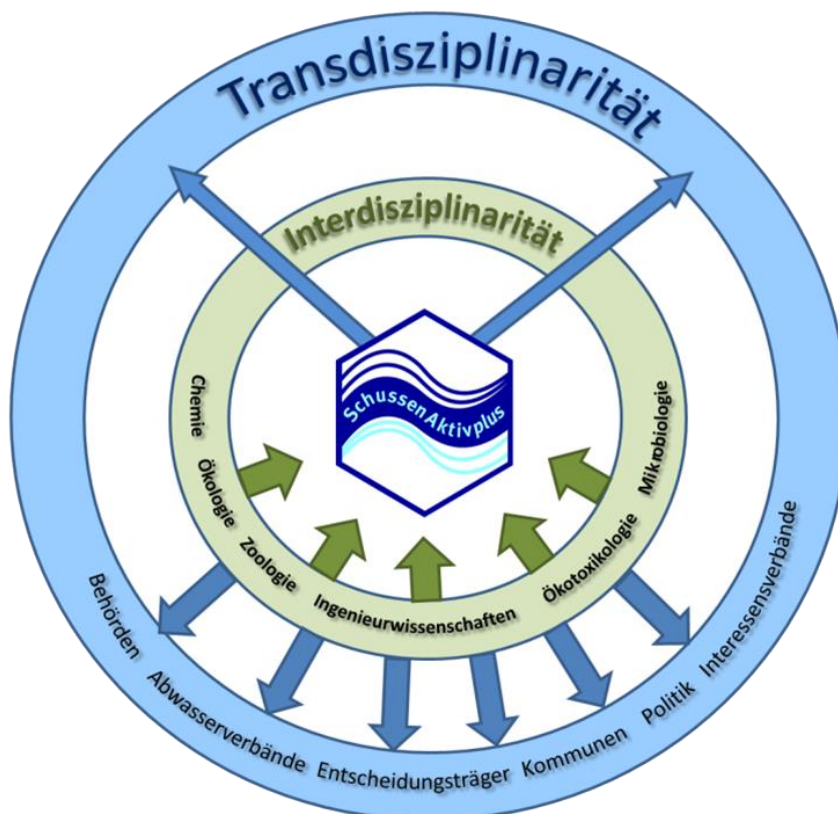


Abb. 279: Zielgruppenspezifische Kommunikation im Rahmen von SchussenAktivplus

**Folgende Teilaufgaben wurden erfüllt:****Erstellung des Projekt-Logos**

Die erste Aufgabe war die Entwicklung eines neuen Logos. Zielsetzung war ein hoher Wiedererkennungswert und die Anlehnung an das Logo vom Vorprojekt SchussenAktiv (Abb. 280). Außerdem sollten die Betrachter auf einen Blick erkennen, worum es geht. Nach vielen Versuchen mit stilisierten Fischen, Flohkrebse und Klärwerken hat sich schließlich eine klare, übersichtliche, in Blautönen gehaltene Variante durchgesetzt. Das Logo wurde bei vielen Publikationen und auf allen Vortragsfolien als verbindendes Element aller Projektpartner eingesetzt. Es integriert den Projektnamen in ein Arrangement aus wellenförmigen, den Fluss Schussen symbolisierenden Linien. Die sechseckige Kontur des Logos symbolisiert die chemische Belastung des Flusses mit (poly)zyklischen organischen Chemikalien.



Abb. 280: Die Entwicklung des Logos

**Realisierung des Web-Auftritts:** [www.schussenaktivplus.de](http://www.schussenaktivplus.de)

Zu Projektbeginn wurde eine vorläufige Homepage mit Titel und den wichtigsten Daten erstellt. Beim Rahmen wurden die Layout-Vorgaben von Dechema und RiSKWa als Orientierung genutzt. Die konzeptionelle Herausforderung war es, Laien zu informieren ohne zu ungenau/unwissenschaftlich zu werden. Die Homepage wurde zweisprachig angelegt, so dass wichtige Inhalte zum Projekt auch englisch zu lesen sind.

Um Inhalte attraktiv zu präsentieren und Forschungsarbeit transparent zu machen, wurde Fotomaterial, wie Standortkarten und dazu passenden Fotos von Probestellen, Bilderserien zum Beispiel zu Probenahmen und Veranstaltungen etc. eingearbeitet. Die Homepage wurde während der gesamten Projektlaufzeit und auch noch danach aktualisiert. Sie ist unter <http://schussenaktivplus.de/> aufrufbar.

Als weitere wichtige Funktion gab es einen internen Bereich, in dem die Forschungsdaten der Projektpartner gesammelt und die Datenbank abgelegt wurden.

## Erstellung der Projektflyer

Als zweites Basismedium wurde im Mai 2012 mit Unterstützung des HYDRA Instituts für angewandte Hydrobiologie, Konstanz (Bildmaterial und Karte) ein achtseitiger, vierfarbiger Flyer erstellt, der die notwendigen wesentlichen Informationen zum Projekt enthält (Abb. 281). Der Flyer wurde auf Veranstaltungen und von den Projektpartnern bei Probenahmen verteilt. 2014 wurde der Flyer ins Englische übersetzt und dabei auch aktualisiert. Der englischsprachige Flyer wurde unter anderem auf den internationalen SETAC-Tagungen eingesetzt.

**For a clean river Schussen**  
Water is our most important nutrient. In order to keep it sustainably clean the project SchussenAktivplus started in January 2012. This research project is sponsored by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) and the state of Baden-Württemberg. To get innovative but practical results, 90 partners from research, free economy, municipalities as well as state agencies and syndicates work together until 2015.

The project focuses on technologies capable to reduce the release of micropollutants and potentially pathogenic bacteria into surface waters via sewage treatment plants of different sizes and via stormwater overflow basins of different types.

**The model rivers**  
The river Schussen is one of the most polluted tributaries of Lake Constance (a main source of drinking water). The 790 square kilometer catchment area is densely populated with 992,000 inhabitants and is heavily industrialized. Large parts of it are used intensively for agriculture, cattle breeding, and fruit-growing.

The significantly cleaner neighboring river Argen is used as a control. Preliminary studies showed the Argen to contain only about half the micropollutants of the Schussen.

For more information, please visit [www.schussenaktivplus.de](http://www.schussenaktivplus.de)

**Joint research**  
**Project partners**  
Gesellschaft Tübingen (G. Trübelsch)  
Project management, coordination, immuno-chemistry, toxic and hormonal effects  
Wasserwerk Tübingen (G. Trübelsch)  
Toxic and hormonal effects  
HT Karlsruhe (G. Keller)  
Antibiotic resistance of pathogenic bacteria  
Wasserwerk Stuttgart (G. Koch)  
Estrogenic effects in sewage, water and sediments  
Wasserwerk Esslingen (L. Böhler)  
Toxic and hormonal effects  
Institute National Centre for Ecotoxicology and Environmental Health (N. Hoffmann)  
Environmental biomarkers and bioassays  
HT Langenargen (H. Hoffmann, G. Kudo, R. Rattmann)  
Resection input, and fate of fecal bacteria  
TUM Karlsruhe (B. Schwan, S. Richter)  
Chemical analysis  
HT Stuttgart (H. Jochims)  
Engineering, set up and monitoring of test plants  
RW Aachen (H. Wehrhahn)  
Responsible for bypass stations  
HT Karlsruhe (H. Hoffmann)  
Waste-ecology investigations  
WDRB Karlsruhe (P. Rey)  
Scientific public relations  
Obeasoft Stuttgart (J. Schneider-Rapp)  
Communications  
Schwaben-Bauwerk-Center (J. Rapp)  
Knowledge transfer into the Danube region  
HT Tübingen (H. J. Jochims)  
Co-financing and counselling  
Stadt Ravensburg, RTV Ravensburg (H. Jochims)  
Set up of test facilities at Langwiese  
Schwaben-Bauwerk, HT Karlsruhe (H. Hoffmann)  
Set up of test facilities at Erlenbach, monitoring of resection soil filter at Tetsingen  
Schwaben-Bauwerk (S. Richter)  
Monitoring of slow and filters

**Contact**  
Prof. Dr. Rita Trübelsch  
Populäre Biologie der Tiere  
Universität Tübingen  
Kornell-Adressen-Str. 30  
D-72079 Tübingen  
Tel. +49 7071 / 78 78 846  
[rita.truebelsch@bio-wasser.de](mailto:rita.truebelsch@bio-wasser.de)  
[www.schussenaktivplus.de](http://www.schussenaktivplus.de)

**Sponsor**  
Prof. Dr. Rita Trübelsch, Universität Tübingen  
ORONSULT, J. Schneider-Rapp, [www.onsult.de](http://www.onsult.de)  
VIVA IDEEA, M. Steinberger, [www.vivaidea.de](http://www.vivaidea.de)  
Sponsoring: HYDRA-Institut, P. Rey, [www.hydra-institut.com](http://www.hydra-institut.com)

**Aim of the project**  
The project aims at providing a scientifically sound concept for extended sewage and rainwater treatment in densely populated river catchment areas in view to reduce micropollutants and sanitarly relevant pathogens (including antibiotic-resistant bacteria) in surface waters.

**Key activities**  
• Prior and after application of different sewage and rainwater treatment technologies (including e.g. combinations of ozonation and charcoal filters) the release of micropollutants and bacteria (including antibiotic-resistant bacteria) will be characterized.  
• In addition, the resulting reduction of toxic and endocrine potentials in effluents, stream water, and sediments, as well as the possible decrease of harmful effects in freshwater species will be recorded by various biological *in vitro* and *in vivo* tests.  
• Concomitantly, the effects of the innovative cleaning technologies on the ecosystem will be traced by effect analyses in different indigenous species, including fish species and benthic invertebrates being relevant as food sources for fish.  
• Finally, scientific studies will be accompanied by public relation and communication of the results to relevant authorities.

**What about RiSKWa?**  
The Federal Ministry of Education and Research (BMBF) initiated the funding programme "Risk Management of Emerging Compounds and Pathogens in the Water Cycle (RiSKWa)". Aim of the programme is to develop innovative technologies and concepts for the risk management of these compounds. For three years, 18 joint research project groups are working on "Risk characterization and management", "Technologies for emission and immission management" and "Measures for communication and education".

Abb. 281: Der Projektflyer

## Pressearbeit

Die Pressearbeit war besonders zu Projektbeginn (2012) und am Ende (2015) ein wichtiger Baustein in der Kommunikation. Bei der Auftaktpressekonferenz am 28. Februar 2012 in der Kläranlage Langwiese ging es zunächst darum, Interesse für das Projekt zu wecken. Mit den Tageszeitungen Südwestpresse, Schwäbische Zeitung, Südkurier, dem SWR-Fernsehteam und dem SWR-Radio war sie gut besucht.

Mit dem Versand der Pressemeldung wurde SchussenAktivplus auch in Fachzeitschriften aufgegriffen, zum Beispiel bei einem Interview in der Fachzeitschrift „Wassertechnik“. Es gab in Folge viele redaktionelle Anfragen zu anderen Wasserthemen. Zusätzlich wurde die Projektleiterin 2013 als Expertin in der Arte TV-Dokumentation zum Thema Trinkwasser

"Chemie im Wasser" interviewt. Dort waren auch Bilder von Probestellen von SchussenAktivplus zu sehen.

Aufgrund des großen Medieninteresses wurde im September 2012 eine Pressefahrt im Projektgebiet organisiert (Abb. 282). Dabei konnten sich die Journalisten/innen (2x dpa, Stuttgarter Zeitung, Südkurier, Schwäbische Zeitung, Radio Antenne 1 und SWR-Radio) an einer Probestelle am Fluss, an einem Bypass-System und an der Kläranlage Eriskirch (Modellanlage) vor Ort informieren. Außerdem gab es viele Hintergrundinformationen sowie ausreichend Zeit für Interviews und Nachfragen.

Außer Projektinhalte zu vermitteln, war uns wichtig, die Journalisten und damit die Leser/innen auf Spurenstoffe und Keime in Gewässern aufmerksam zu machen.



Abb. 282: Impressionen der Pressefahrt vom September 2012

Am 7.2.2013 wurde im Fernsehprogramm Arte der Film „Spurenstoffe im Wasser“ und am 16.3. 2013 im ZDF der Beitrag „Risiko im Trinkwasser“ in der Reihe planet e gesendet (Abb. 283). Auch hierzu wurde an Schauplätzen von SchussenAktivplus (Probestellen und Labor in Tübingen) gedreht und Interviews mit der Projektleiterin geführt.



Abb. 283: Fernsehaufnahmen für Arte und das ZDF

Um für den Gewässerschutz zu sensibilisieren, wurden Pressemeldungen zu einer Schulaktion in Ravensburg und zur richtigen Entsorgung von Arzneimitteln verfasst.

Die Abschlussveranstaltung des Projekts am 22./23. April 2015 im Münzhof in Langenargen mit 150 TeilnehmerInnen wurde ebenfalls von intensiver Pressearbeit begleitet. Die Lokalpresse war vor Ort anwesend, zusätzlich wurde die Pressemeldung mit den Ergebnissen an wichtige Medien in Baden-Württemberg, Fachzeitschriften im Abwasser-, Kommunal- und Umweltbereich sowie die Wissenschaftsredaktionen von FAZ und Süddeutsche verteilt. Um die wichtige Zielgruppe Kommunen zu erreichen, haben wir zum Beispiel einen Bericht in der Zeitschrift „Die Gemeinde“ platzieren können. Besonders ausführlich war die Berichterstattung in der Schweizer Bodenseezeitschrift Aquaviva.

Folgende uns bekannte Artikel sind in Tages- bzw. Fachmedien erschienen:

1. schwäbische.de Ravensburg, Dienstag, 28. Februar 2012  
Forschung dient sauberer Schussen
2. SWR Landesschau, Dienstag 28. Februar  
Kurzer Beitrag in den Landesnachrichten
3. SWR-Bodenseeradio, Dienstag, 28. Februar  
Mehrfach als Nachrichtenmeldung
4. tagblatt.de Ravensburg, Mittwoch, 29. Februar 2012  
Neues Projekt soll die Schussen sauberer machen
5. Südkurier Ravensburg, Freitag, 2. März 2012  
Auch Fische sollen sich wohlfühlen
6. SWR-Fernsehen, Landesschau, Montag, 6. März 2012  
Längerer Beitrag in der Landesschau
7. gwf Wasser/Abwasser 4/2012 Oldenburg, Montag, 16. April 2012  
SchussenAktiv*plus* - bundesweit bedeutendes Forschungsprojekt startet
8. Die Welt Hamburg, 1. August 2012  
Medikamente und Chemie grenzenlos im Wasser
9. Frankfurter Neue Presse, Frankfurt, 12. August 2012  
Medikamente im Trinkwasser
10. Morgenpost, 2. August 2012  
Arzneimittelreste - Im Trinkwasser schwimmt ein Medikamenten-Cocktail
11. SWR4 Bodensee Radio aktuell Stuttgart, Dienstag, 18. September 2012  
Degenerierte Fische in der Schussen
12. Antenne 1, Mittwoch 19. September  
Beitrag zu Pressefahrt
13. Dpa-Meldung, Mittwoch, 19. September 2012  
Forschungsprojekt will Wasserqualität in der Schussen verbessern
14. Südkurier Eriskirch, Mittwoch, 19. September 2012  
Sorgen um die Schussen
15. Südwest Presse Ulm, Donnerstag, 20. September 2012  
Immer am Puls der Zeit
16. Stuttgarter Zeitung Stuttgart, Donnerstag, 20. September 2012  
Das Gift soll aus dem Fluss heraus
17. schwäbische.de Ravensburg, Donnerstag, 20. September 2012  
In der Schussen schwimmen allerlei Medikamente

18. Mannheimer Morgen, Donnerstag 20. September 2012  
Neue Schadstoffe ins Wasser gelangt
19. tagblatt.de Meckenbeuren, Freitag, 21. September 2012  
Fische mit verkrüppelten Eierstöcken
20. heilpraxisnet.de Stuttgart/Ravensburg, Freitag, 21. September 2012  
Medikamente in Flüssen und Seen
21. Seespiegel.de Eriskirch, Donnerstag, 1. November 2012  
Forschungsprojekt an der Schussen
22. wwt / Wassertechnik 10/2012 Berlin, Donnerstag, 1. November 2012  
Trinkwasser-Interview - Neues Forschungsprojekt zu Mikroverunreinigungen
23. Gäubote Stuttgart, Samstag, 29. Dezember 2012  
Gifte sollen raus aus dem Trinkwasser
24. Transparent01/2013  
Entfernung von Spurenstoffen aus dem Abwasser
25. Arte Reportage, 7. Februar 2013  
Chemie im Wasser
26. Südkurier, 8. März 2013  
Gefährliches Fischfutter
27. Planet e /Risiko Trinkwasser, 17. März 2013  
Dokumentationsreihe Deutschland
28. Seespiegel Nr. 37, Juni 2013, Dienstag, 25. Juni 2013  
Informationen rund um den Bodensee
29. transparent 01/2013 Ravensburg, Montag, 11. November 2013  
Entfernung von Spurenschadstoffen aus dem Abwasser
30. Südwestpresse Stuttgart, Freitag, 14. November 2013  
Spurenstoffe in Kläranlagen: Kleine Dosen, große Probleme
31. Südkurier Langenargen, Dienstag, 28. Januar 2014  
Ein Fluss im Visier der Forscher
32. Schwäbisches Tagblatt, 23. März 2015  
Pillen gehören in den Restmüll
33. Südkurier Langenargen, Donnerstag 23. April 2015  
Schussen auf einem guten Weg
34. Schwäbische Zeitung Langenargen, Donnerstag, 23. April 2015  
Weniger Schmerzmittel mit "SchussenAktivplus"
35. Südkurier Bodenseekreis, Samstag, 20. Juni 2015  
Schussen soll immer sauberer werden
36. Schwäbische Zeitung Langenargen, Montag, 22. Juni 2015  
Bodenseefreunde angeln sich neue Mitglieder
37. Aquaviva 2/2015 Schaffhausen, Mittwoch, 24. Juni 2015  
Aktiv gegen Spurenstoffe und Keime: das Forschungsprojekt SchussenAktivplus
38. Montfort-Bote Langenargen, Donnerstag, 25. Juni 2015  
Verein der Freunde des Instituts für Seenforschung und des Bodensees schreitet in eine neue Ära
39. Die Gemeinde, Ausgabe 11, 2015  
Das Forschungsprojekt SchussenAktivplus bringt Ergebnisse
40. Stuttgarter Zeitung, 16. Juli 2015  
Wasserqualität am Bodensee, Beflecktes Badeparadies

Darüber hinaus wurde über das Projekt in zahlreichen Newslettern berichtet. Es existieren Verlinkungen auf verschiedenen Homepages, z. B.

- Bei der LUBW:  
<http://www.40-jahre-lubw.de/blog/-/blogs/abschlussveranstaltung-schussenaktivpl-1>,
- im Forschungsportal der Universität Tübingen  
[www.uni-tuebingen.de/aktuelles/attempto-online/archiv-attempto-online/browse/1.html](http://www.uni-tuebingen.de/aktuelles/attempto-online/archiv-attempto-online/browse/1.html)
- im Gesundheitsportal der deutschen ApothekerInnen  
<http://www.aponet.de/aktuelles/aus-gesellschaft-und-politik/20131017-so-werden-medikamente-richtig-entsorgt.html>,
- auf der VSA-Plattform Verfahrenstechnik  
[https://www.micropoll.ch/.../Newsletter\\_5\\_Dezember\\_2014\\_d.pdf](https://www.micropoll.ch/.../Newsletter_5_Dezember_2014_d.pdf),
- beim Kompetenzzentrum Mikroschadstoffe Nordrheinwestfalens,  
<http://www.masterplan-wasser.nrw.de/>
- oder beim Kompetenzzentrum Spurenstoffe Baden-Württemberg  
<http://www.koms-bw.de/>

### **Informationsveranstaltungen für die Öffentlichkeit und für Multiplikatoren**

Um die verschiedenen Stakeholder frühzeitig ins Projekt einzubinden, wurden bereits im September 2012 zwei Informationsveranstaltungen durchgeführt:

- 11. September in Meckenbeuren, 17 - 19 Uhr Informationsveranstaltung für Gemeinderäte
- 11. September in Meckenbeuren, ab 20 Uhr Informationsveranstaltung für Fischer und Umweltverbände

Dort wurden die TeilnehmerInnen der Veranstaltungen über Sinn und Zweck sowie Inhalte informiert. Außerdem wurden von der Projektleiterin während der gesamten Projektlaufzeit auf Verbandsversammlungen der Abwasserzweckverbände diverse Vorträge gehalten, zum Beispiel am 27. Juni 2013 zu Projektkonzeption und -verlauf auf der Versammlung des AZV Mariatal.

Bei der Abschlussveranstaltung des Projekts *SchussenAktivplus* am 22./23. April 2015 im Münzhof in Langenargen konnten sich ca. 150 TeilnehmerInnen (auch aus der Schweiz, Österreich und Ungarn) über die Projektergebnisse informieren. Die Tagung wurde begleitet von einer Exkursion entlang der Schussen zu interessanten Punkten des Projektes.

Im Juni 2015 wurden schließlich die Multiplikatoren zu einer gemeinsam mit dem Verein „Freunde des Instituts für Seenforschung Langenargen“ durchgeführten abschließenden Informationsveranstaltung ins Institut für Seenforschung Langenargen eingeladen.

Um die breite Bevölkerung zu erreichen, wurden zusätzlich zur Pressearbeit verschiedene Bildungsaktivitäten durchgeführt. Hierzu zählen Veranstaltungen in Zusammenarbeit mit der

Volkshochschule Ravensburg im September und Oktober 2012 sowie verschiedene Aktionen an Schulen (Edith-Stein-Schule Ravensburg im Juni 2013; Annette-Droste-Hülshoff-Schule Friedrichshafen im Juni 2014.) Hierbei wurde jeweils ein Vortrag der Projektleitung zum Thema "Warum brauchen Fische Kläranlagen?" kombiniert mit einer Diskussionsrunde sowie einer Vor-Ort-Besichtigung in der Kläranlage Langwiese.

Außerdem wurde eine Materialliste für LehrerInnen sowie ein Informations-Blatt für SchülerInnen der Klassen 3 bis 5 zum Thema Kläranlage erstellt (Abb. 284). Diese Materialien wurden unseren Partnern zur Verfügung gestellt. Das Schaubild findet sich jetzt auch auf der Homepage des baden-württembergischen Kompetenzzentrums für Spurenstoffe (KOMS).



Abb. 284: Infoblatt für SchülerInnen der Klassen 3 bis 5

Beim Tag der offenen Tür in der KA Langwiese am 18. Mai 2014 war das Projekt mit einem Informationsstand sowie mit zwei Vorträgen für Kinder unterschiedlichen Alters vertreten (Abb. 285). Für diesen Tag wurde von Ökonsult ein Programmflyer, ein Infoplakat zum Projekt überarbeitet und ein weiteres Projektplakat entworfen.



Abb. 285: Tag der offenen Tür auf der KA Langwiese



Um über das Projekt zu informieren, wurden folgende Veranstaltungen durchgeführt bzw. Vorträge gehalten:

- 1) 28.2.2012: Pressekonferenz Ravensburg. Projektvorstellung. Tribskorn, UTUE; Jedele, JUP.
- 2) 4.7.2012: Dienstbesprechung Umweltministerium Baden-Württemberg/Kommunales Abwasser und Gewässerschutz in Freiburg-Munzingen. Titel: "Das Forschungsprojekt SchussenAktivplus - Bereich Abwasser". Vortrag Jedele, JUP.
- 3) 11.9.2012: Gemeinderat Merklingen. "Das Forschungsprojekt SchussenAktivplus - Bereich Abwasser". Jedele, JUP.
- 4) 11.9.2012: Zwei Informationsveranstaltungen für (1) Kommunalpolitik sowie (2) Umweltverbände und Fischerei. Rathaus Meckenbeuren. "SchussenAktivplus -Reduktion von Mikroverunreinigungen und Keimen durch weitergehende Behandlung von Kläranlagenabläufen und Mischwasser aus Regenwasserbehandlungssystemen verschiedener Größen zur weiteren Verbesserung der Gewässerqualität des Bodenseezuflusses Schussen". Tribskorn, U TUE.
- 5) 18.9.2012: Pressefahrt entlang der Schussen mit Projektvorstellung vor Ort. Amler, Schneider-Rapp, ÖKS; Tribskorn, UTUE.
- 6) 25.9.2012: Volkshochschule Ravensburg. "SchussenAktivplus: Verminderung von Spurenstoffen und Keimen in der Schussen". Tribskorn, UTUE.
- 7) 17.11.2012: Jahrestagung des Verbands für Geoökologie in Deutschland (VGöD) "SchussenAktivplus - Reduktion von Spurenstoffen und Keimen durch weitergehende Behandlung von Abwasser und Regenwasser zur Verbesserung der Gewässerqualität des Bodenseezuflusses Schussen". Tribskorn, UTUE.
- 8) 14.3.2013: Informationsveranstaltung Regierungspräsidium Tübingen. "Spurenstoffe und Keime in der Schussen". „Abschließende Ergebnisse SchussenAktiv und Stand des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktivplus. Tribskorn, UTUE.
- 9) 14.3.2013: Informationsveranstaltung Regierungspräsidium Tübingen. "SchussenAktivplus - Reduktion von Mikroverunreinigungen und Keimen durch weitergehende Behandlung von Kläranlagenabläufen und Mischwasser aus Regenwasserbehandlungssystemen verschiedener Größen zur weiteren Verbesserung der Gewässerqualität des Bodenseezuflusses Schussen“. Jedele, JUP.
- 10) 20.3.2013: DWA/Tagung der Lehrer und Obleute, Stuttgart. Effizienzkontrolle weitergehender Maßnahmen zur Reduktion von Spurenstoffen und Keimen an Kläranlagen und Regenwasserbehandlungssystemen im Rahmen des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktivplus. Tribskorn, UTUE.
- 11) 20.3.2013: DWA/Tagung der Lehrer und Obleute, Stuttgart. „Gesamtbelastung der Gewässer aus Regenüberlaufbecken und Kläranlage.“ Jedele, JUP.
- 12) 23.4.2013. Messe Wasser Berlin International 2013. „Risikomanagement von Spurenstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf – RiSKWa: Risikocharakterisierung - Neue Ansätze für eine Bewertung der biologischen Wirkung.“ Tribskorn, UTUE.
- 13) 14.5.2013. Besuch Ministerpräsident Kretschmann an der Uni Tübingen. Projektvorstellung mit Poster: SchussenAktivplus: Reduktion von Spurenstoffen und Keimen bei der Behandlung von Regen- und Abwasser und ihre Folgen für wasserlebende Organismen. Tribskorn, UTUE.
- 14) 9.6.2013: Tag des Wassers, Botanischer Garten Universität Tübingen. Projektvorstellung mit Demonstration für die Öffentlichkeit. Tribskorn, UTUE.
- 15) 11.6.2013: Dechema Fortbildungstag, Frankfurt. „Spurenstoffelimination - Abwassertechnische Ansätze und Lösungen für ein Gesamteinzugsgebiet“. Jedele, JUP.
- 16) 11. 6. 2013: Edith-Stein-Schule Ravensburg. „SchussenAktivplus- Warum brauchen Fische gute Kläranlagen“. Tribskorn, UTUE.
- 17) 18.6.2013: 8th Micropol & Ecohazard, Zürich. "Reduction of micropollutants and potentially pathogenic bacteria for further water quality improvement of the river Schussen, a tributary of Lake Constance". Tribskorn, UTUE.
- 18) 19.6.2013: Kläranlagennachbarschaft Bodensee Bodmann-Ludwigshafen. „Effizienzkontrolle weitergehender Maßnahmen zur Reduktion von Spurenstoffen und Keimen an Kläranlagen und

- Regenwasserbehandlungssystemen im Rahmen des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktiv*plus*“. Tribskorn, UTUE.
- 19) 27.6.2013: Verbandsversammlung des AV Unteres Schussental, Ravensburg. „SchussenAktiv*plus* - Reduktion von Mikroverunreinigungen und Keimen durch weitergehende Behandlung von Kläranlagenabläufen und Mischwasser aus Regenüberlaufbecken zur weiteren Verbesserung der Gewässerqualität des Bodenseezuflusses Schussen“. Tribskorn, UTUE.
  - 20) 11.7.2013: Spurenstoffe in der aquatischen Umwelt, Mannheim (UM-Baden-Württemberg). „Spurenstoffe - Charakterisierung des Risikos für aquatische Ökosysteme“. Tribskorn, UTUE.
  - 21) 16.-19.09.2013: 20th International Conference of Environmental Indicators, Trier. „Biomarkers as tools in environmental monitoring“ Tribskorn, UTUE.
  - 22) 18.09.2013: DWA / Fortbildung Kläranlagennachbarschaft Nr. 47 - RV3. „Spurenstoffelimination - Mögliche Maßnahmen, Abwassertechnische Umsetzung / SchussenAktiv*plus*-Projekt.“ Jedele, JUP.
  - 23) 25.9.2013: Statuskolloquium RiSKWa, Karlsruhe. „SchussenAktiv*plus* -Reduktion von Mikroverunreinigungen und Keimen durch weitergehende Behandlung von Kläranlagenabläufen und Mischwasser aus Regenüberlaufbecken zur weiteren Verbesserung der Gewässerqualität des Bodenseezuflusses Schussen“, Tribskorn, UTUE.
  - 24) 18.10.2013: DWA / Landesverbandstagung Baden-Württemberg, Friedrichshafen. „Abwasser- und verfahrenstechnische Ansätze zur Spurenstoffelimination im Einzugsgebiet Bodensee“. Jedele, JUP.
  - 25) 11.11.2013: Verbandsversammlung Abwasserverband Unteres Schussental, Meckenbeuren. „SchussenAktiv*plus* - Ergebnisse der Untersuchungen Spurenstoffelimination - Technische Umsetzung im Bestand.“ Jedele, JUP.
  - 26) 13.-14.11.2013: Gemeinsame Tagung der DWA und Dechema: Industrietage Wassertechnik – Management, Aufbereitung und Ressourceneffizienz, Fulda. Vortrag mit dem Titel: „Ökotoxikologische Bewertung abwasserrelevanter Schadstoffe: Ableitung von Grenzwerten und Umweltqualitätsnormen“. Oehlmann, U FFM.
  - 27) 11.4.2014: Kolloquiumsreihe des Instituts für Seenforschung der LUBW, Langenargen, Titel: SchussenAktiv*plus*: Reduktion von Fäkalindikatorbakterien im Oberflächenwasser durch verbesserte Abwasser- und Regenwasserbehandlung. Lüddeke, ISF.
  - 28) 18.5.2014: Tag der offenen Tür Klärwerk Langwiese. „Munter wie ein Fisch im Wasser? SchussenAktiv*plus* - ein Projekt zur Relevanz von Spurenstoffen für Mensch und Umwelt?“ Tribskorn, U TUE.
  - 29) 18.5.2014: Tag der offenen Tür Klärwerk Langwiese. „Warum brauchen Fische gute Kläranlagen?“. Tribskorn, U TUE.
  - 30) 27.5.2014: Wasser 2014 – Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft der GdCh, Haltern am See, Titel: SchussenAktiv*plus*: Reduktion von Fäkalindikatorbakterien im Oberflächenwasser durch verbesserte Abwasser- und Regenwasserbehandlung – Fallbeispiele Kombinationsverfahren mit Ozonung und Retentionsbodenfilter. Lüddeke, ISF.
  - 31) 26.6.2014: Droste-Hülshoff-Schule Friedrichshafen, „Warum brauchen Fische gute Kläranlagen?“. Tribskorn, U TUE.
  - 32) 26.6.2014: KAN Bodensee, Hörbranz. „Gewässerbelastung durch Ableitungen aus Regenüberlaufbecken und Kläranlagen“. Jedele, JuP.
  - 33) 17.7.2014: KOMS - Technologieforum Spurenstoffe, Ulm. „Spurenstoffelimination mittels granulierter Aktivkohle. Einsatzmöglichkeiten und Betriebsergebnisse“. Jedele, JuP; Locher, JuP.
  - 34) 17.7.2014: KOMS - Technologieforum Spurenstoffe, Ulm. „Spurenstoffelimination in der Kläranlage Ravensburg - Herangehensweise und erste Betriebserfahrungen.“ Jedele, JuP.
  - 35) 15.08.2014: Sommerferienprogramm Nagold, „Warum brauchen Fische gute Kläranlagen?“. Tribskorn, U TUE.
  - 36) 24.9.2014: DWA Kläranlagennachbarschaftstag, Ravensburg. „Abwasser- und verfahrenstechnische Ansätze zur weitergehenden Abwasserreinigung unter dem Gesichtspunkt der Spurenstoffelimination.“ Jedele, JuP.

- 37) 27.11.2014: DWA Expertenforum Kläranlage, Stuttgart. „Gewässerbelastung aus RÜB – Organik, Spurenstoffe, Keime“. Jedele, JuP.
- 38) 23.10.2014: Fachgespräch Kompetenzzentren Micropoll / KOMS Baden-Württemberg, Zürich. „Einsatz granulierter Aktivkohle (GAK) zur Spurenstoffelimination in Kombination mit Ozon oder als eigenständig Einheit“. Jedele, JuP.
- 39) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktivplus. „Die 4. Reinigungsstufe in Kläranlagen als Hoffnungsträger für die Fischentwicklung?“ Thellmann; Henneberg; Triebskorn, U TUE.
- 40) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung SchussenAktivplus, Langenargen. „Multivariate Datenauswertung im Rahmen von SchussenAktivplus: Was sagt sie mehr?“ Schwarz, Köhler, Triebskorn, U TUE.
- 41) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung SchussenAktivplus, Langenargen. „Technologien zur Entfernung von Spurenstoffen und Keimen“. Jedele, JuP.
- 42) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung SchussenAktivplus, Langenargen. „Bilanzierung und Kosten-Nutzen-Abschätzungen“. Jedele, JuP.
- 43) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktivplus. „Munter wie ein Fisch im Wasser: Spurenstoffelimination und Fischgesundheit“. Maier, Triebskorn (U TUE); Rault, Suchail, U Avignon.
- 44) 22./23.4.2015: Abschlussveranstaltung des BMBF-Verbundprojektes SchussenAktivplus. „Im Kreuzfeuer von Umwelthormonen – endokrine Wirkungen bei Fischen“ Henneberg und Triebskorn, U TUE.
- 45) 10.6.2015: Dienstbesprechung Umweltministerium Baden-Württemberg, Schöntal. „Entfernung von Spurenstoffen“. Jedele, JuP.
- 46) 10.6.2015: Dienstbesprechung Umweltministerium Baden-Württemberg, Schöntal. „Verminderung der Einträge im Regenwetterfall und Bedeutung für den Gewässerschutz“. Jedele, JuP.
- 47) 11.11.2015: Symposium Mikroschadstoffe; Düsseldorf. „Weiterführende Abwasserbehandlung und ihr Beitrag zur Verbesserung des Ökosystems: Langzeit- und Kurzzeit-Effekte einer Pulveraktivkohlestufe in abwasserbeeinträchtigten Oberflächengewässern“. Thellmann und Triebskorn, U TUE.
- 48) 25.11.2015: DWA Expertenforum Kläranlage, Stuttgart. „Synergieeffekte von Spurenstoffelimination und Phosphatelimination“. Jedele, JuP.
- 49) 27.11.2015: Infoveranstaltung Landratsamt Friedrichshafen, Friedrichshafen. „Kommunale Abwasserableitung und Abwasserreinigung. Spurenstoffelimination / Technologien“. Jedele, JuP.
- 50) 1.6.2016: VSA-Fortbildungskurs „Mikroverunreinigungen“, Emmetten, Schweiz. Vortrag mit dem Titel: „Die 4. Reinigungsstufe auf Kläranlagen für aquatische Ökosysteme,“. Triebskorn, U TUE.
- 51) 9.-11.6.2016: WBW, Wasserwirtschaftstagung Langenargen. Vortrag mit dem Titel: „Die 4. Reinigungsstufe auf Kläranlagen: Ein Geschenk für aquatische Ökosysteme?“,. Triebskorn, U TUE.
- 52) 13.-14.6.2016: 2. Kongress „Spurenstoffe in der aquatischen Umwelt“ Ulm. Vortrag mit dem Titel: „Spurenstoffe: Ein Risiko für die aquatische Umwelt?“. Triebskorn, U TUE.
- 53) 20. 7. 2016: Forum Umweltplattform Universität Tübingen "Stoffe im Wasserkreislauf". Vortrag mit dem Titel: „Die 4. Reinigungsstufe auf Kläranlagen: Ein Geschenk für aquatische Ökosysteme? Triebskorn, U TUE.
- 54) 19.-20.9.2016: Fachtagung „Arzneimittel und Mikroschadstoffe in Gewässern“, Düsseldorf. Vortrag mit dem Titel: „Wirkung von Arzneimitteln und anderen Mikroschadstoffen auf Gewässerorganismen“. Triebskorn, U TUE.
- 55) 10.11.2016: Parlamentarischer Abend in Berlin "Unser Trinkwasser - Wie sauber hätten Sie's denn gern? Forschung liefert neue Wege gegen Schadstoffe und Keime". Statement zum Thema: „Bewerten“. Triebskorn (UTUE). 26. November 2016: LNV Zukunftsforum zum Gewässerschutz: Alles fließt, doch was fließt mit? Vortrag mit dem Titel: „Spurenstoffe in Gewässern und die Spuren, die sie in Organismen hinterlassen“ Triebskorn, U TUE.

## Bereitstellung von Informationsmaterial zum Thema „Arzneimittelentsorgung“

In Kooperation mit dem Umweltministerium Baden-Württemberg wurde ein Flyer mit Informationen zur richtigen Entsorgung von Arzneimitteln in sechsseitiger und achtseitiger Variante entwickelt (Abb. 286).

Die sechsseitige Variante wurde am 11. Juli 2013 vom baden-württembergischen Landesminister für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft, Franz Untersteller MdL auf einem Fachkongress in Mannheim öffentlich vorgestellt. Anschließend ist der Flyer allen Kommunen in Baden-Württemberg über den Städte- und Gemeindetag zugegangen, so dass der Flyer eine hohe Auflage von mehreren zehntausend erreicht hat, eine Menge, die das Projekt allein nicht hätte finanzieren können.

Die achtseitige Schussen-Variante des Flyers wurde zum ersten Mal bei der Eröffnung der Aktivkohleanlage in der KA Langwiese Ende Juli 2013 verteilt.



Abb. 286: Der Arzneimittelflyer

Nach Fertigstellung des Arzneimittelflyers wurde ein Verteilkonzept für die Flyer erstellt. Die Verteilung lief über Projektpartner, Umweltzentren und in Zusammenarbeit mit den Abwasserzweckverbänden.

Die meisten Flyer (rund 20.000) wurden durch die kommunalen Projektpartner mit ihren Abwassergebührenbescheiden 2014 verteilt: Stadt Ravensburg (13.000), Gemeinde

Eriskirch (1.100), Gemeinde Tettang (2.000), Gemeinde Meckenbeuren (3600), Gemeinde Merklingen (600). Weitere rund 2.000 Flyer wurden bei Veranstaltungen verteilt.

Zusätzlich wurde der Flyer von Pressearbeit begleitet und das Thema Arzneimittel inklusive Projektvorstellung auch im Ravensburger Umweltkalender (2014) platziert, den alle Haushalte in Ravensburg erhalten haben. In Zusammenarbeit mit der Uni Tübingen konnten wir das Thema im März 2015 auch noch prominent im „Schwäbischen Tagblatt“ platzieren.

Im Rahmen der RiSKWa-Arbeitsgruppe „Risikokommunikation“ wurde eine Unterarbeitsgruppe „Arzneimittelentsorgung“ gegründet. Hieraus entstand die bundesweit gültige und vielfach beachtete Homepage zur richtigen Arzneimittelentsorgung <http://www.arzneimittelentsorgung.de/>.

### **Bundesweite und internationale Bekanntmachung der Ergebnisse durch Teilnahme an Fachkongressen und Publikationen in Fachzeitschriften**

Von allen ProjektpartnerInnen wurden Ergebnisse bei Fachkongressen präsentiert sowie in relevanten wissenschaftlichen Fachjournalen publiziert. Bis zum Dezember 2016 wurden folgende Tagungsbeiträge bzw. Publikationen veröffentlicht.

#### *Abstracts für Posterbeiträge bzw. Vorträge*

- 1) 30.9-3.10.2012: 64. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) in Hamburg. Posterbeitrag mit dem Titel: "Antibiotic-resistant staphylococci in the environment?" (Hess, Winter, Gallert (KIT, HSEL).
- 2) 11.-13. 9.2012: Jahrestagung der Fachgruppe Umwelt-Chemie und Ökotoxikologie der GDCh und der SETAC GLB, Leipzig. Vortrag mit dem Titel: "Auswirkungen zusätzlicher Reinigungsstufen in Kläranlagen auf den Gesundheitszustand von Fischen". Henneberg, Tribskorn (U TUE).
- 3) 11.-13. 9. 2012: Jahrestagung der Fachgruppe Umwelt-Chemie und Ökotoxikologie der GDCh und der SETAC GLB, Leipzig. Vortrag mit dem Titel: "Begleitende Analyse des Erfolges der Aufrüstung der Kläranlage Langwiese (AZV Mariatal) mit einer Aktivkohlefilterung – Histopathologische Untersuchung zweier Fischarten". Maier, Tribskorn (U TUE).
- 4) 11.-13. 9. 2012: Jahrestagung der Fachgruppe Umwelt-Chemie und Ökotoxikologie der GDCh und der SETAC GLB, Leipzig. Vortrag mit dem Titel: "Mikroschadstoff-Monitoring an den Bodenseezuflüssen Schussen und Argen mit zwei Vertretern der Gattung Gammarus". Peschke, Tribskorn (U TUE).
- 5) 14.-18.9.2012: 127. Versammlung der GDNÄ Gesellschaft deutscher Naturwissenschaftler und Ärzte e. V., Göttingen. Poster mit dem Titel: "Mikroschadstoff-Monitoring an den Bodenseezuflüssen Schussen und Argen. Populationsökologische, histopathologische und biochemische Untersuchungen mit zwei Vertretern der Gattung Gammarus". Peschke, Geburzi, Köhler, Tribskorn (U TUE).
- 6) 14.-18.9.2012: 127. Versammlung der GDNÄ Gesellschaft deutscher Naturwissenschaftler und Ärzte e. V., Göttingen. Poster mit dem Titel: "Auswirkungen zusätzlicher Reinigungsstufen in Kläranlagen auf den Gesundheitszustand von Fischen". Henneberg, Tribskorn (U TUE).

- 7) 14.-18.9.2012: 127. Versammlung der GDNÄ Gesellschaft deutscher Naturwissenschaftler und Ärzte e. V., Göttingen. Poster mit dem Titel: "Begleitende Analyse des Erfolges der Aufrüstung der Kläranlage Langwiese (AZV Mariatal) mit einer Aktivkohlefilterung – Histopathologische Untersuchung zweier Fischarten". Maier, Tribskorn (U TUE).
- 8) 6.-8.5.2013: Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft "Wasser 2013" in Goslar, eingereicht als Posterbeitrag mit dem Titel: "Erste Ergebnisse der chemischen Analytik im RiSKWa Verbundprojekt SchussenAktivplus". (Scheurer, Richter, Sacher (TZW).
- 9) 10.-11.6.2013: DanTox Symposium, Aachen. Poster mit dem Titel: ELS-Tests mit dem Zebrafisch (*Danio rerio*) zum Nachweis embryotoxischer Potenziale in Sediment- und Wasserproben aus mit Abwasser belasteten Flüssen (Schussen, Argen, Neckar). Thellmann, Vincze, Scheil, Osterauer, Köhler, Tribskorn (U TUE).
- 10) 16-20.6.2013: 8th Micropol & Ecohazards, Zürich. Vortrag mit dem Titel: "SchussenAktivplus: Reduction of micropollutants and potentially pathogenic bacteria for further water quality improvement of the river Schussen, a tributary of Lake Constance, Germany. ". Tribskorn (U TUE).
- 11) 16-20.6.2013: 8<sup>th</sup> Micropol & Ecohazards, Zürich. Poster mit dem Titel: "Is the extension of a wastewater treatment plant with charcoal filter relevant for the health of fish in the connected river? Histological diagnostics and biotransformation capacity in trout, chub, and spiralin". Maier, Thellmann, Hanslik, Tribskorn (U TUE).
- 12) 16-20.6.2013: 8th Micropol & Ecohazards, Zürich. Poster mit dem Titel: "Activated charcoal filtration and ozonation for an improved surface water quality: investigations of native fish". Henneberg, Hanslik, Kindermann, Köhler, Tribskorn (U TUE).
- 13) 16-20.6.2013: 8th Micropol & Ecohazards, Zürich. Poster mit dem Titel: "Monitoring of micropollutants in the rivers Schussen and Argen, two tributaries of Lake Constance. Life-history-traits, histopathology and stress protein analysis in gammarids". Peschke, Geburzi, Köhler, Tribskorn (U TUE).
- 14) 16.-20.6.2013: 8th Micropol & Ecohazards, Zürich. Vortrag mit dem Titel: "Integrative detection of toxic and endocrine disrupting potentials and effects of trace pollutants of the river Schussen, a tributary of Lake Constance, Germany". Giebner, Oetken (U FFM), Tribskorn (U TUE), Oehlmann, Wagner (U FFM).
- 15) 3.-7. 2013: 6<sup>th</sup> Int. Conference on Water Resources and Environmental Research: Water and Environmental Dynamics, Koblenz. Vortrag mit dem Titel: "Reduction of micropollutants and of potentially pathogenic bacteria for further water quality improvement of the river Schussen, a tributary of Lake Constance, Germany: First results of the project SchussenAktivplus". Tribskorn (U TUE).
- 16) 21.-25.7.2013: FEMS Microbiology Congress, Leipzig. Poster mit dem Titel: "Antibiotic-resistant staphylococci in the aquatic environment." Heß, Winter, Gallert (KIT, HSEL).
- 17) 09.-11.9.2013: Jahrestagung Deutsche Gesellschaft für Limnologie, Potsdam. Poster mit dem Titel: „SchussenAktivplus: Teilprojekt Rückhalt, Eintrag und Verbleib von Fäkalkeimen“, Lüddecke, Güde, Löffler (ISF).
- 18) 16.-19.9.2013: 20th International Conference of Environmental Indicators, Trier. Poster mit dem Titel: "The effect of temperature and storage period on the toxicity, mutagenicity and endocrine activity of wastewater samples". Giebner (U FFM), Osterauer, Tribskorn (U TUE) Oetken (U FFM), Oehlmann, Wagner (U FFM).
- 19) 16.-19.9.2013: 20th International Conference of Environmental Indicators, Trier. Poster mit dem Titel: "Biomarkers and biotests as tools to detect toxic effects in effluent-exposed fish". Maier, Henneberg, Hanslik, Osterauer, Thellmann, Köhler, Tribskorn (U TUE).
- 20) 16.-19.9.2013: 20th International Conference of Environmental Indicators, Trier. Poster mit dem Titel: „Endocrine effects in fish influenced by waste water effluents“. Henneberg, Maier, Tribskorn (U TUE).
- 21) 16.-19.9.2013: 20th International Conference of Environmental Indicators, Trier. "Biomarkers as tools in environmental monitoring" Tribskorn (UTUE).
- 22) 23.-26.9.2013: 18. Jahrestagung der SETAC GLB 2013, Duisburg-Essen. Vortrag mit dem Titel „Integrative detection of toxic and endocrine disrupting potentials and effects of trace pollutants

- of the river Schussen, a tributary of Lake Constance". Giebner, Oetken (U FFM), Tribskorn (U TUE), Oehlmann, Wagner (U FFM).
- 23) 25.-26.9.2013: Czech national conference "Reservoirs 2013". Vortrag mit dem Titel: „Pan-European campaigns of monitoring of endocrine disruptors and other micropollutants in waste, surface and ground waters“ Bláha (Recetox).
  - 24) 24.-25.10.2013: Students in Evolution and Ecology Meeting, Tübingen. Vortrag mit dem Titel: Efficiency control of a wastewater treatment plant upgrade using biological effect studies in fish. Maier (U TUE).
  - 25) 2.-6.3.2014: IJAS, Malta. Vortrag mit dem Titel: “Assessment of established and new cleaning technologies in wastewater treatment plants using biomarkers in fish”. Maier (U TUE).
  - 26) 5.-7.5.2014: 41.st Conference on Industrial Toxicology and Ecotoxicology" Kouty nad Desnou. Vortrag mit dem Titel: “How to assess ecotoxicity of chemical mixtures?”. Bláha (Recetox).
  - 27) 11.-15.5.2014: SETAC Basel. Vortrag mit dem Titel “Reduction of micropollutants and pathogens in surface waters by improved wastewater and rainwater treatment: What is the benefit for aquatic organisms and human health?”. Tribskorn (U TUE).
  - 28) 11.-15.5.2014: SETAC Basel. Vortrag mit dem Titel “Effects of micropollutants on fishes and macroinvertebrates.“ Tribskorn (U TUE).
  - 29) 11.-15.5.2014: SETAC Basel. Vortrag mit dem Titel “Dioxin-like effect potentials and related effects in fish exposed to regular wastewater effluents and effluents with additional wastewater treatment stages“ Maier (U TUE).
  - 30) 11.-15.5.2014: SETAC Basel. Poster mit dem Titel “Removal of compounds with estrogen-, androgen- and dioxin-like activities by various waste water treatment technologies studied by in vitro bioassays.” Beníšek, Bláha (Recetox), Osterauer, Tribskorn (UTUE).
  - 31) 11.-15.5.2014: SETAC Basel. Poster mit dem Titel “Is the zebrafish embryo test a suitable tool to evaluate the efficiency of wastewater treatment plants?” Thellmann, Köhler, Tribskorn (U TUE).
  - 32) 17.7.2014: KOMS - Technologieforum Spurenstoffe, Ulm. „Spurenstoffelimination mittels granulierter Aktivkohle. Einsatzmöglichkeiten und Betriebsergebnisse“. Jedele & Locher (JuP),
  - 33) 17.7.2014: KOMS - Technologieforum Spurenstoffe, Ulm. „Spurenstoffelimination in der Kläranlage Ravensburg - Herangehensweise und erste Betriebserfahrungen.“. Jung & Jedele (JuP),
  - 34) 7.-10.9.2014: 6. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Gießen. Vortrag mit dem Titel: “Do advanced treatment technologies remove wastewater-borne toxicity?”. Giebner, Stößel, Oetken, Oehlmann und Wagner (FFM).
  - 35) 7.-10.9.2014: 6. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Gießen. Praktische Demonstration mit dem Titel: „Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*“. Giebner & Ruppert, Brettschneider, Gackenheimer, Geiß, Stößel, Straskraba und Oehlmann (U FFM).
  - 36) 7.-10.9.2014: 6. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Gießen. Poster mit dem Titel: „Bewertung der Effektivität weiterführender Abwasserbehandlungsmaßnahmen mittels ausgewählter biologischer Testverfahren“. Stößel, Giebner, Oetken und Oehlmann (U FFM).
  - 37) 7.-10.9.2014: 6. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Gießen. Poster mit dem Titel: „Bewertung der Effektivität verschiedener Abwasserreinigungsstufen durch In-vivo und In-vitro-Testverfahren im Bodensee-Einzugsgebiet“. Straskraba, Giebner, Oetken und Oehlmann (U FFM).
  - 38) 5.-8.10.2014: Microbiology and Infection 2014, 4. Gemeinsamer Kongress von DGHM und VAAM, Dresden. Abstract für Vortrag eingereicht mit dem Titel: „Staphylococci living in aquatic environments with inducible resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin B antibiotics and the capacity of the metabolite anhydroerythromycin to induce cross-resistance against these antibiotic classes“. Heß, Gallert (KIT, HSEL).

- 39) 5.-8.10.2014: Microbiology and Infection 2014, 4. Gemeinsamer Kongress von DGHM und VAAM, Dresden. Abstract für Poster eingereicht mit dem Titel: „SchussenAktivplus: elimination of fecal indicator bacteria in advanced wastewater treatment – an application-oriented field study at the Lake Constance tributary Schussen“. Lüddeke, Güde, Löffler (ISF).
- 40) 9.-13.11.2014: SETAC North America 35th Annual Meeting, Vancouver, Kanada. Vortrag mit dem Titel: „Do advanced treatment technologies remove wastewater-borne toxicity?“. Giebner, Oetken, Oehlmann und Wagner (U FFM).
- 41) 17.-21.5.2015: 3rd International symposium on the environmental dimension of antibiotic resistance (EDAR), Werningerode Poster mit dem Titel „Abundance of different antibiotic resistances in treated sewage and receiving water bodies“ Heß, Gallert (HSEL).
- 42) 18.-21.9.2015: ICAAC/ICC Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy San Diego, CA Poster mit dem Titel „Antibiotic resistance: Is the clinical wild-type definition transferable to aquatic strains??“ Heß, Gallert (HSEL).
- 43) 5.11.2015: 2. Emdener Abwassertage, Vortrag mit dem Titel „Effizienz vierter Reinigungsstufen hinsichtlich des Rückhalts Antibiotika-resistenter Keime“ Heß, Gallert (HSEL).
- 44) 9.11.2015: Langenauer Wasserforum. Vortrag mit dem Titel: „Viele Stoffe - großes Risiko? Warum Wirktests helfen zu entscheiden“. Triebskorn (UTUE).
- 45) 12.11.2015: Hydrobiologisches Seminar an der TU Dresden, Vortrag mit dem Titel „Mikrobiologische Charakterisierung verschiedener Abwasserreinigungstechnologien und ihre Auswirkungen auf die Antibiotika-Resistenzsituation in Oberflächengewässern“ Heß, Gallert (HSEL).
- 46) 13.11.2015: Regionalkonferenz: Landwirtschaft und nachhaltige kommunale Wasserwirtschaft – (k)ein Widerspruch. Vortrag mit dem Titel: „Reduktion von Mikroverunreinigungen zur Verbesserung der Gewässerqualität am Beispiel des RiSKWa-Verbundvorhabens SchussenAktivplus.“ Scheurer (TZW).
- 47) 1.-4.12.2015: UNESCO-IHP Regional Consultation Meeting, Water Quality in Europe: Challenges and Best Practices. Vortrag mit dem Titel „Reduction of Micropollutants for further Water Quality Improvement of the River Schussen, a Tributary of Lake Constance.“ Scheurer (TZW).
- 48) 26.-27.1.2016: Sino-German Symposium on Novel Materials and Techniques for Emerging Pollutants Immobilization from Aqueous Media, Tongji University, Shanghai, China Vortrag mit dem Titel „Elimination of micro-pollutants and pathogenic (antibiotic resistant) bacteria by advanced wastewater treatment technologies“ Heß, Gallert, Winter (HSEL, KIT).
- 49) 7.-10.9.2015: 20. Jahrestagung der SETAC GLB, Zürich. Vortrag mit dem Titel: „Efficiency of advanced wastewater treatment technologies-Do we need a further treatment step?“. Giebner, Ostermann, Straskraba, Oetken, Oehlmann, Wagner (U FFM).
- 50) 7.-10.9.2015: 20. Jahrestagung der SETAC GLB, Zürich. Poster mit dem Titel: „Does wastewater treatment plant upgrading with activated charcoal filtering reduce endocrine and embryotoxic effects in fish?“. Wilhelm, Henneberg, Triebskorn (UTUE).
- 51) 22.11.-25.11.2015: 9. IWA specialist conference on assessment and control of micropollutants and hazardous substances in water (Micropol and Ecohazard 2015). Vortrag mit dem Titel: „Do advanced treatment technologies remove wastewater-borne toxicity?“. Giebner, Straskraba, Ostermann, Oetken, Oehlmann, Wagner (U FFM).
- 52) 22.-26.5.2016: SETAC Europe 26th Annual Meeting, Nantes. Vortrag mit dem Titel: „Advantages of wastewater treatment plant upgrading with additional activated carbon for ecosystem health.“ Wilhelm, Henneberg, Maier, Triebskorn (UTUE).
- 53) 13.14.6.2016: 2. Kongress „Spurenstoffe in der aquatischen Umwelt“ Ulm. Vortrag mit dem Titel: „Spurenstoffe: Ein Risiko für die aquatische Umwelt?“. Triebskorn (UTUE).
- 54) 5.-8.9.2016: 7. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Tübingen. Abstract für Vortrag eingereicht mit dem Titel: „Effectivity of advanced wastewater treatment: Reduction of in vitro endocrine activity and mutagenicity but not of in vivo reproductive toxicity“. Giebner, Ostermann, Straskraba, Oetken, Oehlmann, Wagner (U FFM).



- 55) 5.-8.9.2016: 7. Gemeinsame Jahrestagung der SETAC GLB und der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie der GDCh, Tübingen. Poster mit dem Titel: „Verbesserung der Fischgesundheit durch die Aufrüstung einer Kläranlage mit zusätzlicher Aktivkohlefilterstufe“. Wilhelm, Maier, Triebkorn (UTUE).
- 56) 19.-20.9.2016: Symposium „Mikroschadstoffe und Arzneimittel in Gewässern“, Düsseldorf, MKULNV NRW; „Wirkung von Arzneimitteln und anderen Mikroschadstoffen auf Gewässerorganismen“. Triebkorn (UTUE).

### *Begutachtete Publikationen*

- 1) Triebkorn R, Amler A, Blaha L, Gallert C, Giebner S, Güde H, Henneberg H, Hess S, Hetzenauer H, Jedele K, Jung R-M, Kneipp S, Köhler H-R, Kraus S, Kuch B, Lange C, Löffler H, Maier D, Metzger J, Müller M, Oehlmann J, Osterauer R, Peschke K, Raizner J, Rey P, Rault M, Richter D, Sacher F, Scheurer M, Schneider-Rapp J, Seifan M, Spieth M, Vogel H-J, Weyhmüller M, Winter J, Wurm K (2013): SchussenAktivplus: reduction of micropollutants and of potentially pathogenic bacteria for further water quality improvement of the river Schussen, a tributary of Lake Constance, Germany. *Environmental Sciences Europe*, 25:2 online.
- 2) Triebkorn R, Blaha L, Engesser B, Güde H, Henneberg A, Hetzenauer H, Köhler H-R, Kraus S, Kuch B, Maier D, Oehlmann J, Peschke K, Rault M, Rey P, Richter D, Sacher F, Suchail S, Thellmann P, Weyhmüller M, Wurm K, Vogel H-J (2013): SchussenAktiv - Eine Modellstudie zur Effizienz der Reduktion der Gehalte an anthropogenen Spurenstoffen durch Aktivkohle in Kläranlagen: Expositions- und Effektmonitoring vor Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe auf der Kläranlage Langwiese des AZV Mariatal, Ravensburg. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 8: 427-436.
- 3) Scheurer M, Richter D, Sacher F (2013): Erste Ergebnisse der chemischen Analytik in RiSKWa-Verbundprojekt SchussenAktivplus. *Wasser 2013 – Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft*. 353-357, ISBN 978-3-936028-76-8.
- 4) Heß S, Gallert C (2014): Demonstration of Staphylococci with Inducible Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance MLSB in Sewage and River Water and of the Capacity of Anhydroerythromycin to Induce MLSB. *FEMS Microbiology Ecology* 88 (1): 48-59.
- 5) Peschke K, Geburzi J, Köhler H-R, Wurm K, Triebkorn R (2014): Invertebrates as indicators for chemical stress in sewage-influenced stream systems: Toxic and endocrine effects in gammarids and reactions at the community level in two tributaries of Lake Constance, Schussen and Argen. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106: 115-125.
- 6) Henneberg A, Bender K, Blaha L, Giebner S, Kuch B, Köhler H-R, Maier D, Oehlmann J, Richter D, Scheurer M, Schulte-Oehlmann U, Sieratowicz A, Ziebart S, Triebkorn R (2014): Are *in vitro* methods for the detection of endocrine potentials in the aquatic environment predictive for *in vivo* effects? Outcomes of the projects SchussenAktiv and SchussenAktivplus in the Lake Constance area. *PLoS ONE* 9(6): e98307 online available at: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098307>.
- 7) Heß S, Gallert C (2014): Resistance behavior of inducible clindamycin-resistant staphylococci from clinical samples and from aquatic environments. *Journal of Medical Microbiology*, accepted for publication *Journal of Medical Microbiology* 63: 1446–1453.
- 8) Henneberg A, Triebkorn R (2015): Efficiency of advanced wastewater treatment technologies for the reduction of hormonal activity in effluents and connected surface water bodies by means of vitellogenin analyses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Environmental Sciences Europe* 27(1): 1.
- 9) Heß S, Gallert C (2015): Sensitivity of antibiotic resistant and antibiotic susceptible *Escherichia coli*, Enterococcus and Staphylococcus strains against ozone. *Journal of Water and Health* doi:10.2166/wh.2015.291.
- 10) Heß S, Gallert C (2015): *Staphylococcus argensis* sp. nov., a novel staphylococcal species isolated from aquatic environment. *International Journal of Systematics and Evolutionary Microbiology* doi: 10.1099/ijs.0.000319.

- 11) Lüddeke F, Heß S, Gallert C, Winter J, Güde H, Löffler H (2015): Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water Research* 69: 243-251.
- 12) Maier D, Blaha L, Giesy J P, Henneberg A, Köhler H-R, Kuch B, Osterauer R, Peschke K, Richter D, Scheurer M, Triebkorn R (2015): Biological Plausibility as a Tool to Associate Analytical Data for Micropollutants and Effect Potentials in Wastewater, Surface Water, and Sediment with Effects in Fishes. *Water Research* 72: 127-144.
- 13) Thellmann P, Köhler H-R, Rößler A, Scheurer M, Schwarz S, Vogel H-J, Triebkorn R (2015): Fish embryo tests with *Danio rerio* as a tool to evaluate surface water and sediment quality in rivers influenced by wastewater treatment plants using different treatment technologies. *Environmental Science and Pollution Research* 22(21): 16405-16416.
- 14) Scheurer M, Heß S, Lüddeke F, Sacher F, Güde H, Löffler H, Gallert C (2015): Removal of micropollutants, facultative pathogenic and antibiotic resistant bacteria in a full-scale retention soil filter receiving combined sewer overflow. *Environmental Science: Processes & Impacts* 17;1,186-196.
- 15) Wendlandt S, Heß S, Li J, Feßler AT, Wang Y, Kadlec K, Gallert C, Schwarz S (2015): Detection of the macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance gene *erm(44)* and a novel *erm(44)* variant in staphylococci from aquatic environments. *FEMS Microbiology Ecology* doi: 10.1093/femsec/fiv090.
- 16) Triebkorn R (2015): Viele Stoffe - großes Risiko? Warum Wirktests helfen zu entscheiden. *Sonderpublikation zum 11. Langenauer Wasserforum*: 38-39.
- 17) Triebkorn R, Schneider-Rapp J (2015): Aktiv gegen Spurenstoffe und Keime: das Forschungsprojekt SchussenAktivplus. *Aquaviva* 57(2): 11-15.
- 18) Heß S, Gallert C (2016): Growth Behavior of *E. coli*, *Enterococcus* and *Staphylococcus* Species in the Presence and Absence of Sub-inhibitory Antibiotic Concentrations: Consequences for Interpretation of Culture-Based Data. *Microbial Ecology* pp 1-11, DOI 10.1007/s00248-016-0788-7.
- 19) Heß S, Lüddeke F, Gallert C (2016): Concentration of facultative pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes during sewage treatment and in receiving rivers. *Water Science and Technology* 73,12 DOI: 10.2166/wst.2016.304.
- 20) Maier D, Benisek M, Blaha L, Dondero F, Giesy JP, Köhler H-R, Richter D, Scheurer M, Triebkorn R (2016): Reduction of dioxin-like toxicity in effluents by additional wastewater treatment and related effects in fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 132: 47-58.
- 21) Peschke K, Burmester J, Hermann M, Köhler H-R, Reitter K, Scheurer M, Wurm K, Triebkorn R (2016): Reaktionen von Flohkrebse und Makrozoobenthos auf die Nachrüstung einer Kläranlage mit einer Pulveraktivkohlestufe. *gwf - Wasser/Abwasser* 157(4): 370-379.
- 22) Giebner S, Ostermann S, Straskraba S, Oetken M, Oehlmann J, Wagner M (2016): Effectivity of advanced wastewater treatment: Reduction of in vitro endocrine activity and mutagenicity but not of in vivo reproductive toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*. DOI: 10.1007/s11356-016-7540-1.
- 23) Castronovo S, Wick A, Scheurer M, Nödler K, Schulz M, Ternes TA (2016): Biodegradation of the artificial sweetener acesulfame in biological wastewater treatment and sandfilters. Accepted for publication in *Water Research* DOI: 10.1016/j.watres.2016.11.041.
- 24) Maier D, Henneberg A, Köhler H-R, Rault M, Richter D, Scheurer M, Suchail S, Triebkorn R (in Vorbereitung): Does wastewater treatment plant upgrading with activated carbon result in an improvement of fish health in the connected river?

### Vernetzung mit den anderen RiSKWa-Projekten

Durch die Teilnahme der verschiedenen Projektpartner von SchussenAktivplus an zahlreichen RiSKWa-Workshops, die sich mit Querschnittsthemen der zwölf Verbundprojekte

auseinandersetzen, war eine Verortung und Integration des Projekts im RiSKWa-Verbund gesichert.

An folgende Sitzungen war mindestens ein Projektpartner aus SchussenAktiv<sup>plus</sup> beteiligt:

1. Sechs Lenkungskreissitzungen (Tribskorn, U TUE)
2. Zwei Workshop Chemische Analytik, Probenahme, Probenstabilisierung (Sacher, Scheurer, TZW; Osterauer, U TUE; Giebner, U FFM)
3. Fachgespräch "Indikatorsubstanzen" (Sacher, Scheurer, TZW)
4. Fünf Fachgespräche "Bewertungskonzepte der Mikrobiologie" (Gallert, Hess, HSEL, KIT; Güde, Lüddeke, ISF)
5. Drei Arbeitstreffen „Bewertungskonzepte der Human-/Ökotoxikologie“ (Oehlmann, Wagner, Giebner, U FFM; Tribskorn, Henneberg, Maier, U TUE)
6. Fachtagung und Workshop ANTI-Resist (Lüddeke)
7. Vier Fachgespräche zum Querschnittsthema "Abwassertechnik", jeweils in Frankfurt am Main, Dechema Haus 11.06.2013, 09.12.2013, 03.04.2014, 03.06.2014 (Vogel, RP Tübingen, Jedele JuP)
8. Zwei Fachgespräche zum Querschnittsthema „Risikomanagement“ (Vogel, RP Tübingen)

## 5.2 Verwertung

*Tribskorn (Universität Tübingen), Fromm (Regierungspräsidium Tübingen) Jedele (Jedele & Partner, Stuttgart), Vogel (ehem. Regierungspräsidium Tübingen)*

### 5.2.1 Verwertungsmöglichkeiten und bereits erfolgte Verwertung

Die erzielten Ergebnisse dienen Behörden und anderen Entscheidungsträgern auf Landes- und Bundesebene als Bewertungsgrundlagen und Entscheidungshilfen in folgenden Zusammenhängen:

- Fachliche und monetäre Bewertung von Reinigungsverfahren und Verfahrenskombinationen auf Kläranlagen unterschiedlicher Größe und RÜB hinsichtlich der Effizienz für die Reduktion von Spurenstoffen und Keimen sowie von Wirkungen auf angeschlossene Ökosysteme.
- Abwägung ökologischer und ökonomischer Vor- und Nachteile der weitergehenden Abwasserreinigungsmaßnahmen.
- Erarbeitung von Monitoringkonzepten zur Expositions- und Effekt-orientierten Effizienzprüfung der vierten Reinigungsstufe in der Abwasserreinigung sowie bei der Bewertung der Wasserqualität angeschlossener Gewässer.
- Erarbeitung von Strategien zur weitergehende Behandlung des Mischwasseraustrages über Regenüberlaufbecken in Bereichen mit räumlichen Handlungsoptionen (z. B. durch die Etablierung von Retentionsbodenfiltern)

- Festlegung eines geeigneten Methodenrepertoires zur Effekt-orientierten Bewertung der Wasserqualität sowie für die Ableitung von Bewertungskriterien für die Gewässergüteklassifizierung (im Zusammenhang mit der Wasserrahmenrichtlinie)
- Weitere Verbreitung der Information zur richtigen Entsorgung von Arzneimitteln über den vorhandenen Informationsflyer zur Arzneimittelentsorgung in Baden-Württemberg.

Da alle erzielten Ergebnisse in einer zentralen Datenbank an der Universität Tübingen gesammelt wurden, stehen diese auch für weitere Projekte bzw. Untersuchungen zur Verfügung. Bereits aktuell besteht in diesem Zusammenhang ein enger Kontakt zum BMBF-Projekt NiddaMan (ReWaM), in dem erzielte Daten möglicherweise in Modelle integriert werden sollen.

Wissenschaftlich können die erzielten Ergebnisse darüber hinaus auf der Basis der bereits veröffentlichten und noch geplanten Publikationen in nationalen und internationalen Fachzeitschriften sowie im Zusammenhang mit Vorträgen bei Fachtagungen genutzt werden.

An der Universität Tübingen wurden die Ergebnisse im Rahmen von Lehrmodulen im Bereich „Physiologische Ökologie der Tiere“ eingesetzt und verwertet.

Mit direktem Bezug zu SchussenAktivplus wurden im Gesamtprojekt 17 Bachelorarbeiten, 9 Masterarbeiten, 10 Diplomarbeiten, 3 Staatsexamensarbeiten und 3 Doktorarbeiten fertig gestellt. Drei weitere Doktorarbeiten werden Anfang des nächsten Jahres abgeschlossen.

Ergebnisse aus SchussenAktivplus wurden bei der Erstellung des DWA-Merkblatt 624 der Arbeitsgruppe GB-5.8 Hygiene „Risiken an Badestellen und Freizeitgewässern aus gewässerhygienischer Sicht“ berücksichtigt.

Außerdem werden die Resultate aus dem Projekt in den DIN/ISO-Arbeitskreis "Endokrine Wirkungen" eingebracht, dem Dr. Martin Wagner und Prof. Dr. Jörg Oehlmann von der Universität Frankfurt am Main als Mitglieder angehören, und der das Ziel verfolgt, *In-vitro*-Assays für östrogene Wirkungen von Abwasserproben international zu standardisieren und eine verbindliche Testrichtlinie zu entwickeln. Ein vergleichbares Ziel verfolgte die "OECD Expert Group on Invertebrate Testing", die den ebenfalls in SchussenAktivplus eingesetzten Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* international standardisierte und eine entsprechende OECD-Richtlinie entwickelte. Der neu entwickelte Test wurde im September 2016 durch die OECD als OECD-Prüfrichtlinie 242 veröffentlicht (OECD 2016). Auch diesem Gremium gehört Prof. Dr. Jörg Oehlmann an, wo er die entsprechenden Arbeiten zu *P. antipodarum* koordinierte.

Durch die Projektleiterin Prof. Dr. Rita Triebkorn wurden Erfahrungen und Ergebnisse aus SchussenAktivplus in das VDI-Normungsgremium „Fische als Wirkungsindikatoren“ eingebracht.

## 5.2.2 Strategiepapier des Regierungspräsidiums Tübingen

Im Anschluss an die letzte Projektsitzung am 12. Oktober 2016 wurde vom Regierungspräsidium Tübingen unter Federführung von Hans-Joachim Vogel und Jürgen Fromm in Absprache mit Herrn Dr. Jedele und Frau Prof. Dr. Triebkorn folgendes Strategiepapier zur Spurenstoff- und Keimelimination erstellt.

### **Strategische Bewertung der untersuchten Behandlungsverfahren als Synthese aus SchussenAktivplus**

#### **Kläranlagen mit einer Anlage zur gezielten Spurenstoffelimination**

- 1. Die untersuchten Hauptverfahren bei SchussenAktivplus (Behandlung mit Aktivkohle und Ozon in Kombination mit einem Schnellsandfilter) reduzieren ein im konventionell gereinigten Abwasser vorliegendes und analysiertes Spektrum an Mikroschadstoffen und Keimen deutlich. Sie sind in der Praxis erprobt und betriebssicher. Verfahrensbedingt ist die Entnahmewirkung stoff- bzw. artspezifisch unterschiedlich, erreicht aber immer Größenordnungen von über 80 %.*
- 2. Die weiterführende Abwasserreinigung mit Pulveraktivkohle führt kurz- und mittelfristig (gezeigt für die Kläranlage in Ravensburg) sowie langfristig (gezeigt für die beiden Kläranlagen in Albstadt) zu einer deutlichen Verbesserung des Artenbestandes in den angeschlossenen Gewässern sowie zu einem deutlich besseren Gesundheitszustand der Organismen. Dadurch leistet die 4. Reinigungsstufe einen wesentlichen oder gar entscheidenden Beitrag zur Erreichung der Ziele der WRRL (guter chemischer und ökologischer Zustand).*
- 3. Soll die Ozonierung (mit nachgeschaltetem Schnellsandfilter) in die engere Wahl gezogen werden, ist die Eignung des konkreten Abwassers im Vorfeld zu prüfen. Hierzu liegen Erfahrungen aus der Schweiz vor. Diese belegen, dass die besten Ablaufergebnisse dann erreicht werden, wenn als Filtermaterial granuliert Aktivkohle verwendet wird.*
- 4. Bei der Verfahrensauswahl soll das Abwasser auf relevante Inhaltsstoffe überprüft werden. Insbesondere im Hinblick auf Bromid oder ggf. Stoffe die einer oxidativen Behandlung nicht zugänglich sind wie PFC.*
- 5. Wird der Einsatz von Aktivkohle oder Ozon aufgrund der örtlichen wasserwirtschaftlichen Verhältnisse als gleichwertig angesehen, sind die Randbedingungen auf der Kläranlage (Bestand, Erweiterbarkeit / Flächenbedarf), aber auch die Bewertung der Verfahren und Verfahrenskombinationen hinsichtlich Betriebsstabilität und die aktuellen Kosten für Investition und Betrieb die ausschlaggebenden Faktoren.*
- 6. Ist die Keimreduzierung ein gleichgewichtiges Ziel neben der Reduzierung der Mikroschadstoffe, ist der Einsatz von Ozon ernsthaft zu prüfen.*
- 7. Das jeweils nach der Behandlung erreichte Wirkniveau als qualitative Aufsummierung der durchgeführten Wirktests liegt bei beiden Verfahren deutlich unter dem Ausgangsniveau und erreicht damit nachweislich eine Verbesserung der Gewässersituation. Durch Wirktests wird auch die Wirkung von Stoffen und Abbauprodukten erfasst, die im Einzelfall noch gar nicht analysiert werden können sowie die Wirkung von Schadstoffmischungen. Entscheidend ist hier die Summe der Wirkungen und nicht ggf. abweichende Einzeltestergebnisse. Wirktests im Ablauf der Kläranlagen und im Gewässer sollten neben der bereits praktizierten Analytik in der täglichen Praxis Eingang finden.*
- 8. Beim Ausbau von Kläranlagen zur Spurenstoffelimination ist die Erstellung eines Gesamtkonzeptes für ein Einzugsgebiet hilfreich, um die Relevanz eines Ausbaues einschätzen zu können. Die Relationen der Einwohnergleichwerte können einen ersten Anhalt für die Relevanz geben. Mit dem Ausbau der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg mit ca. 170000 EW als einzige Maßnahme können so z. B. bereits 50 % des Abwassers des gesamten Schusseneinzugsgebiets zusätzlich gereinigt werden.*
- 9. Zukünftig werden die Verbesserung der Verfahren und Verfahrenskombinationen sowie deren Umsetzung in der Breite im Mittelpunkt stehen.*

10. Die Mehrkosten der Spurenstoffelimination liegen bei maximal 10 Euro pro Einwohner und Jahr bei großen Anlagen und bis maximal 20 Euro pro Einwohner und Jahr bei kleineren Anlagen und sind daher aus Sicht der Projektpartner verhältnismäßig und bezahlbar. Näheres zu den Kosten der Spurenstoffelimination findet sich in der aktuellen Veröffentlichung des Umweltbundesamtes UBA-Texte 60/2016. Demnach liegen die Kosten im Mittel bei 5 bis 10 Euro pro Einwohner und Jahr.

### **RÜB mit nachgeschalteten Retentionsbodenfilter (RBF)**

1. Neben der Einleitung aus der Kläranlage sind die Mischwasserentlastungen der zweite bedeutende Eintragspfad für Spurenstoffe in die Gewässer.
2. Der im Projekt untersuchte RBF ist seit über 10 Jahren in Betrieb und reduziert den CSB um ca. 86 % auf Mittelwerte unter 10 mg/L und den SAK<sub>254</sub> um 47 %. Für die Behandlung von entlastetem Mischwasser hat sich der nachgeschaltete Retentionsbodenfilter am Regenüberlaufbecken als genauso effektiv wie eine konventionelle Kläranlage für Schmutzwasser erwiesen.
3. Die beiden, dem RBF vorgeschalteten RÜB sind Fangbecken im Nebenschluss, was die Effektivität des Filters mitbegründet.
4. Kosten und Flächenbedarf von RBF schließen auch in sehr sensiblen Gebieten eine flächendeckende Nachrüstung aus. Deshalb kann nur durch die gesamtschauliche Betrachtung des Systems Kanalnetz, Regenwasserbehandlung und Kläranlage eine effiziente Reinigung erreicht werden.
5. Korrekt ausgelegte RÜB-Systeme müssen nachweislich auch bestimmungsgemäß betrieben werden. Sie können im Einzelfall möglicherweise optimiert werden, wenn in einem ersten Schritt die Entlastungstätigkeit der Becken gemessen wird und die Drosselwassermengen daraufhin – falls erforderlich – angepasst werden.
6. In einem zweiten Schritt könnte u.U. ein RBF an einer wichtigen Entlastungsstelle angeordnet werden, sofern dies örtlich möglich ist und gleichzeitig die Drosselwassermengen der oberhalb liegenden Becken erhöht werden können. Dann wäre mit dem RBF eine deutliche Entlastung des Gewässers erreichbar.

### **5.2.3 Beitrag zum Parlamentarischen Abend am 10. November 2016**

Am 10. November 2016 fand in der Französischen Friedrichstadtkirche Berlin ein Parlamentarischer Abend zum Thema "Unser Trinkwasser - Wie sauber hätten Sie's denn gern? Forschung liefert neue Wege gegen Schadstoffe und Keime" statt. Bei dieser Veranstaltung wurden die Kernaussagen der Fördermaßnahme RiSKWa gegliedert in die Themenfelder „Erkennen“, „Bewerten“, „Handeln“ und „Kommunizieren“ der Politik überbracht. Die Botschaft zum Themenfeld „Bewerten“, die von Prof. Dr. Rita Triebkorn, der Koordinatorin von SchussenAktivplus vorgetragen wurde, war maßgeblich geprägt durch Ergebnisse von SchussenAktivplus. Nachfolgend der Text der Botschaft:

#### **BEWERTEN**

*Meine Damen und Herren, Sie haben gerade gehört, dass wir in der Lage sind, dank sensitiver Messtechniken sehr viele Chemikalien in geringsten Konzentrationen im Wasserkreislauf nachzuweisen.*

*Es stellt sich nun die berechtigte Frage, ob das Auftreten dieser Spurenstoffe von Relevanz ist und, wenn ja, wie man es bewerten kann. Konkret: „Welche Folgen hat es, wenn der Mensch im Falle des Trinkwassers oder Organismen in Flüssen und Seen als Teile des Ökosystems und der Nahrungskette mit diesen Stoffen in Berührung kommen?“*

Für eine Reihe an Einzelstoffen haben wir dazu bereits wissenschaftliche Erkenntnisse, die z. B. zu Grenzwerten geführt haben. Bei einem Cocktail aus vielen Einzelstoffen lässt sich aber nicht einfach durch Aufsummieren ableiten, ob negative Effekte oder Schädigungen bei Organismen auftreten können und hiermit ein erhöhtes Risiko für Mensch und Umwelt verbunden ist.

Um dieses Risiko bewerten zu können, wurden im Rahmen von RiSKWa diagnostische Werkzeuge eingesetzt und optimiert, die mit einem medizinischen Methoden-Repertoire vergleichbar sind, und die es ermöglichen, stofflich verursachte Wirkungen in verschiedenen Kompartimenten des Wasserkreislaufs nachzuweisen.

Mit Hilfe solcher Wirktests sind sowohl generelle Aussagen zum Gesundheitszustand von Organismen als auch spezifischere Aussagen über Zusammenhänge von Ursache und Wirkung möglich. Dabei geht es z. B. um erbgutschädigende oder hormonell wirksame Stoffgruppen als Auslöser bestimmter negativer Effekte, wobei auch Stoffe in die Bewertung eingehen, die analytisch nicht untersucht wurden, wie z. B. Abbauprodukte.

Für den Bereich des Trinkwassers, in dem wir vergleichsweise wenige Spurenstoffe in sehr geringen Konzentrationen finden, werden solche Ursache-Wirkungs-Zusammenhänge mit Hilfe des bereits erwähnten gesundheitlichen Orientierungswerts (GOW) erarbeitet. Tritt ein Stoff im Trinkwasser auf, werden mit diesem etablierte Wirktests durchgeführt, um abzuschätzen, ab welchen Konzentrationen mit einem durch diesen Stoff verursachten Risiko für den Menschen zu rechnen ist. Liegt der Wert im Trinkwasser unter dem Wert, der einen negativen Effekt hervorruft, kann Entwarnung gegeben werden. Liegt der Messwert über dem Orientierungswert, müssen Handlungsschritte folgen. Dieses Bewertungskonzept wurde im Rahmen des RiSKWa-Projekts ToxBBox verfeinert und optimiert.

Im Trinkwasser treten im Vergleich zum Oberflächen- oder Abwasser viel weniger Stoffe und diese in sehr viel geringeren Konzentrationen auf, so dass die Betrachtung von Einzelsubstanzen hier eine relativ hohe Sicherheit bieten kann.

Damit dies auch langfristig so bleibt, sollten im Sinne des Multibarrieren-Konzepts der Trinkwasserversorger Einträge in den Wasserkreislauf an all denjenigen Stellen kontrolliert und minimiert werden, an denen dies möglich ist, beispielsweise im Bereich der Abwasserreinigung. Diese Barriere passieren heutzutage Tausende von Stoffen, die im Wasserkreislauf chemisch-analytisch gemessen werden, und von denen wir Wirkungen vor allem aufgrund ihrer komplexen Interaktionen miteinander nicht ausschließen können.

Sowohl mit Blick auf unser Trinkwasser als auch in der Verantwortung für den nachhaltigen Schutz von Wasserressourcen als Lebensraum haben sich die beiden RiSKWa-Projekte TransRisk und SchussenAktivplus besonders intensiv der Bewertung der Effizienz verschiedener Abwasserreinigungstechnologien für die Reduktion von Spurenstoffen aus dem Wasserkreislauf gewidmet.

In beiden Projekten wurde sehr klar gezeigt, dass eine vierte Reinigungsstufe auf Kläranlagen in allen von uns untersuchten Fällen zu einer deutlichen Reduktion von Spurenstoffen und einer plausibel mit dieser Stoffminderung zusammenhängenden Senkung des Wirkniveaus im gereinigten Abwasser führt.

Im Projekt SchussenAktivplus gingen wir noch einen Schritt weiter und verfolgten modellhaft die Auswirkungen des Ausbaus einer großen Kläranlage mit einer Pulveraktivkohlestufe auf die Schussen, dem größten deutschen Zufluss zum Bodensee.

Stoffeinträge durch die Schussen in den Bodensee sind hierbei nicht nur im Zusammenhang mit der Trinkwassergewinnung von Relevanz. Es geht auch um die Nutzung des Bodensees als Badegewässer, Erholungsgebiet und als Fischgewässer sowie um ein ausgewiesenes Naturschutzgebiet an der Schussenmündung.

Wir konnten in diesem Projekt sehr eindrucksvoll verfolgen, wie sich eine Verbesserung der Qualität des gereinigten Abwassers aufgrund der weiterführenden Abwasserreinigung bereits nach drei Jahren äußerst vorteilhaft auf Stoffkonzentrationen im aufnehmenden Gewässer und damit einhergehend auf den Gesundheitszustand der dort lebenden Gewässerorganismen ausgewirkt hat. Schäden im Erbgut oder an wichtigen Organen, wie der Leber von Fischen wurden drastisch reduziert. Es kam des Weiteren zu einer positiven Entwicklung des Artenbestandes und damit insgesamt gesehen zu einer deutlichen Verbesserung der Gewässersituation. Dies ist auch im Sinne der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie als ökologischer Erfolg einer 4. Reinigungsstufe auf Kläranlagen zu bewerten.

Lassen Sie mich nun den Bogen zum Anfang meines Statements spannen. Wir konnten insgesamt in RiSKWa nachweisen, dass es sich bei den in Spuren im Wasserkreislauf nachweisbaren Chemikalien

*nicht um ein akademisches oder ästhetisches Problem handelt, sondern dass sich diese Stoffe negativ auf die Gesundheit von Mensch und Umwelt auswirken können, wenn kritische Konzentrationen überschritten werden.*

*Mit der in RiSKWa entwickelten und optimierten Palette an Wirktests kann somit das Risiko, das von Spurenstoffen ausgeht, besser und genauer bewertet werden. Es konnte klar gezeigt werden, dass eine verbesserte Abwasserreinigung und Mischwasserbehandlung zu einer deutlichen Risikominderung im Zusammenhang mit dem Eintrag von Spurenstoffen in den Wasserkreislauf führt. Es steht uns somit eine fundierte und belastbare Bewertungsbasis für ein wirkungsvolles Handeln bereit.*

*Für die Zukunft ist auf dieser Basis dringend geboten, dass die erarbeiteten Bewertungsverfahren für Schadwirkungen im Sinne eines vorsorgenden Gesundheits- und Umweltschutzes auch in Gesetzen, Verordnungen und Richtlinien verankert werden, und dass sie bei der Ableitung von Grenzwerten Eingang finden.*

### **5.3 Methodische Empfehlungen aus SchussenAktivplus für die Bewertung zusätzlicher Reinigungsstufen auf Kläranlagen und Regenüberlaufbecken**

*Triebskorn (Universität Tübingen), Gallert (KIT, Hochschule Emden/Leer), Lüddeke (LUBW, Institut für Seenforschung, Langenargen), Oehlmann, Giebner (Universität Frankfurt), Scheurer, Sacher (TZW Karlsruhe)*

#### **Spurenstoffe**

Zur Charakterisierung der Effizienz weitergehender Reinigungstechnologien für Abwasser und Mischwasser wird die Analyse der folgenden Stoffpalette empfohlen:

Diclofenac, Carbamazepin, Metoprolol, Ibuprofen, Sulfamethoxazol, 1H-Benzotriazol.

Hierbei wurden neben den Erfahrungen aus SchussenAktivplus auch Empfehlungen des RiSKWa Querschnittsthemas „Indikatorsubstanzen“ (Jekel und Dott 2013) sowie Empfehlungen des Baden-Württembergischen Kompetenzzentrums Spurenstoffe (KomS) berücksichtigt.

Darüber hinaus kann der spektrale Absorptionskoeffizient bei einer Wellenlänge von 254 nm (SAK<sub>254</sub>) als einfach zu bestimmender Surrogatparameter für die Überwachung der Spurenstoffelimination beim Einsatz von Aktivkohle herangezogen werden.

#### **Keime**

Bislang erfolgt eine mikrobiologisch-hygienische Charakterisierung von Oberflächenwasser an offiziellen Badestellen durch Ermittlung der Konzentration von Indikatorkeimen (*E. coli* und Enterokokken), für die EU-weit geltende Grenzwerte festgelegt worden sind. Für eingeleitetes Abwasser sollten analog dazu Grenzwerte etabliert werden und das Indikatorkonzept auf weitere fakultativ-pathogene Mikroorganismen, wie Viren und Parasiten



ausgeweitet werden. Im Bereich von Badestellen sollten Abwassereinleitungen nicht erfolgen.

Um das Resistenzniveau zu beschreiben bzw. die Reduktion der Ausbreitung von klinisch-relevanten, Antibiotika-resistenten Bakterien und deren Resistenzgenen zu kontrollieren, müssen kulturbasierte und molekulargenetische Nachweisverfahren für den Umweltbereich etabliert und standardisiert werden. Eine Verlinkung zu klinischen Daten ist dabei unumgänglich.

## **Wirkungen**

Um das Risiko, das von Spurenstoffen ausgeht, bewerten zu können, ist es essentiell, wirkungsorientierte Tests durchzuführen. Je nach Fragestellung und Situation vor Ort stehen hierfür sowohl laborbasierte Methoden (Biotests zum Nachweis von Wirkpotentialen in Umweltproben) als auch Biomarkerstudien an lebenden Organismen zur Verfügung. Durch diese können sowohl Ursachen für negative Effekte nachgewiesen als eine Beeinflussung der Vitalität von Organismen gezeigt werden.

Eine ausführliche Beschreibung der Einsatzbereiche von Wirtstests in Toxikologie und Ökotoxikologie ist im RiSKWa-Statuspapier „Ergebnisse des Querschnittsthemas (Öko)Toxikologie“ (Grummt et al. 2017) enthalten. Weitergehende methodische Aspekte zum standardisierten Einsatz von Biomarkern im Gewässermonitoring sind im VDI 4230 Blatt 5:2017-04 zusammengestellt.

In Tab. 34 ist die in SchussenAktiv*plus* erfolgreich eingesetzte Methodenpalette zum Nachweis von Wirkungen dargestellt.

Der Ames-Test eignete sich insbesondere für die Erfassung von mutagenen Potentialen in Abwasserproben nach Ozonbehandlung. Hierbei wurde jedoch ausschließlich eine erhöhte Mutagenität mit dem gentechnisch veränderten Stamm YG7108 festgestellt, der sehr sensitiv auf Alkylanzien und Nitrosamine reagiert, wie sie typischerweise durch die Ozonbehandlung entstehen. Aus diesem Grund wird insbesondere dieser Stamm für die Untersuchung von Abwasserproben empfohlen.

Endokrine Wirkpotentiale konnten durch die Hefe-basierten Reporterassays YES, YAS und YAES sowohl in Abwasser- als auch in Freilandproben nachgewiesen werden. Die Assays YAAS und YDS lieferten im Projekt keine Positivbefunde. In anderen Projekten, z. B. dem laufenden BMBF-Projekt NiddaMan als Teil des Förderschwerpunkts ReWaM, konnten jedoch anti-androgene und Dioxin-ähnliche Wirkpotentiale in Abwasserproben nachgewiesen werden, weshalb die Testung aller Hefe-basierten Reporterassays sinnvoll ist. Empfohlen wird hierbei die parallele Untersuchung von nativen und aufkonzentrierten Proben.

Tab. 34: Methodenpalette

<b>Art der Wirktests</b>	<b>Wirkendpunkt</b>	<b>Empfohlener Test</b>
<b><i>In vitro-Biotests</i></b>	Genotoxizität	Umu-c, Ames-test
	Dioxinähnliche Toxizität	AhR-CAFLUX; YDS
	Östrogenität	E-Screen (Brustkrebszellen), YES (Hefe) und andere Reporter-genassays (z. B. HeLa9903)
	Androgenität	YAS
	Anti-Östrogenität	YAES
	Anti-Androgenität	YAAS
<b><i>In vivo-Biotests</i></b>	Reproduktion, Entwicklung	Fischembryotest mit dem Zebra-bärbling ( <i>Danio rerio</i> ); Entwicklungstest mit dem Glanzwurm ( <i>Lumbriculus variegatus</i> ) Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke ( <i>Potamopyrgus antipodarum</i> )
	Phytotoxizität	Wachstumstest mit der Wasserlinse ( <i>Lemna minor</i> )
<b><i>Wirkungen bei Fischen</i></b>	Genotoxizität	Mikrokern-test an roten Blutzellen
	Dioxinähnliche Toxizität, Entgiftung	Bestimmung von Cyp1A1 (EROD-Assay) in der Leber
	Gewebetoxizität	Histologie von Leber, Kieme und Niere
	Proteotoxizität	Stressprotein-Nachweise (Hsp70) in Leber, Kieme und Niere
	Neurotoxizität	Bestimmung der Acetylcholinesterase-Aktivität im Gehirn
	(Anti-)Östrogenität	Nachweis von Vitellogenin im Blut; Histologie der Gonaden Gonadosomatischer Index
	Entwicklung	Embryotests mit Forellen
<b><i>Wirkungen bei Flohkrebse</i></b>	Proteotoxizität	Stressprotein-Nachweise (Hsp70) im gesamten Organismus
	Gewebetoxizität	Histologie des gesamten Organismus

	(Anti-)Östrogenität	Geschlechterverhältnis, Fertilität
<b>Untersuchungen im Ökosystem</b>	Artenbestand, Gewässergüte	Sensitive Taxa, EPT-Taxa, Saprobienindex

Bei den *In vivo*-Tests wird insbesondere der Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* empfohlen, da dieser sowohl in Abwasser- als auch in Freilandproben signifikante Ergebnisse lieferte. Dagegen erscheint der Wachstumsinhibitionstest mit der Wasserlinse *Lemna minor* für die Untersuchung von Freilandproben (Wasser-Sediment-Gemische) wenig geeignet, da die Pflanze auf der Wasseroberfläche schwimmt. Sie kommt damit nicht mit dem Sediment in Kontakt und ist damit nur sehr eingeschränkt gegenüber den Schadstoffen in der Umweltprobe exponiert. Der Glanzwurm *Lumbriculus variegatus* erscheint zwar als Sedimentbewohner besser geeignet für die Untersuchung von Freilandproben, jedoch konnten im Projekt keine entwicklungstoxischen Wirkpotentiale mit diesem Organismus nachgewiesen werden. Aufgrund der eher geringen Sensitivität kann der Wachstums- und Fortpflanzungstest mit dem Glanzwurm nur für stark belastete Sedimente sowie für die Toxizitätserfassung von Transformationsprodukten, wie sie typischerweise bei der Ozonung von kommunalem Abwasser entstehen, empfohlen werden.

Die Verbesserungen des Gesundheitszustandes von Fischen in der Schussen in Reaktion auf den Ausbau der Kläranlage bei Ravensburg wurde am deutlichsten durch histologische Befunde an Leber, Kiemen und Nieren, durch den Nachweis der Entgiftungsaktivität in der Leber sowie durch den Mikrokerntest an Blutzellen, der gentoxische Effekte indiziert, dokumentiert. Alle übrigen untersuchten Biomarker zeigten an, dass die jeweiligen Effekte bereits vor Ausbau der Anlage nur gering bis moderat ausgeprägt waren. So konnte beispielsweise auch gezeigt werden, dass im untersuchten Gewässer hormonelle Wirkungen bei Fischen von untergeordneter Bedeutung sind.

Sehr deutlich wurden Auswirkungen des Kläranlagenausbaus bei wirbellosen Tieren gezeigt. Hierbei eigneten sich Untersuchungen von Stressproteinen, zur Fertilität und zum Geschlechterverhältnis bei Flohkrebsebenso wie die Erhebung von verschiedenen Güteindices zur Beurteilung der Integrität von Biozönosen.

## 6 LITERATUR

- Abegglen C, Escher B, Hollender J, Koepke S, Ort C, Peter A, Siegrist H, von Gunten U, Zimmermann S, Koch M (2009): Ozonation of treated effluent - final report pilot plant Regensdorf, *Swiss Federal Office for the Environment*.
- AbwAG (2014): Abwasserabgabengesetz. Ausfertigungsdatum: 13.09.1976, zuletzt geändert durch Art. 2 V v. 2.9.2014 I 1474.
- Ahmed MK, Habibullah-AI-Mamun M, Parvin E, Akter MS, Khan MS (2013): Arsenic induced toxicity and histopathological changes in gill and liver tissue of freshwater fish, tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Experimental and Toxicologic Pathology* 65 [6], 903-909.
- Akiyama T, Savin MC (2010): Populations of antibiotic-resistant coliform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream. *Science of The Total Environment* 408 [24], 6192-6201.
- Altmann J, Ruhl AS, Zietzschmann F, Jekel M (2014): Direct comparison of ozonation and adsorption onto powdered activated carbon for micropollutant removal in advanced wastewater treatment. *Water Research* 55 [0], 185-193.
- Alvares ABC, Diaper C, Parsons SA (2001): Partial oxidation by ozone to remove recalcitrance from wastewaters - a review. *Environmental Technology* 22 [4], 409-427.
- An L, Hu J, Yang M (2008): Evaluation of estrogenicity of sewage effluent and reclaimed water using vitellogenin as a biomarker. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 [1], 154-158.
- Anker J (2015): Rückstände von Medikamenten im Trinkwasser. Berliner Morgenpost 03.09.2015.
- Arle J, Blondzik K, Claussen U, Duffek A, Grimm S, Hilliges F, Hoffmann A, Leujak W, Mohaupt V, Naumann S, Pirntke U, Richter S, Schilling P, Schroeter-Kermani C, Ullrich CA, Wellnitz J, Werner S, Wolter R (2013): Wasserwirtschaft in Deutschland, Teil 2 Gewässergüte, Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (UBA).
- ARW (2014): Jahresbericht 2013, ISSN 0343 - 0391.
- Auerbach B, Güde H, Miller G, Wurm K, Vogel HJ (2008): Schussenprogramm – Erfolgskontrolle und Maßnahmenoptimierung. Abschlussbericht zum Untersuchungsvorhaben des UM Baden-Württemberg. Download unter: <http://www.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/11158/>.
- Bannister R, Beresford N, May D, Routledge EJ, Jobling S, Rand-Weaver M (2007): Novel estrogen receptor-related transcripts in *Marisa cornuarietis*, a freshwater snail with reported sensitivity to estrogenic chemicals, *Environmental Science & Technology* 41 [7], 2643-2650.
- Barišić J, Dragun Z, Ramani S, Marijić VF, Krasnići N, Čož-Rakovac R, Kostov V, Rebok K, Jordanova M (2015): Evaluation of histopathological alterations in the gills of Vardar chub (*Squalius vardarensis* Karaman) as an indicator of river pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 118, 158-166.
- Becker AM, Gerstmann S, Frank H (2009): Perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in two fish species collected from the Roter Main River, Bayreuth, Germany. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 84 [1], 132.
- Bila D, Montalvao AF, Azevedo DA, Dezotti M (2007): Estrogenic activity removal of 17 $\beta$ -estradiol by ozonation and identification of by-products. *Chemosphere* 69 [5], 736-746.

- Binelli A, Ricciardi F, Riva C, Provini A (2005): Screening of POP pollution by AChE and EROD activities in Zebra mussels from the Italian Great Lakes. *Chemosphere* 61 [8], 1074-1082.
- Binelli A, Cogni D, Parolini M, Riva C, Provini A (2009): In vivo experiments for the evaluation of genotoxic and cytotoxic effects of Triclosan in Zebra mussel hemocytes. *Aquatic Toxicology* 91 [3], 238-244.
- Bjerregaard LB, Madsen AH, Korsgaard B, Bjerregaard P (2006): Gonad histology and vitellogenin concentrations in brown trout (*Salmo trutta*) from Danish streams impacted by sewage effluent. *Ecotoxicology* 15 [3], 315-327.
- Bjerregaard P, Hansen PR, Larsen KJ, Erratico C, Korsgaard B, Holbech H (2008): Vitellogenin as a biomarker for estrogenic effects in brown trout, *Salmo trutta*: laboratory and field investigations. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 [11], 2387-2396.
- Boehler M, Zwickenspflug B, Hollender J, Ternes T, Joss A, Siegrist H (2012): Removal of micropollutants in municipal wastewater treatment plants by powder-activated carbon. *Water Science and Technology* 66 [10], 2115-2121.
- Bolognesi C, Hayashi M (2011): Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis* 26 [1], 205-213.
- Bradford MM (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 [1-2], 248-254.
- Brinkmann M, Hudjetz S, Keiter S, Seiler T-B, Wölz J, Hallare AV, Hollert H, Cofalla C, Roger S, Schüttrumpf H, Gerbersdorf SU (2010): Toxicity and risk assessment of fluvial sediments and suspended matter: a short overview of past and recent developments in sediment toxicity assessment. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* 22 [6], 651-655.
- Brodin T, Fick J, Jonsson M, Klaminder J (2013): Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations, *Science* 339 [6121], 814-815.
- Brombach H, Weiss G, Fuchs S (2005): A new database on urban runoff pollution: comparison of separate and combined sewer systems. *Water Science and Technology* 51 [2], 119-128.
- Brozinski J-M, Lahti M, Meierjohann A, Oikari A, Kronberg L (2013): The anti-inflammatory drugs diclofenac, naproxen and ibuprofen are found in the bile of wild fish caught downstream of a wastewater treatment plant. *Environmental Science & Technology* 47 [1], 342-348.
- Bucher F, Hofer R (1993): The effects of treated domestic sewage on three organs (gills, kidney, liver) of brown trout (*Salmo trutta*). *Water Research* 27 [2], 255-261.
- Buerge IJ, Buser H-R, Kahle M, Müller MD, Poiger T (2009): Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment: an ideal chemical marker of domestic wastewater in groundwater. *Environmental Science & Technology* 43 [12], 4381-4385.
- Burki R, Vermeirssen ELM, Körner O, Joris C, Burkhardt-Holm P, Segner H (2006): Assessment of estrogenic exposure in brown trout (*Salmo trutta*) in a Swiss midland river: integrated analysis of passive samplers, wild and caged fish, and vitellogenin mRNA and protein. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 [8], 2077-2086.
- Burton GA, Gunnison D, Lanza GR (1987): Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 53 [4], 633-638.
- Byappanahalli MN, Nevers MB, Korajkic A, Staley ZR, Harwood VJ (2012): Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 76 [4], 685-706.

- Calmano W (Ed.) (2001): Untersuchung und Bewertung von Sedimenten. Chemisch/biologische zur Abschätzung des Umweltverhaltens. With assistance of W. Calmano, G. Gräbe, M. Hupfer, D. Kleeberg, D. Müller. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Carlsson G, Patring J, Kreuger J, Norrgren L, Oskarsson A (2013): Toxicity of 15 veterinary pharmaceuticals in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Aquatic Toxicology* 126, 30-41.
- Chanda SM, Mortensen SR, Moser VC, Padilla S (1997): Tissue-specific effects of chlorpyrifos on carboxylesterase and cholinesterase activity in adult rats: an *in vitro* and *in vivo* comparison. *Toxicological Sciences* 38 [2], 148-157.
- Chen H, Zha J, Liang X, Li J, Wang Z (2014): Effects of the human antiepileptic drug carbamazepine on the behavior, biomarkers, and heat shock proteins in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology* 155, 1-8.
- Cirillo T, Fasano E, Esposito F, Amorena M, Amodio Cocchieri R (2013): Occurrence of NDL-PCBs, DL-PCBs, PCDD/Fs, lead and cadmium in feed and in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in Italy. *Food Additives & Contaminants: Part A* 31 [2], 276-287.
- Contardo-Jara V, Lorenz C, Pflugmacher S, Nützmann G, Kloas W, Wiegand C (2011): Exposure to human pharmaceuticals carbamazepine, ibuprofen and bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology* 105 [3], 428-437.
- Copeland PA, Sumpter JP, Walker TK, Croft M (1986): Vitellogenin levels in male and female rainbow trout (*Salmo gairdneri richardson*) at various stages of the reproductive cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 83 [2], 487-493.
- Czekalski N, Berthold T, Caucci S, Egli A, Bürgmann H (2012): Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into Lake Geneva, Switzerland. *Frontiers in Microbiology* 3 [article 106], 18 pp.
- Davies CM, Long JA, Donald M, Ashbolt NJ (1995): Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 61 [5], 1888-1896.
- Davies CM, Bavor HJ (2000): The fate of stormwater-associated bacteria in constructed wetland and water pollution control pond systems. *Journal of Applied Microbiology* 89 [2], 349-360.
- Depardieu F, Perichon B, Courvalin P (2004): Detection of the van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 42 [12], 5857-5860.
- DIN (2011): Deutsche Industrie Norm (DIN) 58940 (2011). Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN (2015): Elution von Feststoffen – Schüttelverfahren zur Untersuchung des Elutionsverhaltens von anorganischen und organischen Stoffen mit einem Wasser/FeststoffVerhältnis von 2 l/kg, DIN 19529.
- Duffy LK, Scofield E, Rodgers T, Patton M, Bowyer RT (1999): Comparative baseline levels of mercury, Hsp 70 and Hsp 60 in subsistence fish from the Yukon-Kuskokwim delta region of Alaska. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 124 [2], 181-186.
- Duft M, Schulte-Oehlmann U, Weltje L, Tillmann M, Oehlmann J (2003): Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Aquatic Toxicology* 64 [4], 437-449.

- Durieux EDH, Farver TB, Fitzgerald PS, Eder KJ, Ostrach DJ (2011): Natural factors to consider when using acetylcholinesterase activity as neurotoxicity biomarker in Young-Of-Year striped bass (*Morone saxatilis*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37 [1], 21-29.
- Eder KJ, Köhler H-R, Werner I (2007): Pesticide and pathogen: heat shock protein expression and acetylcholinesterase inhibition in juvenile Chinook salmon in response to multiple stressors. *Environmental Toxicology and Chemistry / SETAC* 26 [6], 1233-1242.
- Ehlers MM, Veldsman C, Makgotlho EP, Dove MG, Hoosen AA, Kock MM (2009): Detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M antibiotic resistance genes in randomly selected bacterial pathogens from the Steve Biko Academic Hospital. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 56 [3], 191-196.
- Ellman L, Courtney MD, Andreas VJr, Featherstone RM (1961): A new rapid colorimetric determination of cholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7, 88-95.
- EU (2006): Richtlinie 2006/122/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. Dezember 2006 zur dreißigsten Änderung der Richtlinie 76/769/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedstaaten für Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen (Perfluorooctansulfonate). 2006/122/EG. Amtsblatt der Europäischen Union, L 372/32, zuletzt geprüft 14.10.2015.
- Evans DH (1987): The fish gill: site of action and model for toxic effects of environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives* 71, 47-58.
- Exner M, Schwartz T (2015): RiSKWa-Statuspapier: Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen – Ergebnisse des Querschnittsthemas “Bewertungskonzepte der Mikrobiologie”. DECHEMA, Frankfurt/Main.
- Faria C, Vaz-Moreira I, Serapicos E, Nunes OC, Manaia CM (2009): Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water. *Science of The Total Environment* 407 [12], 3876-3882.
- Feito R, Valcárcel Y, Catalá M (2012): Biomarker assessment of toxicity with miniaturised bioassays: diclofenac as a case study. *Ecotoxicology* 21 [1], 289-296.
- Feßler A, Scott C, Kadlec K, Ehrlich R, Monecke S, Schwarz S (2010): Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65 [4], 619-625.
- Flammarion P., Noury P, Garric J (2002): The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leuciscus cephalus*): the fish length should not be ignored. *Environmental Pollution* 120 [2], 325-330.
- Fonseca AR, Sanches Fernandes LF, Fontainhas-Fernandes A, Monteiro SM, Pacheco FAL (2016): From catchment to fish: Impact of anthropogenic pressures on gill histopathology. *Science of The Total Environment* 550, 972-986.
- Foppen JW, Lutterodt G, Röling WFM, Uhlenbrook S (2010): Towards understanding inter-strain attachment variations of *Escherichia coli* during transport in saturated quartz sand. *Water Research* 44 [4], 1202-1212.
- Frechen F-B, Schier W, Felmeden J (2006): The plant-covered retention soil filter (RSF): The mechanical and biological combined sewer overflow (CSO) treatment plant. *Engineering in Life Sciences* 6 [1], 74-79.
- Galluba S, Oehlmann J (2012): Widespread endocrine activity in river sediments in Hesse, Germany, assessed by a combination of *in vitro* and *in vivo* bioassays. *Journal of Soils and Sediments* 12 [2], 252-264.

- Galus M, Kirischian N, Higgins S, Purdy J, Chow J, Rangaranjan S, Li H, Metcalfe C, Wilson JY (2013): Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. *Aquatic toxicology* 132, 200-211.
- Garrison PM, Tullis K, Aarts JMMJG, Brouwer A, Giesy JP, Denison MS (1996): Species-specific recombinant cell lines as bioassay systems for the detection of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-like chemicals. *Toxicological Sciences* 30 [2], 194-203.
- Gehr R, Wagner M, Veerasubramanian P, Payment P (2003): Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater. *Water Research* 37 [19], 4573-4586.
- George I, Crop P, Servais P (2002): Fecal coliform removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. *Water Research* 36 [10], 2607-2617.
- George SG, Young P (1986): The time course of effects of cadmium and 3-methylcholanthrene on activities of enzymes of xenobiotic metabolism and metallothionein levels in the plaice, *Pleuronectes platessa*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 83 [1], 37-44.
- Gerbersdorf SU, Westrich B, Paterson DM (2009): Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS) in Fresh Water Sediments. *Microbial Ecology* 58 [2], 334-349.
- Gernhöfer M, Pawert M, Schramm M, Müller E, Triebkorn R (2001): Ultrastructural biomarkers as tools to characterize the health status of fish in contaminated streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 8 [3-4], 241-260.
- Giari L, Guerranti C, Perra G, Lanzoni M, Fano EA, Castaldelli G (2015): Occurrence of perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoic acid and histopathology in eels from north Italian waters. *Chemosphere* 118, 117-123.
- Gimeno S, Gerritsen A, Bowmer T, Komen H (1996): Feminization of male carp, *Nature (London)* 384, 221-222.
- Goksøyr A, Bjørnevik M, Maage A (1994): Effects of Dietary Iron Concentrations on the Cytochrome P450 System of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51 [2], 315-320.
- Griffitt RJ, Weil R, Hyndman KA., Denslow ND., Powers K, Taylor D, Barber DS (2007): Exposure to Copper Nanoparticles Causes Gill Injury and Acute Lethality in Zebrafish (*Danio rerio*), *Environmental Science & Technology* 41 [23], 8178-8186.
- Grummt T, Triebkorn R, Oehlmann J, Braunbeck T, Happel O (2017): RiSKWa-Statuspapier „Ergebnisse des Querschnittsthemas (Öko)Toxikologie“. Im Druck.
- Güde H (2010): Die Schussen: Bilanz der Belastung eines Bodenseezuflusses, Entwicklung, gegenwärtiger Zustand und Zukunftsperspektiven für die Schussen aus wasserwirtschaftlicher Sicht. LUBW, 2010. Download unter: [www.lubw.baden-wuerttemberg.de](http://www.lubw.baden-wuerttemberg.de).
- Guiloski IC, Ribas JLC, da Silva Pereira L, Perbiche Neves AP, Silva de Assis HC (2015): Effects of trophic exposure to dexamethasone and diclofenac in freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 114, 204-211.
- Gust M, Gagné F, Berlioz-Barbier A, Besse JP, Buronfosse T, Tournier M, Tutundjian R, Garric J, Cren-Olivé C (2014): Caged mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) as an integrated field biomonitoring tool: Exposure assessment and reprotoxic effects of water column contamination. *Water Research* 54, 222-236.
- Gust M, Buronfosse T, Geffard O, Mons R, Queau H, Mouthon J, Garric J (2010): In situ biomonitoring of freshwater quality using the New Zealand mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) exposed to waste water treatment plant (WWTP) effluent discharges. *Water Research* 44 [15], 4517-4528.



- Haap T, Triebkorn R, Köhler H-R (2008): Acute effects of diclofenac and DMSO to *Daphnia magna*: immobilisation and hsp70-induction. *Chemosphere* 73 [3], S. 353-359.
- Hansen PD, Dizer H, Hock B, Marx A, Sherry J, McMaster M, Blaise C (1998): Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors. *Trends in Analytical Chemistry* 17 [7], 448-451.
- Hellmann H (2003): Neuzzeitlicher Schadstofftrend: Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in aquatischen und terrestrischen Sedimenten. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* 31 [2], 85-96.
- Herbold K, Flehmig B, Botzenhart K (1989): Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms. *Applied and Environmental Microbiology* 55 [11], 2949-2953.
- Heß S, Gallert C (2015a): Sensitivity of antibiotic resistant and antibiotic susceptible *Escherichia coli*, *Enterococcus* and *Staphylococcus* strains against ozone. *Journal of Water and Health* 13 [4], 1020-1028.
- Heß S, Gallert C (2015b): *Staphylococcus argensis* sp. nov., a novel staphylococcal species isolated from an aquatic environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 65 [8], 661-2665.
- Higgins CP, Field JA, Criddle CS, Luthy RG (2005): Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge. *Environmental Science & Technology* 39 [11], 3946-3956.
- Hijnen WAM, Van Veenendaal DA, van der Speld WMH, Visser A, Hoogenboezem W, van der Kooij D (2000): Enumeration of faecal indicator bacteria in large water volumes using on site membrane filtration to assess water treatment efficiency. *Water Research* 34 [5], S. 1659-1665.
- Hilscherova K, Kannan K, Holoubek I, Giesy JP (2002): Characterization of estrogenic activity of riverine sediments from the Czech Republic. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43 [2], 175-185.
- HLUG (2009): Orientierende Messungen gefährlicher Stoffe - Landesweite Untersuchungen auf organische Spurenverunreinigungen in hessischen Fließgewässern, Abwässern und Klärschlämmen, Zusammenfassender Abschlussbericht 1991-2003. Autorenkollektiv: Leisewitz A, Fengler S, Seel P. Available online at <http://www.hlug.de/?id=7638>, checked on 10/14/2015.
- Hoeger B, Köllner B, Dietrich DR, Hitzfeld B (2005): Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta* f. *fario*). *Aquatic Toxicology* 75 [1], 53-64.
- Hollender J, Zimmermann SG, Koepke S, Krauss M, McArdell CS, Ort C, Singer H, Von Gunten U, Siegrist H (2009): Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation followed by sand filtration. *Environmental Science & Technology* 43, 7862-7869.
- Hollert H, Keiter S, König N, Rudolf M, Ulrich M, Braunbeck T (2003): A new sediment contact assay to assess particle-bound pollutants using zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Journal of Soils and Sediments* 3 [3], 197-207.
- Huber MM, Ternes TA, Von Gunten U (2004): Removal of estrogenic activity and formation of oxidation products during ozonation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol. *Environmental Science & Technology* 38 [19], 5177-5186.
- IKSR (2009a): International koordinierter Bewirtschaftungsplan für die internationale Flussgebietseinheit Rhein.
- IKSR (2009b): Sedimentmanagementplan Rhein, Bericht Nr. 175.

- Incardona JP, Collier TK, Scholz NL (2004): Defects in cardiac function precede morphological abnormalities in fish embryos exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicology and Applied Pharmacology* 196 [2], 191-205.
- Jekel M, Guichun Y, Xuan Z, Klöpfer A, Schumacher J, Xuzhou C, Yunzheng P (2006): Weitergehende Entfernung organischer Stoffe aus kommunalen Abwässern und deren Eignung zur Grundwasseranreicherung. Abschlussbericht zum BMBF-Forschungsvorhaben: 02WA 0123.
- Jekel M., Dott W. (2013): RiSKWa-Leitfaden: Polare organische Spurenstoffe als Indikatoren im anthropogenbeeinflussten Wasserkreislauf. Ergebnisse des Querschnittsthemas „Indikatorsubstanzen“.
- Jekel M, Ruhl AS (Hrsg.) (2016): Anthropogene Spurenstoffe und Krankheitserreger im urbanen Wasserkreislauf: Bewertung, Barrieren und Risikokommunikation (ASKURIS). Universitätsverlag der TU Berlin. ISBN 978-3-7983-2814-3 Universitätsverlag der TU Berlin, 3798328153
- Jelic A, Gros M, Ginebreda A, Cespedes-Sánchez R, Ventura F, Petrovic M, Barcelo D (2011): Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Research* 45 [3], 1165-1176.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, Baunbeck T, Turner AP, Tyler CR (2004): Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology* 66 [2], 207-222.
- Johnsen K, Tana J, Lehtinen K-J, Stuthridge T, Mattsson K, Hemming J, Carlberg GE (1998): Experimental field exposure of brown trout to river water receiving effluent from an integrated newsprint mill. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 40 [3], 184-193.
- Ke D, Picard FJ, Martineau F, Ménard C, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG (1999): Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology* 37 [11], 3497-3503.
- Kirk LA, Tyler CR, Lye CM, Sumpter JP (2002): Changes in estrogenic and androgenic activities at different stages of treatment in wastewater treatment works. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21 [5], 972-979.
- Kistemann T, Rind E, Rechenburg A, Koch C, Claßen T, Herbst S, Wienand I, Exner M (2008): A comparison of efficiencies of microbiological pollution removal in six sewage treatment plants with different treatment systems. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 211 [5-6], 534-545.
- Köhler H-R, Bartussek C, Eckwert H, Farian K, Gränzer S, Knigge T, Kunz N (2001): The hepatic stress protein (hsp70) response to interacting abiotic parameters in fish exposed to various levels of pollution. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 8 [3-4], 261-279.
- Köhler H-R, Sandu C, Scheil V, Nagy-Petrică EM, Segner H, Telcean I, Stan G, Tribskorn Rita (2007): Monitoring pollution in River Mureş, Romania, part III: Biochemical effect markers in fish and integrative reflection. *Environmental Monitoring and Assessment* 127 [1-3], 47-54.
- Koike S, Aminov RI, Yannarell AC, Gans HD, Krapac IG, Chee-Sanford JC, Mackie RI (2010): Molecular ecology of macrolide–lincosamide–Streptogramin B methylases in waste lagoons and subsurface waters associated with swine production. *Microbial Ecology* 59 [3], 487-498.
- Kovalova L, Siegrist H, von Gunten U, Eugster J, Hagenbuch M, Wittmer A, Moser R, Mc Ardell, CS (2013): Elimination of micropollutants during post-treatment of hospital

- wastewater with powdered activated carbon, ozone, and UV. *Environmental Science & Technology* 47 [14], 7899-7908.
- Kumar A, Kesari VP, Khan PK (2013): Fish micronucleus assay to assess genotoxic potential of arsenic at its guideline exposure in aquatic environment. *BioMetals* 26 [2], 337-346.
- LABO (2002): Bund-/Länderarbeitsgemeinschaft Bodenschutz (LABO) - Altlastenausschuss (ALA) Unterausschuss „Arbeitshilfe für Qualitätsfragen bei der Altlastenbearbeitung“.
- Ladewig V, Jungmann D, Köhler H-R, Schirling M, Triebkorn R, Nagel R (2006): Population structure and dynamics of *Gammarus fossarum* (Amphipoda) upstream and downstream from effluents of sewage treatment plants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50 [3], 370-383.
- Langeveld JG, Liefing HJ, Boogaard FC (2012): Uncertainties of stormwater characteristics and removal rates of stormwater treatment facilities: Implications for stormwater handling. *Water Research* 46 [20], 6868-6880.
- Laville N, Ait-Aissa S, Gomez E, Casellas C, Porcher JM (2004): Effects of human pharmaceuticals on cytotoxicity, EROD activity and ROS production in fish hepatocytes. *Toxicology* 196 [1-2], 41-55.
- LAWA (2003): Umweltbundesamt (Hrsg.) 2003: Leitbildorientierte physikalisch-chemische Gewässerbewertung. Referenzbedingungen und Qualitätsziele. Umweltforschungsplan des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit. Forschungsbericht 20024226, UBA-FB 000322.
- Letzel M, Metzner G, Letzel T (2009): Exposure assessment of the pharmaceutical diclofenac based on long-term measurements of the aquatic input. *Environment International* 35 [2], 63-68.
- Leusch FDL, Khan SJ, Gagnon MM, Quayle P, Trinh T, Coleman H, Rawson C, Chapman HF, Blair P, Nice H, Reitsem T (2014): Assessment of wastewater and recycled water quality: A comparison of lines of evidence from *in vitro*, *in vivo* and chemical analyses. *Water Research* 50, 420-431.
- LfU (2002): Landesanstalt für Umweltschutz, Baden-Württemberg (LfU), Bodenfilter zur Regenwasserbehandlung im Misch- und Trennsystem, Stand 2002.
- Lim SO, Park SG, Yoo J-H, Park YM, Kim H-J, Jang K-T, Cho JW, Yoo BC, Jung G-H, Park CK (2005): Expression of heat shock proteins (HSP27, HSP60, HSP70, HSP90, GRP78, GRP94) in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules. *World Journal of Gastroenterology: WJG* 11 [14], 2072-2079.
- Liu J, Lu G, Xie Z, Zhang Z, Li S, Yan Z (2015): Occurrence, bioaccumulation and risk assessment of lipophilic pharmaceutically active compounds in the downstream rivers of sewage treatment plants. *Science of The Total Environment* 511, 54-62.
- Liu Z, Kanjo Y, Mizutani S (2009): Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment — physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. *Science of The Total Environment* 407 [2], 731-748.
- LUBW (2010): Die Schussen - Bilanz der Belastung eines Bodenseezuflusses.
- LUBW (2014): Abflusswerte der LUBW-Messstelle 0002376-W:Ravensburg/Schussen, Daten von Dr. Lüddeke und [http://www2.lubw.baden-wuerttemberg.de/cgi-bin/hvz/peg\\_info.pl?id=0217](http://www2.lubw.baden-wuerttemberg.de/cgi-bin/hvz/peg_info.pl?id=0217), Zugriff 24.02.2015.
- Luckenbach T, Kilian M, Triebkorn R, Oberemm A (2001a): Fish early life stage tests as a tool to assess embryotoxic potentials in small streams. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 8 [3], 355-370.

- Luckenbach T, Triebkorn R, Müller E, Oberemm A (2001b): Toxicity of waters from two streams to early life stages of brown trout (*Salmo trutta* f. *fario* L.), tested under semi-field conditions. *Chemosphere* 45 [4–5], 571-579.
- Lüddecke F, Heß S, Gallert C, Winter J, Güde H, Löffler H (2015): Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water Research* 69, 243-251.
- Luross JM, Alae M, Sergeant DB, Cannon CM, Whittle DM, Solomon KR, Muir DCG (2002): Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in lake trout from the Laurentian Great Lakes. *Chemosphere* 46 [5], 665-672.
- Magdeburg A, Stalter D, Schlüsener M, Ternes T, Oehlmann J (2014): Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story. *Water Research* 50, 35-47.
- Maheux AF., Picard FJ., Boissinot M, Bissonnette L, Paradis S, Bergeron MG (2009): Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli*/*Shigella* in water samples. *Water Research* 43 [12], 3019-3028.
- Margot J, Kienle C, Magnet A, Weil M, Rossi L, de Alencastro LF, Abegglen C, Thonney D, Chèvre N, Schärer M, Barry DA (2013): Treatment of micropollutants in municipal wastewater: Ozone or powdered activated carbon? *Science of The Total Environment* 461–462, 480-498.
- Markwell MAK, Haas SM, Bieber LL, Tolbert NE (1978): A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Analytical Biochemistry* 87 [1], 206-210.
- Martin CW (2012): Recent changes in heavy metal contamination at near-channel positions of the Lahn River, central Germany. *Geomorphology* 139–140, 452-459.
- Martineau F, Picard FJ, Ke D, Paradis S, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG (2001): Development of a PCR assay for identification of staphylococci at genus and species levels. *Journal of Clinical Microbiology* 39 [7], 2541-2547.
- Martinez CBR, Nagae MY, Zaia CTBV, Zaia DAM (2004): Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Brazilian Journal of Biology* 64 [4], 797-807.
- Mayon N, Bertrand A, Leroy D, Malbrouck C, Mandiki SNM, Silvestre F, Goffart A, Thomé J-P, Kestemont P (2006): Multiscale approach of fish responses to different types of environmental contaminations: A case study. *The Science of the Total Environment* 367 [2–3], 715-731.
- Mazon AF, Cerqueira CC, Fernandes MN (2002): Gill cellular changes induced by copper exposure in the South American tropical freshwater fish *Prochilodus scrofa*. *Environmental Research* 88 [1], 52-63.
- McDowell DC, Huber MM, Wagner M, von Gunten U, Ternes TA (2005): Ozonation of carbamazepine in drinking water: identification and kinetic study of major oxidation products. *Environmental Science & Technology* 39 [20], 014-8022.
- Meijering MPD, Pieper HG (1982): Die Indikatorbedeutung der Gattung *Gammarus* in Fließgewässern. Importance of the Genus *Gammarus* as an indicator in running waters. *Decheniana-Beihefte* 26, 111-113.
- Merkblatt DWA M 178 (2005): Empfehlungen für Planung, Bau und Betrieb von Retentionsbodenfiltern zur weitergehenden Regenwasserbehandlung im Misch- und Trennsystem, Stand Oktober 2005.

- Mertens FM, Christoffels E, Schreiber C, und Kistemann T (2012): Rückhalt von Arzneimitteln und Mikroorganismen am Beispiel des Retentionsbodenfilters Altendorf. *Korrespondenz Abwasser, Abfall GFA Hennef*.
- Miao X-S, Yang J-J, Metcalfe CD (2005): Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environmental Science & Technology* 39 [19], 7469-7475.
- Miège C, Peretti A, Labadie P, Budzinski H, Le Bizec B, Vorkamp K, Tronczyński J, Persat H, Coquery M, Babut M (2012): Occurrence of priority and emerging organic compounds in fishes from the Rhone River (France). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 [9], 2721-2735.
- Miehe U (2010): Wirksamkeit technischer Barrieren zur Entfernung von anthropogenen Spurenstoffen-Kläranlagen und Raumfilter, Technische Universität Darmstadt.
- Mishra AK, Mohanty B (2008): Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26 [2], 136-141.
- Möller S, Einax JW (2013): Metals in sediments - spatial investigation of Saale River applying chemometric tools. *Microchemical Journal* 110, 233-238.
- Morató J, Codony F, Sánchez O, Pérez LM, García J, Mas J (2014): Key design factors affecting microbial community composition and pathogenic organism removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Science of The Total Environment* 481, 81-89.
- Nagel R (2001): DarT: The embryo test with the Zebrafish *Danio rerio* - a general model in ecotoxicology and toxicology. *Altex* 19, 38-48.
- OECD (2006): OECD guideline 221 for the testing chemicals. *Lemna* sp. Growth inhibition test. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- OECD (2013): Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test: OECD Publishing.
- OECD (2016): OECD guideline 242 for the testing chemicals. *Potamopyrgus antipodarum* reproduction test. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Ofenböck T, Moog O, Hartmann A, Stubauer I (2010): Leitfaden zur Erhebung der Biologischen Qualitätselemente, Teil A2 – Makrozoobenthos" herausgegeben vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien.
- Palermo FF, Risso WE, Simonato JD, Martinez CBR (2015): Bioaccumulation of nickel and its biochemical and genotoxic effects on juveniles of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 116, S. 19-28.
- Parrou JL, François J (1997): A simplified procedure for a rapid and reliable assay of both glycogen and trehalose in whole yeast cells. *Analytical Biochemistry* 248 [1], 186-188.
- Patel B, Khaliq A, Jarvis-Evans J, Boulton M, Arrol S, Mackness M, McLeod D (1995): Hypoxia induces HSP 70 gene expression in human hepatoma (HEP G2) cells. *Biochemistry and Molecular Biology International* 36 [4], 907-912.
- Pavlica M, Štambuk A, Malović L, Mladinić M, Klobučar GIV (2011): DNA integrity of chub erythrocytes (*Squalius cephalus* L.) as an indicator of pollution-related genotoxicity in the River Sava. *Environmental Monitoring and Assessment* 177 [1-4], 85-94.
- Pelgrom SMGJ, Lock RAC, Balm PHM, Wendelaar Bonga SE (1995): Integrated physiological response of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to sublethal copper exposure. *Aquatic Toxicology* 32 [4], 303-320.
- Pereira S, Pinto AL, Cortes R, Fontainhas-Fernandes A, Coimbra AM, Monteiro SM (2013): Gill histopathological and oxidative stress evaluation in native fish captured in

- Portuguese northwestern rivers. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 90, 157-166.
- Perrichon P, Le Bihanic F, Bustamante P, Le Menach K, Budzinski H, Cachot J, Cousin X (2014): Influence of sediment composition on PAH toxicity using zebrafish (*Danio rerio*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryo-larval assays. *Environmental Science and Pollution Research* 21 [24], 13703-13719.
- Peschke K, Geburzi J, Köhler H-R, Wurm K, Tribskorn R (2014): Invertebrates as indicators for chemical stress in sewage-influenced stream systems: Toxic and endocrine effects in gammarids and reactions at the community level in two tributaries of Lake Constance, Schussen and Argen. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 106, 115-125.
- Pöckl M (1993): Beiträge zur Ökologie des Bachflohkrebses (*Gammarus fossarum*) und Flussflohkrebses (*Gammarus roeselii*). *Natur und Museum* 123, 114-125.
- Pratap HB, Wendelaar Bonga SE (1993): Effect of ambient and dietary cadmium on pavement cells, chloride cells, and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity in the gills of the freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* at normal and high calcium levels in the ambient water. *Aquatic Toxicology* 26 [1-2], 133-149.
- Predari SC, Ligozzi M, Fontana R (1991): Genotypic identification of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci by polymerase chain reaction. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35 [12], 2568-2573.
- Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, Hofnung M (1982): SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 79 [19], 5971-5975.
- Radke M, Lauwigi C, Heinkele G, Mürdter TE, Letzel M (2009): Fate of the antibiotic sulfamethoxazole and its two major human metabolites in a water sediment test. *Environmental Science & Technology* 43 [9], 3135-3141.
- Rault M, Collange B, Mazzia C, Capowiez Y (2008): Dynamics of acetylcholinesterase activity recovery in two earthworm species following exposure to ethyl-parathion. *Soil Biology and Biochemistry* 40 [12], 3086-3091.
- RKI (2007): Epidemiologisches Bulletin 13. Juli 2007/Nr.28. ESBL und AmpC:  $\beta$ -Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien.
- Rodriguez-Ariza A, Dorado G, Navas JI, Pueyo C, López-Barea J (1994): Promutagen activation by fish liver as a biomarker of littoral pollution. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 24 [2], 116-123.
- Roth-Kleyer S, Esser C, Debus T (2010): Status of retention soil filter technology in Germany - Survey of practical experiences gained with soil filter vegetation. *Korrespondenz Abwasser, Abfall* 57 (12), 1209-1211.
- Routledge EJ, Sumpter JP (1996): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15 [3], 241-248.
- San-Segundo L, Guimarães L, Fernández Torija C, Beltrán EM, Guilhermino L, Pablos MV (2016): Alterations in gene expression levels provide early indicators of chemical stress during *Xenopus laevis* embryo development: A case study with perfluorooctane sulfonate (PFOS). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 127, 51-60.
- Sanders BM, Nguyen J, Martin LS, Howe SR, Coventry S (1995): Induction and subcellular localization of two major stress proteins in response to copper in the fathead minnow *Pimephales promelas*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 112 [3], 335-343.

- Sarrif AM, Bentley KS, Fu L-J, Neil RM, Reynolds Vincent L, Stahl RG (1994): Evaluation of benomyl and carbendazim in the vivo aneuploidy/micronucleus assay in BDF1 mouse bone marrow. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 310 [1], 143-149.
- Scheil V, Zürn A, Köhler H-R, Triebkorn R (2010): Embryo development, stress protein (Hsp70) responses, and histopathology in zebrafish (*Danio rerio*) following exposure to nickel chloride, chlorpyrifos, and binary mixtures of them. *Environmental Toxicology* 25 [1], 83-93.
- Scheurer M, Brauch H-J, Lange FT (2009a): Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 394 [6], 1585-1594.
- Scheurer M, Heß S, Lüddecke F, Sacher F, Güde H, Löffler H, Gallert C (2015): Removal of micropollutants, facultative pathogenic and antibiotic resistant bacteria in a full-scale retention soil filter receiving combined sewer overflow. *Environmental Science: Processes & Impacts* 17 [1], 186-196.
- Scheurer M, Sacher F, Brauch H-J (2009b): Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany *Journal of Environmental Monitoring* 11 [9], 1608-1613.
- Scheurer M, Storck FR, Graf C, Brauch H-J, Ruck W, Lev O, Lange FT (2011): Correlation of six anthropogenic markers in wastewater, surface water, bank filtrate, and soil aquifer treatment. *Journal of Environmental Monitoring* 13 [4], 966-973.
- Schirling M, Jungmann D, Ladewig V, Nagel R, Triebkorn R, Köhler H-R (2005): Endocrine Effects in *Gammarus fossarum* (Amphipoda): Influence of wastewater effluents, temporal variability, and spatial aspects on natural populations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49 [1], 53-61.
- Schirling M, Jungmann D, Ladewig V, Ludwischowski K-U, Nagel R, Köhler H-R, Triebkorn R (2006): Bisphenol A in artificial indoor streams: II. Stress response and gonad histology in *Gammarus fossarum* (Amphipoda). *Ecotoxicology* 15 [2], 143-156.
- Schmidt-Posthaus H, Bernet D, Wahli T, Burkhardt-Holm P (2001): Morphological organ alterations and infectious diseases in brown trout *Salmo trutta* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to polluted river water. *Diseases of Aquatic Organisms* 44 [3], 161-170.
- Schmidt H, Bernet D, Wahli T, Meier W, Burkhardt-Holm P (1999): Active biomonitoring with brown trout and rainbow trout in diluted sewage plant effluents. *Journal of Fish Biology* 54 [3], 585-596.
- Schramm M, Müller E, Triebkorn R (1998): Brown trout *Salmo trutta* f. *fario* liver ultrastructure as a biomarker for assessment of small stream pollution. *Biomarkers* 3 [2], 93-108.
- Schwaiger J, Ferling H, Mallow U, Wintermayr H, Negele RD (2004): Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquatic Toxicology* 68 [2], 141-150.
- Schwaiger J (2001): Histopathological alterations and parasite infection in fish: indicators of multiple stress factors. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 8 [3-4] 231-240.
- Schwaiger J, Wanke R, Adam S, Pawert M, Honnen W, Triebkorn R (1997): The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 6 [1], 75-86.
- Schwendener S, Perreten V (2012): New MLSB resistance gene erm (43) in *Staphylococcus lentus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 [9], 4746-4752.

- Sébastien C, Becouze-Lareure C, Lipeme Kouyi G, Barraud S (2015): Event-based quantification of emerging pollutant removal for an open stormwater retention basin – Loads, efficiency and importance of uncertainties. *Water Research* 72, 239-250.
- Sidrach-Cardona R, Bécares E (2013): Fecal indicator bacteria resistance to antibiotics in experimental constructed wetlands. *Ecological Engineering* 50, 107-111.
- Siegmund-Schulze N (2013): Legionelleninfektionen in Warstein: Größter Ausbruch in Deutschland, *Deutsches Ärzteblatt* 110 [38], 1736-1737.
- Silva AG, Martinez CBR (2007): Morphological changes in the kidney of a fish living in an urban stream. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23 [2], 185-192.
- Sinclair E, Kannan K (2006): Mass loading and fate of perfluoroalkyl surfactants in wastewater treatment plants. *Environmental Science & Technology* 40 [5], 1408-1414.
- Stalter D, Magdeburg A, Wagner M, Oehlmann J (2011): Ozonation and activated carbon treatment of sewage effluents: Removal of endocrine activity and cytotoxicity. *Water Research* 45 [3], 1015-1024.
- Stange D, Sieratowicz A, Horres R, Oehlmann J (2012): Freshwater mudsnail (*Potamopyrgus antipodarum*) estrogen receptor: Identification and expression analysis under exposure to (xeno-)hormones. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 75, 94-101.
- Stasiūnaitė P, Kazlauskienė N (2002): Impact of municipal wastewater chemicals on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in its early development. *Ekologija (Vilnius)* 2, 58-64.
- Stevik TK, Kari A, Ausland G, Hanssen JF (2004): Retention and removal of pathogenic bacteria in wastewater percolating through porous media: A review. *Water Research* 38 [6], 355-1367.
- Suarez S, Dodd MC, Omil F, von Gunten U (2007): Kinetics of triclosan oxidation by aqueous ozone and consequent loss of antibacterial activity: Relevance to municipal wastewater ozonation. *Water Research* 41 [12], 2481-2490.
- Tao S, Long A, Liu C, Dawson R (2000): The influence of mucus on copper speciation in the gill microenvironment of carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 47 [1], 59-64.
- Ternes TA (1998): Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 32 [11], 3245-3260.
- Thellmann P (2012): Effekte komplexer Gewässerbelastungen bei jungen Forellen, Diplomarbeit der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen.
- Tondera K, Koenen S, Dahmen H, Pinnekamp J (2014): Untersuchung der Reduktion von Spurenstoffen, Bakterien, Bakteriophagen und abfiltrierbaren Stoffen im Retentionsbodenfilter Kenten. *Korrespondenz Abwasser, Abfall* 61, 594–600.
- Tondera K, Koenen S, Pinnekamp J (2013): Survey monitoring results on the reduction of micropollutants, bacteria, bacteriophages and TSS in retention soil filters. *Water Science and Technology* 68 [5], 1004-1012.
- Track T (2016): BMBF-Fördermaßnahme RiSKWa: Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf. Praxishandbuch. Dechema (Hrsg.). ISBN: 9783897461895.
- Trautwein C, Berset J-D, Wolschke H, Kümmerer K (2014): Occurrence of the antidiabetic drug metformin and its ultimate transformation product guanylurea in several compartments of the aquatic cycle. *Environment International* 70, 203-212.



- Trautwein C, Kümmerer K (2011): Incomplete aerobic degradation of the antidiabetic drug metformin and identification of the bacterial dead-end transformation product guanylurea, *Chemosphere* 85 [5], 765-773.
- Triebskorn R (2015): Der Fußabdruck des Menschen im Wasser. In: Triebskorn, R, Wertheimer, J (2015). Wasser als Quelle des Lebens. Eine multidisziplinäre Annäherung. S. 207-223. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Triebskorn R, Bláha L, Engesser B, Güde H, Hetzenauer H, Henneberg A, Köhler H-R, Kraiss S, Maier D, Peschke K, Thellmann P, Vogel H-J, Kuch B, Oehlmann J, Rault M, Suchail S, Rey P, Richter D, Sacher F, Weyhmüller M, Wurm K. (2013a): SchussenAktiv - Eine Modellstudie zur Effizienz der Reduktion der Gehalte an anthropogenen Spurenstoffen durch Aktivkohle in Kläranlagen: Expositions- und Effektmonitoring vor Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe auf der Kläranlage Langwiese des AZV Mariatal Ravensburg. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 8, 427-436.
- Triebskorn R, Casper H, Heyd A, Eikemper R, Köhler H-R, Schwaiger J (2004): Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II: cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 68 [2], 151-66.
- Triebskorn R, Casper H, Scheil V, Schwaiger J (2007): Ultrastructural effects of pharmaceuticals (carbamazepine, clofibrac acid, metoprolol, diclofenac) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 [4], 1405-1416.
- Triebskorn R (2013): Belastung der Argen unterhalb des Regenklärbeckens Dürren, A96 Gebrazhofen. Teil 1: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Argen im Vergleich zur Schussen aus dem Projekt SchussenAktiv, Bericht Regierungspräsidium Tübingen.
- Triebskorn R, Adam S, Casper H, Honnen W, Pawert M, Schramm M, Schwaiger J, Köhler H-R (2002): Biomarkers as diagnostic tools for evaluating effects of unknown past water quality conditions on stream organisms. *Ecotoxicology* 11 [6], 451-465.
- Triebskorn R, Amler K, Bláha L, Gallert C, Giebner S, Güde H, Henneberg A, Hess S, Hetzenauer H, Jedele K, Jung R-M, Kneipp S, Köhler H-R, Kraiss S, Kuch B, Lange C, Löffler H, Maier D, Metzger J, Müller M, Oehlmann J, Osterauer R, Peschke K, Raizner J, Rey P, Rault M, Richter D, Sacher F, Scheurer M, Schneider-Rapp J, Seifan M, Spieth M, Vogel H-J, Weyhmüller M, Winter J, Wurm K (2013b): SchussenAktiv<sup>plus</sup>: reduction of micropollutants and of potentially pathogenic bacteria for further water quality improvement of the river Schussen, a tributary of Lake Constance, Germany. *Environmental Sciences Europe* 25 [1], 1-9.
- Triebskorn R, Hetzenauer H (2012): Mikroverunreinigungen in den drei Bodenseezuflüssen Argen, Schussen und Seefelder Aach – eine Literaturstudie, *Environmental Sciences Europe* 24, 8-23.
- Triebskorn R, Köhler H-R, Honnen W, Schramm M, Adams SM, Müller EF (1997): Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations of fish behavior: are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field? *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 6 [1], 57-73.
- Triebskorn R, Telcean I, Casper H, Farkas A, Sandu C, Stan G, Colărescu O, Dori T, Köhler H-R (2008): Monitoring pollution in River Mureş, Romania, part II: Metal accumulation and histopathology in fish. *Environmental Monitoring and Assessment* 141 [1-3], 177-188.
- Uhl M, Dittmer U (2005): Constructed wetlands for CSO treatment: an overview of practice and research in Germany. *Water Science and Technology* 51 [9], 23-30.

- US EPA (2011): Estrogen receptor transcriptional activation (human cell line - HeLa-9903). Standard Evaluation Procedure (SEP). Available: [http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/toresources/seps/Final\\_890.1300\\_ERTA\\_SEP\\_9.15.11.pdf](http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/toresources/seps/Final_890.1300_ERTA_SEP_9.15.11.pdf). Accessed 20 June 2015.
- van den Brandhof E-J, Montforts M (2010): Fish embryo toxicity of carbamazepine, diclofenac and metoprolol. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 [8], 1862-1866.
- van Elsas JD, Semenov AV, Costa R, Trevors JT (2011): Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *ISME Journal* 5 [2], 173-183.
- Varanasi U, Markey D (1978): Uptake and release of lead and cadmium in skin and mucus of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 60 [2], 187-191.
- VDI 4230 Blatt 5:2017-04 Biologische Verfahren zur Erfassung von Umweltbelastungen (Bioindikation); Biomonitoring mit Fischen als Wirkungsindikatoren (Biological procedures to determine environmental impact (bioindication); Fishes as effect indicators). Berlin: Beuth Verlag (in Vorbereitung).
- Wagner M, Schlüsener MP, Ternes TA, Oehlmann J (2013): Identification of putative steroid receptor antagonists in bottled water: Combining bioassays and high-resolution mass spectrometry. *PloS one* 8 [8], S. e72472.
- Watts MM, Pascoe D, Carroll K (2002): Population responses of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.) to an environmental estrogen, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21 [2], 445-450.
- Weiss S, Jakobs J, Reemtsma T (2006): Discharge of three benzotriazole corrosion inhibitors with municipal wastewater and improvements by membrane bioreactor treatment and ozonation. *Environmental Science & Technology* 40 [23], 7193-7199.
- Wendlandt S, Heß S, Li J, Feßler AT, Wang Y, Kadlec K, Gallert C, Schwarz S (2015): Detection of the macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance gene erm (44) and a novel erm (44) variant in staphylococci from aquatic environment. *FEMS Microbiology Ecology* 91 [8], fiv090.
- Wetzel D (2016): Das Diclofenac-Problem des deutschen Trinkwassers. Die Welt online 04.03.2016.
- Wetzel MA, Wahrendorf D-S, von der Ohe PC (2013a): Sediment pollution in the Elbe estuary and its potential toxicity at different trophic levels. *Science of The Total Environment* 449, 199-207.
- Wetzel RG, Ward AK, Stock M (2013b): Bakteriologisch-hygienische Belastung der Gewässer, *Handbuch der Umweltveränderungen und Ökotoxikologie: Band 3B: Aquatische Systeme: Biogene Belastungsfaktoren—Organische Stoffeinträge—Verhalten von Xenobiotika*.
- White PA., Rasmussen JB, Blaise C (1996): A semi-automated, microplate version of the SOS Chromotest for the analysis of complex environmental extracts. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects* 360 [1], 51-74.
- Wiedemann A (2016): Strandbad Eriskirch: EU-Vorschriften verbieten Sprung in Bodensee. Südwest-Presse, 25.05.2016.
- Williams K, Green D, Pascoe D (1984): Toxicity testing with freshwater macroinvertebrates: Methods and application in environmental management, freshwater biological monitoring: proceedings of a specialised conference held in Cardiff, UK, 12-14 September, 1984, S. 81.
- Wipf JRK, Schwendener S, Nielsen JB, Westh H, Perreten V (2015): The new macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance gene erm (45) is located within a genomic

- island in *Staphylococcus fleurettii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59 [6], 3578-3581.
- Wu Q-Y, Hu H-Y, Zhao X, Sun Y-X (2009): Effect of chlorination on the estrogenic/antiestrogenic activities of biologically treated wastewater. *Environmental Science & Technology* 43 [13], 4940-4945.
- Xu P, Janex M-L, Savoye P, Cockx A, Lazarova V (2002): Wastewater disinfection by ozone: Main parameters for process design. *Water Research* 36 [4], 1043-1055.
- Yamada M, Sedgwick B, Sofuni T, Nohmi T (1995): Construction and characterization of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in DNA repair of O6-methylguanine. *Journal of bacteriology* 177 [6], 1511-1519.
- Zietzschmann F, Altmann J, Ruhl AS, Dünnebier U, Dommisch I, Sperlich A, Meinel F, Jekel M (2014): Estimating organic micro-pollutant removal potential of activated carbons using UV absorption and carbon characteristics. *Water Research* 56, 48-55.
- Zimmermann SG, Wittenwiler M, Hollender J, Krauss M, Ort C, Siegrist H, von Gunten U (2011): Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection. *Water Research* 45 [2], 605-617.

Umschlag:

*Buchdeckel vorne:* Schussen im Mittellauf, Foto: Rita Triebskorn. Kläranlage Langwiese bei Ravensburg, Foto: Jutta Schneider-Rapp. Logos des BMBF-Projektes „SchussenAktivplus“ und der Universität Tübingen. Erstellung der Bildcollage: Rita Triebskorn.

*Buchdeckel hinten:* Logos des Bundesministeriums für Bildung und Forschung, des Förderschwerpunktes „RiSKWa“ und des Ministeriums für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

© 2017 Universität Tübingen und die Autoren  
Alle Rechte vorbehalten

ISBN 978-3-946552-11-6 (Print)  
ISBN 978-3-946552-10-9 (Online)

<http://hdl.handle.net/10900/74316>  
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:21-dspace-743160>  
<http://dx.doi.org/10.15496/publikation-15721>

Druck: Pro BUSINESS digital printing Deutschland GmbH  
Printed in Germany

## Weitergehende Abwasserreinigung: Ein wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf

Das Buch enthält die Ergebnisse der drei vom Bundesministerium für Bildung und Forschung sowie vom Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg geförderten Projekte SchussenAktiv, SchussenAktiv*plus* und SchussenAktiv*plus+*, welche die Effizienz verschiedener Technologien zur Reduktion von Spurenstoff- und Keimeinträgen über Kläranlagen und Mischwasserentlastungen im Einzugsgebiet der Schussen, dem größten deutschen Zufluss des Bodensees, untersuchten. Als Bewertungsgrundlage dienten Analysen von Spurenstoffen, Indikatorbakterien und (multi)resistenten Keimen sowie von biologischen Wirkungen auf der Basis von laborbasierten Biotests, Biomarkern bei Fischen und Flohkrebsebenso wie ökologischen Gewässeruntersuchungen. Für das untersuchte Gewässereinzugsgebiet wurden des Weiteren Kosten-Nutzenabschätzungen für die weitergehende Abwasserreinigung und Mischwasserentlastung vorgenommen.



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR UMWELT, KLIMA UND ENERGIEWIRTSCHAFT

ISBN 978-3-946552-11-6



9 783946 552116