Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 02WM0803/04 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Schlussbericht

zum BMBF-Projekt

IWRM, Israel (ISR), Jordanien (JOR), Palästina (PLA): Entwicklung innovativer Verfahren zur Behandlung von Abwasser mit Membranbioreaktoren und Anforderungen zur Grundwasseranreicherung im Jordantal

Zuwendungsempfänger:

DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe (Teilvorhaben 1, 02WM0803)

Hans HUBER SE, Berching (Teilvorhaben 2, 02WM0804)

Leitung: Dr. A. Tiehm (Teilvorhaben 1),
Prof. Dr.-Ing. F. Bischof (Teilvorhaben 2)

Bearbeiter: Dr. P. Lipp, C. Zawadsky, N. Schmidt, Dr. M. Stieber

Laufzeit des Vorhabens: 01.07.2007-31.12.2009

Inhaltsverzeichnis

1. Aufgabenstellung....1
2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde....2
3. Planung und Ablauf des Vorhabens....4
4. Stand von Wissenschaft und Technik....5
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen....8
6. Übersicht zu den geplanten Arbeiten....9
6.1. Identifikation persistenter anthropogener Spurenstoffe im Abwasser, Oberflächenwasser und Grundwasser des Jordantals....10
6.1.1. Analysenkampagne Frühjahr 2007 - erste Screeninguntersuchungen....10
6.1.2. Analysenkampagne Herbst 2007 – vertiefte Untersuchungen....12
6.1.3. Analysenkampagne Frühjahr 2008....18
6.1.4. Analysenkampagne Herbst 2008....21
6.1.5. Zusammenfassung und weiteres Vorgehen....25
6.2. Entwicklung und Einsatz des PCR-Nachweises von humanpathogenen Viren und begleitenden Fäkalindikatoren in Abwasser, Oberflächenwasser und Grundwasser....27
6.2.1. Zielstellung....27
6.2.2. Hintergrund....27
6.2.2.1. Humanpathogene Viren....27
6.2.2.2. Begleitende Fäkalindikatoren....29
6.2.3. Methodenentwicklung....31
6.2.3.1. Aufkonzentrierung....31
6.2.3.2. Kationen-beschichtete Filter Methode nach Haramoto et al. (2005)....32
6.2.3.3. DNA/RNA Extraktion....35
6.2.3.4. cDNA Synthese (Reverse Transkription)....35
6.2.3.5. Qualitative PCR....36
6.2.3.6. Primerauswahl....38
6.2.4. Real-time PCR zum quantitativen Nachweis des MS2-Bakteriophagen....39
6.2.4.1. Herstellung der Standards für die Real-time PCR....40
6.2.4.2. Optimierung der Real-time PCR und Schmelzkurvenanalytik....43
6.2.5. Screening von Feldproben: Frühjahr/Herbst 2007....44
6.2.6. Screening von Feldproben: Frühjahr 2008....48
6.2.7. Probenkonservierung/Stabilitätsversuch....50
6.2.8. Methodische Besonderheiten....51
6.2.8.1. Auswirkungen von Tryptonsalz auf den Nachweis von MS2-Bakteriophagen....51
6.2.8.2. Falsch negative Ergebnisse....52
6.2.9. Wiederfindungsraten von MS2-Bakteriophagen....53
6.2.10. Bestimmung der Nachweisgrenze von MS2-Bakteriophagen....53
6.2.11. Zusammenfassung und weitere Vorgehensweise....53
6.3. Entwicklung MBR – Berichtsteil Huber SE....55
6.3.1. Ergebnisse bezüglich des Projektanlaufes....55
6.3.2. Ergebnisse bezüglich der eingesetzten Technik....57
6.3.2.1. Synthetisches Animpfmaterial....59
6.3.2.2. Organische Substanzen zur Erhöhung des Flux....60
6.3.2.3. Optimierung der Spülluft....61
6.3.2.4. Rückspülen der Module....63
6.3.2.5. Einsatz alternativer Membranen....63
6.3.3. Zusammenfassung....65
6.3.4. Nachbehandlung des Permeats mit Aktivkohle....66
6.3.5. Bau der Container-Anlage....67
6.4. Versuchsbetrieb MBR – Berichtsteil TZW....69
6.4.1. Charakterisierung von Membranen – Phase 1....69

6.4.1.1. Beschreibung des Membranteststandes 69
6.4.1.2. Membranvorbereitung 71
6.4.1.3. Versuchsablauf 71
6.4.1.4. Ermittlung der Permeabilität 72
6.4.1.5. Herstellung der Plattenmodule 76
6.4.1.6. Betrieb einer Laboranlage 76
6.4.2. Halbtechnische Feldversuche – Phase 2 78
6.4.2.1. Beschreibung der Pilotanlage 78
6.4.2.2. Standortbeschreibung Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen 79
6.4.2.3. Einflussgrößen auf den biologischen Abbau bei der Belebung 81
6.4.2.4. Erste Betriebserfahrungen mit dem MBR 82
6.4.2.5. Systematische Untersuchungen mit dem MBR 83
6.4.2.5.1. Bestimmung der kritischen Flächenbelastung 83
6.4.2.5.2. Einfluss der Membranreinigung mittels Grobbelüftung und Flüssigkeitsüberströmung 84
6.4.2.5.3. Einfluss der Belüftungsmenge 86
6.4.2.5.4. Einfluss der Intervalldauer 89
6.4.2.5.5. Einfluss des TS-Gehaltes 90
6.4.2.5.6. Sauerstoffgehalt im Reaktor 92
6.4.2.5.7. Filtratqualität bei hohen Flächenbelastungen 92
6.4.2.5.8. Filtratqualität im Langzeitbetrieb 93
6.4.2.5.9. Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf MS2- Phagen 95
6.4.2.5.10. Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf weitere Organismen 96
6.4.2.5.11. Auswirkungen des Biofilms 98
6.4.2.5.12. Elimination von Spurenstoffen 98
6.4.2.5.13. Langzeitbetriebsverhalten 99
6.4.2.6. Untersuchungen zum Einsatz der Pulverkohle zur Verbesserung der Spurenstoffelimination 102
6.4.2.6.1. Auswahl der Aktivkohle 102
6.4.2.6.2. Versuchsaufbau zur Dosierung der Aktivkohle im Feldversuch 104
6.4.2.6.3. Ergebnisse zur weitergehenden Spurenstoffelimination durch Pulverkohlebehandlung 105
6.4.2.6.4. Rückführung der Pulverkohle in den MBR Prozesstank 106
6.4.2.6.5. Auswirkung der Rückführung der Pulverkohle auf den MBR Prozess 108
6.4.2.7. Großtechnische Umsetzung 109
6.4.3. Zusammenfassung und weiteres Vorgehen 113
6.5. Untersuchungen zur Elimination ausgewählter anthropogener Spurenstoffe und Mikroorganismen 115
6.5.1. Elimination während der Bodenpassage – Spurenstoffe 115
6.5.2. Elimination während der Bodenpassage – Mikroorganismen 120
6.5.2.1. MS2-Bakteriophagen 120
6.5.2.2. *E.coli*, Coliforme und Gesamtkeimzahl 125
6.5.3. Zusammenfassung der Säulenversuche 127
6.5.4. Mikrokosmenversuche zum Abbau von Pharmaka 127
6.5.4.1. Abbauversuche mit Belebtschlamm als Inokulum 128
6.5.4.2. Abbauversuche unter methanotrophen Bedingungen 132
6.5.4.3. Abbauversuche unter nitrifizierenden Bedingungen 132

6.5.4.4. Abbauversuche mit einem Substanzgemisch und verschiedenen Inokuli 134
6.5.5. Zusammenfassung der Mikrokosmenversuche 136
6.6. Capacity Building 138
6.7. Abschließende Betrachtungen und weitere Vorgehensweise 139
7. Referenzen 141
8. Erfolgte/geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse 150

1. Aufgabenstellung

Die Knappheit von Trinkwasser verbunden mit starken jahreszeitlichen Schwankungen des Niederschlags erfordert in Regionen wie z.B. dem Jordantal ein innovatives Wasserressourcenmanagement, welches das Abwasser in besonderem Maße berücksichtigt. High-Tech-Lösungen zur Bereitstellung von Trinkwasser unter Einsatz von Membranverfahren gestalten sich in aller Regel aufwändig und für viele Schwellen- und Entwicklungsländer als zu teuer in der Investition und im laufenden Betrieb. Das Vorhaben zielte daher auf die Kombination von Membranverfahren/ Membranbioreaktoren mit der Nutzung natürlicher mikrobiologischer Abbauprozesse im Zuge der Grundwasseranreicherung. Im Rahmen dieses Projektes wurde die Verfahrenskombination „Mechanische Vorreinigung“ – „Angepasste Membranbiologie“ – „Bodenpassage und Grundwasseranreicherung“ weiterentwickelt. Aufgabe war demnach die Schaffung der technischen Voraussetzungen mit dem Ziel der Speicherung von angepasst gereinigtem Abwasser im Untergrund. Neben der technischen Verfahrensentwicklung wurden eine Bestandsaufnahme persistenter Spurenstoffe im Jordantal durchgeführt und Methoden zur Erfassung von Viren weiterentwickelt. Das Verbundvorhaben war eingebunden in die übergeordnete Struktur des Projektes „Sustainable Management of Available Water Resources with Innovative Technologies (SMART)“.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die in diesem Teilprojekt durchgeführten Arbeiten hatten die angepasste Aufbereitung von Abwasser mit dem Ziel der Speicherung im Untergrund zum Ziel. Im Untersuchungsgebiet Jordantal stellen die bislang zum Großteil ungenutzt in die Oberflächengewässer abfließenden Abwässer eine äußerst potente Wasserressource dar, durch deren konsequente und kontrollierte Wiederverwendung ein wichtiger Beitrag zur Verbesserung der Wasserversorgung des Unteren Jordantals geleistet werden kann. Dabei stellen vor allem Mikroverunreinigungen durch organische Spurenstoffe anthropogenen Ursprungs und infektiöse Mirkoorganismen (Viren), eine Herausforderung für die Aufbereitungstechnik dar.

Eine erste Voraussetzung für eine Verbesserung der Wasserversorgung bildet zunächst die umfassende Sammlung und Aufbereitung der anfallenden Abwässer nach westlichem Standard, um die diffuse Kontamination der Grundwässer und Quellen durch ungenügend aufbereitete und unkontrolliert abfließende Abwässer zu minimieren. Da im Unteren Jordantal viele kleine Ansiedlungen und Einzelgehöfte vorliegen, bieten sich dort vor allem dezentrale Kleinkläranlagen für die Abwasseraufbereitung an. Der Membranbioreaktor der Fa. Huber stellte ein dafür geeignetes, dezentral einsetzbares System dar. Membranbioreaktoren sind seit wenigen Jahren in einigen Kläranlagen in Betrieb, wo sie geringere CSB- und BSB-Ablaufwerte erreichen, als die konventionelle biologische Behandlung. Ferner sind die Anlagen kleiner und aufgrund der resultierenden Filtratqualität kann eine Einleitung der Wässer in empfindliche Gewässer ohne Probleme erfolgen. Weiterhin verringert der Einsatz von Pulverkohle im Vergleich zum Einsatz von Nanofiltration (NF) oder Umkehrosmose (UO) zur Entfernung der Mikroverunreinigungen die Kosten. Der darauf folgende Schritt für eine möglichst weitgehende Wiederverwendung des technisch aufbereiteten Abwassers besteht dann in dessen direkter Infiltration in den Aquifer. Dabei sollte die natürliche Selbstreinigung durch mikrobielle Abbauprozesse in der ungesättigten Zone genutzt werden, um die Qualität des Wassers weiter zu verbessern und insbesondere noch vorhandene Spurenstoffe zu eliminieren. Schließlich galt es die Prozesse Membranfiltration und Reinigung während der Bodenpassage auf einander abzustimmen. Dazu sollten Untersuchungen an einer Pilotanlage, die in gemeinsamer Abstimmung mit den Abteilungen des TZW, sowie Fa. Huber entwickelt wurde, stattfinden.

Für die Entwicklung geeigneter Membranverfahren stand die Technologieabteilung des TZW mit mehrjähriger Erfahrung im Betrieb von Membranfiltrationsanlagen zur Verfügung. Zusammen mit der Fa. Huber wurden so verschiedene Einflussfaktoren (Zetapotential, Kontaktwinkel, Membranmodul) auf den Betrieb einer Membrananlage zunächst im Labormaßstab untersucht um daraufhin eine Pilotanlage für die Umsetzung der Laborergebnisse im Feldmaßstab zu errichten. Für die anschließende Infiltration des so vorgereinigten Wassers in den Boden wurde das Verhalten der Spurenstoffe in Säulen- und Batchexperimenten unter Bewertung mikrobiologischer, chemischer und hydraulischer Parameter von den Abteilungen für Altlasten und Biotechnologie, sowie der Abteilung Analytik des TZW untersucht. Die Auswahl repräsentativer Schadstoffe des Untersuchungsgebietes durch mehrere großräumig angelegte Probenahmekampagnen war dabei eine Vorraussetzung um über die darauf fol-

genden Laborversuche identifizierte Schlüsselsubstanzen in einem integrierten Wasserressourcenmanagement-Konzept zu berücksichtigen.

Die Zusammenarbeit beider Partner sicherte somit die Kombination von technischem Know-How als auch wissenschaftlicher Expertise im Sinne eines erfolgreichen Projekts.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Als Teil des SMART-Projektes (Sustainable Management of Available Water Resources with Innovative Technologies) war es Ziel des Vorhabens durch eine angepasste Verfahrenskombination aus Membranverfahren und biologischen Abbauprozessen im Reaktor und während der Bodenpassage Abwasser für die Wiederverwendung entsprechend aufzubereiten. Dabei zielte das Konsortium TZW/HUBER SE auf die Entfernung organischer (Mikro-) Verunreinigungen und hygienisch relevanter Keime. Konventionelle Reinigungsverfahren können vor allem Mikroverunreinigungen, wie z.B. pharmazeutische Rückstände oder hormonell wirksame Substanzen, nicht ausreichend entfernen. Eine weitergehende Behandlung ist durch den Einsatz von Membranbioreaktoren möglich. Durch die Verwendung von neuartigen Mikro- und Ultrafiltrationsmembranen wurden Optimierungsmöglichkeiten beim Einsatz der Membranbioreaktoren (MBR) untersucht, die dann durch eine Kombination mit Pulverkohledosierung erweitert wurden. Das so vorgereinigte Abwasser kann dann anschließend durch Versickerung in der ungesättigten Bodenzone, wo es durch mikrobiologische Prozesse eine weitere natürliche Reinigung erfährt, zur Speicherung im Aquifer dienen. Der Abbau von Schadstoffen, sowie z.B. auch die Elimination von Viren während der Untergrundpassage wurden zum einen anhand von Batch-Versuchen verfolgt, bei denen verschiedene Randbedingungen variiert wurden (pH-Wert, Temperatur, Nährstoff-/Schadstoffgehalt). Zum anderen wurden die Prozesse während der Bodenpassage in Säulensystemen nachgestellt, bei unterschiedlichen Temperaturen und Schadstoffgehalten.

Schließlich wurde ein Pilotteststand in Containerbauweise entwickelt, in dem beide Prozesse, das Membranverfahren und der biologische Abbau in der Bodenpassage, untergebracht sind. Anhand von Daten aus Pilotanwendungen in Deutschland sowie im Untersuchungsgebiet Jordantal kann so die Anpassung beider Prozesse aufeinander abgestimmt und dabei auch der Einfluss der unterschiedlichen klimatischen Bedingungen auf die Reinigungsprozesse berücksichtigt werden.

4. Stand von Wissenschaft und Technik

Das weltweite Anwachsen der Bevölkerung, der stetige Ausbau der Industriekapazitäten und die damit einhergehenden klimatischen Veränderungen ziehen in vielen Ländern zunehmende Engpässe in der Wasserversorgung nach sich (EEA, 2007). Eines der Wassermangelgebiete mit dringendem Handlungsbedarf und mit politischer Brisanz ist das Gebiet des Unteren Jordantals, wo durch die Überbeanspruchung der Wasserressourcen ein zunehmendes Defizit in der Wasserbilanz vorliegt und sich die Qualität des Grundwassers durch Versalzung und Kontamination mit Abwässern immer weiter verschlechtert. Durch das zu erwartende Bevölkerungswachstum (2,5%) wird der Wasserbedarf außerdem weiterhin ansteigen.

Um Wasserdefizite in Wassermangelgebieten langfristig zu verringern und einer weiteren Qualitätsverminderung noch vorhandener Wasserreserven vorzubeugen, müssen im Rahmen eines integrierten Wasserressourcen-Managements (IWRM) sämtliche verfügbaren Wasservorkommen in ein übergreifendes Nutzungskonzept eingebunden werden. Dazu zählt auch die Wiederverwendung von Abwässern. Insbesondere durch innovative Technologien zur Abwasserreinigung können anfallende Abwässer nach entsprechend angepasster Aufbereitung direkt in den Aquifer infiltriert und damit zur Anreicherung der natürlichen Grundwasserressourcen genutzt werden (Dillon et al. 2006; Wintgens et al. 2008).Grundwasser bildet eine der wertvollsten natürlichen Wasserressourcen mit großer Bedeutung für das gesamte Ökosystem und die Versorgung mit Wasser für den menschlichen Gebrauch. Dem Schutz dieser Ressource vor dem Eintrag von Schadstoffen oder hygienisch bedenklichen Mikroorganismen muss daher ein hoher Stellenwert zukommen, was sich z.B. innerhalb der Europäischen Union durch eine Richtlinie zum Schutz des Grundwassers vor Verschmutzung und Verschlechterung (2006/118/EG) ausdrückt. Vor diesem Hintergrund muss an die Aufbereitung von Abwasser für die direkte Wiederverwendung zur Grundwasseranreicherung ein besonders hoher Anspruch gestellt werden.

Insbesondere die sogenannten „emerging pollutants“, zu denen verschiedene Gruppen persistenter organischer Spurenstoffe gerechnet werden, aber auch potentiell pathogene Keime wie enterale Viren oder humanpathogene Bakterien sind dabei als Risikofaktoren für die Grundwasserqualität zu betrachten (Asano & Cotruvo 2004). Zu den hygienisch bedenklichen Mikroorganismen zählen zum einen humanpathogene enterale Viren, die sich im Darm, Atmungstrakt und gelegentlich im Urin infizierter Personen befinden und mit menschlichen Ausscheidungen in das Abwasser gelangen (Hurst 1989). Enteropathogene Viren können dann die Abwasserreinigung zum Teil passieren und gelangen über Oberflächengewässer in den Bereich von Badegewässern und ins Grundwasser (Genthe et al. 1991, Pina et al. 1998). Die Infektionsdosis liegt im Gegensatz zu derjenigen vieler bakterieller Erreger mit durchschnittlich 10-100 infektiösen Einheiten vergleichsweise niedrig (Fleischer 1997). Für Entero- und Rotaviren wird die Infektionsdosis gar mit ein bis zehn infektiösen Einheiten angegeben (Botzenhart 2003). Eine hohe Abreinigung während der Bodenpassage entweder durch Sorption oder Elimination durch die Anwesenheit verschiedener Mikroorganismen im Boden, die als Prädatoren für Viren fungieren können, ist in mehreren Publikationen beschrieben worden (Sobsey et al. 1995, Brackmann 2006, Heistad et al. 2009). Auch der Rückhalt im Membranbioreaktor (MBR) gilt als sehr effektiv (Lipp 2004).

In umfangreichen Untersuchungen von Abwässern, Oberflächen- und Grundwässern der letzten Jahre (Ternes 1998, Sacher et al. 2001, Drewes et al. 2002, Heberer et al. 2002, Bataineh et al. 2006, Ternes & Joss 2006) haben sich die nachfolgend aufgeführten Gruppen von persistenten Spurenstoffen als besonders relevant erwiesen: **Pharmazeutische Rückstände, endokrin wirksame Verbindungen (Steroidhormone, Alkylphenole), Trialkylphosphate** und **Pestizide**. Sie alle werden aufgrund ihrer Persistenz nur ungenügend in Kläranlagen eliminiert und gelangen so in die Umwelt.

Die **Trialkylphosphate**, mit Verbindungen wie Tri-n-butylphosphat, Tris-(2-chlorethyl)-phosphat oder Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat, werden weltweit als Flammschutzmittel, Zusätze für Kunststoffe oder Additive in Gleitmitteln und hydraulischen Flüssigkeiten eingesetzt und sind in der Umwelt ubiquitär verbreitet (Metzger & Möhle 2001). Insbesondere die chlorierten Trialkylphosphate gelten bei der Abwasseraufbereitung als schlecht abbaubar und aus verschiedenen Tests mit Fischen wurden toxische Effekte auf aquatische Organismen im Bereich mg/L abgeleitet (Marklund et al. 2005).

Verschiedene Vertreter von **Pestiziden** werden seit Jahrzehnten in vielen europäischen Ländern und den USA in Oberflächen- und Grundwässern nachgewiesen (Domagalski & Dubrovsky 1992, Legrand et al. 1992, Close 1993, Walls et al. 1996, Kolpin et al. 1998, Spliid & Koppen 1998, Close & Rosen 2001, Postle et al. 2004). In einer am TZW durchgeführten Literaturstudie wurden u.a. auch die Eintragspfade von Pestiziden in die Oberflächen- und Grundwässer betrachtet (Stieber et al. 2007). Dabei zeigte sich deutlich, dass über Drainagen und Oberflächenabfluss landwirtschaftlich genutzter Flächen sowie durch feuchte und trockene Deposition aus der Atmosphäre Pestizide in die Kanalisation und damit in Kläranlagen gelangen. Dort werden sie in Abhängigkeit von den vorhandenen Abwasserbehandlungsstufen und den substanzspezifischen Eigenschaften in unterschiedlichem Maße eliminiert (Kipopoulou et al. 2004).

Pharmazeutika wie z.B. Schmerzmittel, entzündungshemmende und fiebersenkende Medikamente und Röntgenkontrastmittel werden nach der Einnahme zu einem großen Teil wieder ausgeschieden und gelangen anschließend in das Abwasser. Hinzu kommt die unsachgemäße Entsorgung nicht genutzter Medikamente über die Toilette. Viele dieser Verbindungen werden bei der konventionellen kommunalen Abwasserreinigung nur unvollständig eliminiert, was sich in ihrer chemischen Struktur begründet. Sie müssen auf der einen Seite eine gewisse Beständigkeit aufweisen, sodass sie erst am Wirkort abgebaut werden und auf der anderen Seite möglichst gut vom menschlichen Körper aufgenommen werden können, also hydrophil sein. Gerade letzteres verhindert oder erschwert die Elimination aus dem Wasserkreislauf durch Adsorption an die Belebtschlammflocke (Radjenovic et al. 2007). So gelangen sie über den Ablauf der Kläranlagen in die Oberflächengewässer, von dort über Ufer- und Flussbettfiltration z.T auch in das Grundwasser und können in manchen Regionen bereits im Trinkwasser nachgewiesen werden (Ternes 1998, Sacher et al. 2001, Andreozzi et al. 2003, Derksen et al. 2004, Bataineh et al. 2006, Gimbel & Jekel 2006). Debska et al. (2004) berichteten in einem Review über Vorkommen pharmazeutischer Rückstände (Klärwerksabläufe, Oberflächengewässer) in verschiedenen europäischen Ländern (Deutschland, Frankreich, Griechenland, Großbritannien, Italien, Spanien, Schweden, Schweiz) und den USA im

Bereich von ng/L bis µg/L, z.B. Diclofenac 0,01 – 5,5, µg/L, Ibuprofen 0,005 – 7,1 µg/L, Carbamazepin 0,01 – 6,3 µg/L, Naproxen 0,01 – 5,2 µg/L, Sulfamethoxazol 0,01 – 2 µg/L, Trimethoprim 0,02 – 0,7 µg/L oder Ciprofloxacin 0,03 – 0,1 µg/L.

Endokrine Wirkstoffe können schon in geringen Mengen Einfluss auf aquatische Organismen nehmen (z.B. Vos et al. 2000). Steroidhormone können in Kläranlagen bei ausreichendem Schlammalter relativ gut eliminiert werden, für synthetische Verbindungen wie 17α-Ethinylestradiol liegen z.T. widersprüchliche Ergebnisse vor (Clara et al. 2005b). Die xenobiotischen, hormonell wirksamen Verbindungen Octylphenol und Nonylphenol (Alkylphenole) bilden persistente Metabolite aus dem Abbau von weltweit meist zu industriellen Zwecken eingesetzten Tensiden (Alkylphenolpolyethoxylate) (Wettstein, 2004). Insbesondere Nonylphenol-Isomere unterliegen in konventionellen kommunalen Kläranlagen nur einer geringen biologischen Elimination (teilweise Rückhalt durch Sorption am Schlamm) und gelangen mit dem Ablauf in die Oberflächen- und Grundwässer (Wintgens et al. 2004, Clara et al. 2005a). Auch die hormonell wirksame Verbindung Bisphenol A, ein in großen Mengen produzierter Grundstoff für die Produktion von Polycarbonaten und Epoxydharzen, wird durch konventionelle Abwasseraufbereitung nicht ausreichend zurückgehalten und findet sich daher in Oberflächen- und Grundwässern (Wintgens et al. 2004).

Mikroverunreinigungen wie Pharmazeutika, endokrine Wirkstoffe, Trialkylphosphate und Pestizide stellen die Abwasseraufbereitung vor besondere Herausforderungen. Es wird vielfach angenommen, dass in konventionellen Kläranlagen viele Mikroverunreinigungen unverstoffwechselt bleiben, da dort für deren Abbau keine optimalen Schlammalter und Biozönosen vorliegen (Clara et al. 2005b). Schlammalter >10 Tage, wie sie in Kläranlagen mit Nitrifikation erreicht werden, begünstigen das Wachstum von Abbauspezialisten jedoch. Diese können in der Lage sein auch Substanzen in sehr geringen Konzentrationen als Substrat zu erkennen und geeignete Abbauwege zu induzieren (Clara et al. 2005a, Radjenovic 2007).

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Verbundvorhaben TZW/Huber war eng mit dem IWRM-Projekte SMART assoziiert. Das Gesamtziel des SMART Projektes ist die Erarbeitung eines übertragbaren Ansatzes für ein Integriertes Wasserressourcen Management (IWRM) in ariden Wassermangelregionen mit Hilfe einer multilateralen, interdisziplinären Forschungsgruppe aus Wissenschaft und Industrie unter Einbeziehung lokaler Non Governmental Organisations (NGOs) und Fachbehörden. Zu den wissenschaftlichen Partnern auf deutscher Seite gehören das KIT, ehemals Universität Karlsruhe, die Universität Göttingen und das Helmholtzzentrum für Umweltforschung (UFZ) in Leipzig-Halle. Mit dem Ziel einer weitergehenden Reinigung durch Membranverfahren zusammen mit den biologischen Abbauprozessen im Reaktor und nachfolgend während der Bodenpassage leistete dieses Verbundvorhaben einen wichtigen Beitrag für die Erstellung eines integrierten Wassermanagementkonzepts in der Region, wie es das übergeordnete Forschungsprojekt SMART vorsieht. Während der Versuchslaufzeit fand dabei ein kontinuierlicher Austausch und Abgleich von Ergebnissen zwischen den einzelnen Projektteilnehmern dieses Projektes und des SMART Projektes statt. Weiterhin wurde der Kontakt zu ausländischen Partner nicht zuletzt über das Capacity Building gepflegt (z.B. Palestinian Hydrology Group; Al-Balqa Applied University, Jordanien).

6. Übersicht zu den geplanten Arbeiten

Die dem Projekt zu Grunde liegenden Aufgaben seitens des TZW sind im Folgenden aufgelistet:

- Bestandsaufnahme der Wasserinhaltsstoffe + hydrochemischen Randbedingungen im Untersuchungsgebiet Jordantal
- Charakterisierung der Membranen für den Einsatz im Membranbioreaktor zur Elimination von anthropogenen Spurenstoffen und hygienisch relevanten Mikroorganismen
- Versuche an Membran-Labormodulen und einem Pilotteststand zur Einstellung der optimalen Betriebsbedingungen für eine weistgehende Reinigung
- Biologischer Abbau von Leitsubstanzen im Batchbetrieb zur Erweiterung des Prozessverständnisses im Allgemeinen und während der Speicherung im Untergrund im Falle einer Grundwasseranreicherung
- Biologischer Abbau von Leitzsubstanzen in Säulenversuchen zur Simulation der Abbauprozesse während der Bodenpassage
- Entwicklung und Einsatz eines PCR-Nachweises für Viren in unterschiedlichen Wasserproben
- Schulung (Capacity Building) von Projektteilnehmern im Untersuchungsgebiet Jordantal

Die HUBER SE, als teilfinanzierter Industriepartner des Projekts, übernahm ursprünglich geplant die nachfolgenden Aufgaben:

- Weiterentwicklung einer neuartigen Fest-Flüssig-Trennung
- Bereitstellung von Membranmodulen (Ist-Zustand) für den wissenschaftlichen Projektpartner TZW, um Untersuchungen bzgl. des Rückhalts von Viren und endokrinen Stoffen zu ermöglichen
- Aufbau eines Membranversuchsstandes am TZW zur Durchführung von Untersuchung der „russischen Membranen“ im Rahmen „grundlegender Laboruntersuchungen“
- Aufbau eines Membranversuchsstands bei der HUBER SE zur Verifizierung der Ergebnisse des TZW an realem Abwasser
- Aufbau einer Container-Anlage zur Durchführung von Untersuchungen vor Ort in Palästina mit optimierten Anlagenkomponenten

Für beide Partner wurden die Ziele erreicht, die im Einzelnen unter 6.1 bis 6.6 dargestellt sind.

6.1. Identifikation persistenter anthropogener Spurenstoffe im Abwasser, Oberflächenwasser und Grundwasser des Jordantals

Um die beiden Prozesse — technische Aufbereitung im MBR und natürliche Nachbehandlung in der ungesättigten Zone — aufeinander abzustimmen, war es zunächst notwendig, die für die Region relevanten Abwasser-Problemstoffe zu identifizieren um dann die Prozesse zu deren optimaler Elimination anhand von Abbauexperimenten aufzuklären. Da zum Zeitpunkt des Projektbeginns diesbezüglich keine verwertbaren Informationen zur Verfügung standen, wurde zunächst versucht über Kontakte zu den in SMART kooperierenden Arbeitsgruppen (insbesondere Angewandte Geologie Karlsruhe, Jordan Ministry for Water and Irrigation, Jordan Valley Authority, GTZ-Jordan, Jordan University, Palestinian Hydrology Group) an Analysedaten zu gelangen, die eine Identifikation problematischer Abwasserinhaltsstoffe ermöglichen könnten. Wie sich bald zeigte, lagen lediglich Daten über physikalisch-chemische Standardparameter vor. Spurenanalytische Wasseranalysen auf potentiell problematische anthropogene organische Verbindungen, die vorstehend unter 4. näher dargestellt sind, waren bisher im Einzugsgebiet des Unteren Jordantals nicht durchgeführt worden. Daraus resultierte die Notwendigkeit, die entsprechenden Daten durch eigene Untersuchungen von Wasserproben aus dem Jordantal zu gewinnen. Die Ergebnisse der durchgeführten Wasseranalysen sind nachfolgend dargestellt.

6.1.1. Analysenkampagne Frühjahr 2007 - erste Screeninguntersuchungen

Im Frühjahr 2007 wurden im Bereich der jordanischen Seite des unteren Jordantals 5 Wasserproben aus Oberflächengewässern (unterschiedlich mit Abwässern belastet) und 1 Ablauf einer Kläranlage mit Unterstützung jordanischer Kollegen entnommen und im TZW auf eine Reihe anorganischer und organischer Parameter untersucht, um einen ersten Überblick der Gewässerqualität und des Auftretens persistenter anthropogener Spurenstoffe zu erhalten. Sämtliche Einzelergebnisse sind im 1. Zwischenbericht (Anhang A, Tab. A-1 bis A-12) aufgeführt.

Die Analysedaten der Proben aus dem King Abdullah Canal bei Deir Allah (bevor Wasser aus dem King Talal Reservoir zugeleitet wird), dem Abfluss des Wadi Es Sir (oberhalb der Kläranlage) und der Trinkwasserquelle Bahat Spring bewegten sich im Bereich natürlicher Oberflächen- und Quellwässer und ließen keinen signifikanten Abwassereinfluss erkennen. Dagegen war die Belastung mit Abwasser in den Proben aus dem Uferbereich und dem Abfluss des King Talal Reservoirs evident. Insbesondere die Phosphatkonzentrationen waren sehr hoch und dürften maßgeblich für die bereits optisch gut erkennbare Eutrophierung dieses größten Oberflächenwasserreservoirs Jordaniens verantwortlich sein. Die Werte des Klärwerksablaufs Wadi Es Sir ließen auf eine relativ gut funktionierende Abwasseraufbereitung schließen, allerdings mit ungenügender Phosphatelimination.

Die Konzentrationen der nachgewiesenen Komplexbildner (NTA, EDTA) konnten im Vergleich mit europäischen Gewässern als relativ unbedenklich eingestuft werden. Polychlorierte Biphenyle (PCBs) sowie Pflanzenschutzmittel wurden in keiner der Proben gefunden. Der Eintrag von Pestiziden in Oberflächengewässer über den Abwasserpfad in Jordanien scheint daher keine Rolle zu spielen. Diese Aussage galt auch weitgehend für die West-Bank, wo im

Rahmen von Screeninganalysen im Herbst 2007 in 4 verschiedenen Abwasserproben nahezu keine Pestizide nachgewiesen wurden (vgl. 1. Zwischenbericht, Tab. C-2 im Anhang). Erfreulicherweise führte das Screening auf schwerflüchtige organische Verbindungen, die in vielen Industrieländern im Abwasser und Oberflächenwasser angetroffen werden, in keiner der 6 untersuchten jordanischen Wasserproben zu einem positiven Nachweis. Die Konzentrationen an Schwermetallen konnten in allen 6 Wasserproben als unauffällig bezeichnet werden. Die nachgewiesenen Bor-Konzentrationen geben den Abwassereinfluss auf die Wasserproben deutlich wieder.

Es wurden die beiden Proben mit dem höchsten Abwasseranteil, Ablauf King Talal Reservoir und Ablauf Kläranlage Wadi Es Sir auf pharmazeutische Rückstände, endokrine Wirkstoffe, Trialkylphosphate, Phtalate und perflourierte Tenside untersucht, da erfahrungsgemäß dort am ehesten mit entsprechenden Substanzen zu rechnen war. In den beiden untersuchten Wasserproben wurden keine Phtalate nachgewiesen. Auftreten und Konzentration perfluorierter Tenside wie Perfluoroctansäure und Perfluoroctansulfonat, die sich durch ihre Persistenz gegenüber chemischen und biologischen Abbauprozessen auszeichnen, konnten in den jordanischen Wasserproben, verglichen mit Funden in Europa, als vernachlässigbar betrachtet werden.

Einige Substanzen aus dem Spektrum der Arzneimittel konnten allerdings nachgewiesen werden (Schmerzmittel, Entzündungshemmer, Blutfettsenker, Antiepileptika, Betablocker, Röntgenkontrastmittel). Seit einigen Jahren werden viele verschiedene pharmazeutische Produkte weltweit in Abwässern und Oberflächengewässern detektiert. Es überraschte daher nicht, auch in jordanischen Abwässern pharmazeutische Rückstände zu finden. Verglichen mit den in Europa vorliegenden Erfahrungen lagen die Konzentrationen der in den beiden jordanischen Proben nachgewiesenen Verbindungen in vergleichbaren Bereichen. Einige ökotoxikologische Studien konnten bereits den negativen Einfluss dieser Substanzen auf aquatische Organismen, wie Algen, Zooplankton und Fische, nachweisen (z.B. Ferrari et al. 2003, Owen et al. 2007, Raldúa et al. 2008). Das Umweltbundesamt schlägt bereits für einige wenige Vertreter dieser persistenten Spurenstoffe Leitwerte zum Einbringen in spätere Richtlinien vor (Umweltbundesamt, 2009). Es ist absehbar, dass die Diskussionen über den Umgang mit pharmazeutischen Rückständen in den Gewässern zunehmen und auf nationaler und internationaler Ebene Regularien erlassen werden, um die derzeit noch unkontrollierten Emissionen dieser Substanzen zu kontrollieren und deren zunehmend feststellbarer Einwanderung in die Grundwässer entgegen zu wirken.

In den beiden Abwasserproben, Ablauf King Talal Reservoir und Ablauf Kläranlage Wadi Es Sir wurden hormonell wirksame Verbindungen aus der Gruppe der Alkylphenole nachgewiesen. Insbesondere der persistente Metabolit Nonylphenol aus dem Abbau von Alkylphenolpolyethoxylat-Tensiden war in beiden Proben (Konzentration bis 3 µg/L) anzutreffen. Vergleichbar zur Situation bei den pharmazeutischen Rückständen, gibt es auch hier bereits ökotoxikologische Studien, die negative Auswirkungen von endokrinen Wirkstoffen wie Nonylphenol oder Bisphenol A in aquatischen Organismen nachweisen (z.B. Kwak et al. 2001, Hirano et al. 2004, Oehlmann et al. 2006). In der EU wird Nonylphenol aufgrund seiner Persistenz und weiten Verbreitung in Abwässern, Oberflächenwässern und Grundwässern zu

den prioritären Kontaminanten gerechnet und in Australien wird über die Einführung eines Grenzwertes für Bisphenol A in der Trinkwasserproduktion diskutiert (EPHC, 2008). Aufgrund der vorliegenden Kenntnisse erscheint es angebracht, sich mit der Rolle dieser xenobiotischen endokrinen Wirkstoffe in den Gewässern weiter zu beschäftigen und einen verstärkten Eintrag in die Grundwässer möglichst zu verhindern.

Mehrere Vertreter der Trialkylphosphate, einer weiteren Gruppe ubiquitär verbreiteter Xenobiotika mit noch ungenügend geklärter Umweltrelevanz, waren in den Proben des King Talal Reservoirs und der Kläranlage Wadi Es Sir in Konzentrationen bis in den µg-Bereich zu detektieren. Trialkylphosphate werden weltweit in vielen industriellen Produktionsprozessen eingesetzt und gelangen aufgrund ihrer Persistenz über die Kläranlagen in die Gewässer. Wie für die pharmazeutischen Rückstände und die Alkylphenole besteht auch für die Trialkylphosphate der dringende Bedarf, die Emissionen zu limitieren und, damit einhergehend, ein erhöhter Forschungsbedarf zur besseren Elimination dieser persistenten Spurenstoffe bei der Abwasseraufbereitung.

Auch Antibiotika sind den pharmazeutischen Rückständen zuzurechnen, werden aber aufgrund ihrer Vielzahl als eigene Gruppe dargestellt. In den jordanischen Proben konnten nur wenige Antibiotika nachgewiesen werden, überwiegend im Ablauf der Kläranlage. Verglichen mit Funden in europäischen Ab- und Oberflächenwässern scheint die Emission von Antibiotika in Jordanien allerdings eher von untergeordneter Bedeutung zu sein.

6.1.2. Analysenkampagne Herbst 2007 – vertiefte Untersuchungen

Die ersten Screeninguntersuchungen im Frühjahr 2007 zeigten deutlich, dass einige der anthropogenen persistenten Spurenstoffe, die in Europa seit einigen Jahren zunehmend Beachtung finden, auch in den jordanischen Gewässern angetroffen werden. Wie aus den Ausführungen unter 6.1.1 hervorgeht, erscheinen in jordanischen Abwässern vor allem Vertreter von pharmazeutischen Rückständen, endokrinen Wirkstoffen (Alkylphenole) und Trialkylphosphaten als besonders relevant. Auch in jordanischen Kläranlagen werden diese organischen Spurenstoffe offensichtlich nur ungenügend eliminiert und gelangen über den Ablauf (vermutlich z.T. auch über ungeklärte Abwässer) in die Oberflächengewässer.

Um weitere Daten über die Verteilung anthropogener Spurenstoffe in den Abwässern und Oberflächenwässern des Unteren Jordantals zu gewinnen, wurden im Herbst 2007 11 Wasserproben (9 Oberflächenwässer, 1 Grundwasser, 1 Klärwerksablauf) von der jordanischen Seite durch jordanische Kollegen und Kollegen des Lehrstuhls für angewandte Geologie Karlsruhe (AGK), sowie 4 Abwasserproben (2 Klärwerksabläufe, 2 ungeklärte Abwässer) aus der West Bank durch palästinensische Kollegen entnommen und nach Karlsruhe geschickt. Aufgrund der Erkenntnisse aus der Frühjahrskampagne wurden diesmal alle 15 Proben gezielt auf die als prioritär eingestuften anthropogenen Spurenstoffe untersucht. Sämtliche Einzelergebnisse sind im Anhang B (1. Zwischenbericht, Proben aus Jordanien, Tab. B-1 bis B-4) und Anhang C (1. Zwischenbericht, Proben aus der West Bank, Tab. C-1 bis C-5) aufgeführt. Einen Überblick der Analysenergebnisse geben die nachfolgenden Abbildungen, in die zum Vergleich auch die Ergebnisse der Frühjahrsuntersuchungen mit aufgenommen wurden.

Pharmazeutische Rückstände:

Wie aus den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 1, Abb. 2, **Abb. 3**) deutlich hervorgeht, konnte mit den Herbstanalysen in vollem Umfang bestätigt werden, dass pharmazeutische Rückstände auch in Abwässern und Oberflächengewässern des Unteren Jordantals als potentiell problematische anthropogene Inhaltsstoffe vertreten sind. Dabei zeigt Abb. 1, dass pharmazeutische Spurenstoffe nur in Oberflächenwässern auftreten, die eine deutliche Abwasserbelastung aufweisen. Im King Abdullah Canal bei Deir Allah, wo noch weitgehend unbelastetes Wasser aus dem jordanisch-syrischen Grenzfluss Yarmouk sowie aus Wadiabflüssen des nördlichen Jordantals fließt, konnten keine pharmazeutischen Rückstände nachgewiesen werden. Nur wenige Kilometer weiter südlich, nach der Einleitung von Abflusswasser des King Talal Reservoirs in den King Abdullah Canal, finden sich Wirkstoffe von Schmerzmitteln, Blutfettsenkern, Antiepileptika, Betablockern und Röntgenkontrastmittel in Konzentrationen bis zu mehreren µg/L. Ein weitgehend vergleichbares Substanzspektrum konnte auch direkt im Abfluss des King Talal Reservoirs und den Abläufen der beiden Kläranlagen nachgewiesen werden.

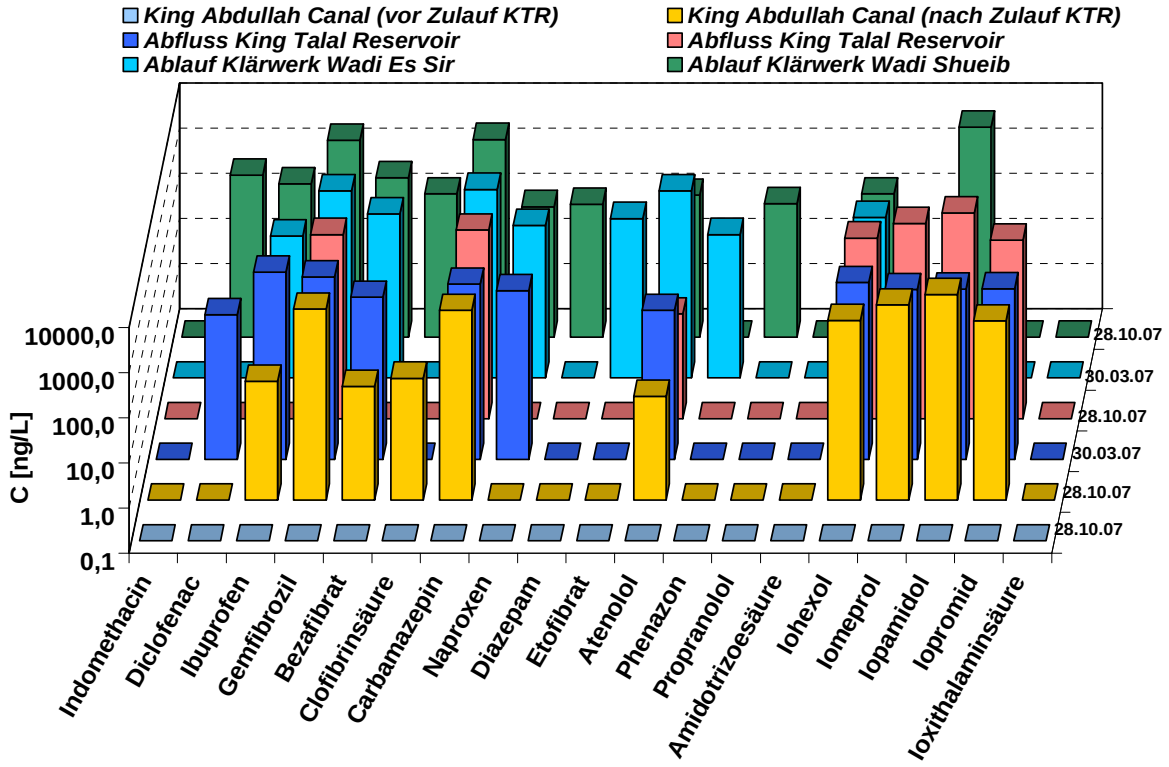


Abb. 1 Pharmazeutische Rückstände in Abwässern und Oberflächenwässern des Unteren Jordantals, östliche Seite (Jordanien); KTR = King Talal Reservoir

Aus dem Abfluss des Wadi Kafrein (Zulauf zum Versickerungs-Testfeld) wurden von Herrn Zemann (AGK, Universität Karlsruhe) im Rahmen seiner Diplomarbeit innerhalb von 24 h 4 zeitlich gleichmäßig verteilte Stichproben entnommen (Abb. 2). Aus den Analysedaten dieser Proben wird deutlich, dass sich Konzentrationen und Anzahl der Röntgenkontrastmittel, die mit 5 Verbindungen und Konzentrationen bis 39 µg/L den Schwerpunkt der pharmazeutischen Rückstände im Wadiabfluss bilden, sowie des Blutfettsenkers Gemfibrozil und des Antiepileptikums Carbamazepin innerhalb eines Tages kaum verändern. Das Schmerzmittel

Diclofenac, der Blutfettsenker Bezafibrat und der Betablocker Atenolol fanden sich dagegen nur in Proben um 04:00 Uhr und 10:00 Uhr, aber nicht um 16:00 Uhr und 22:00 Uhr, was auf eine bevorzugte Einnahme dieser Arzneimittel in den späten Abendstunden hindeutet (vgl. Abb. 2). Dieses Beispiel demonstriert, dass der Zeitpunkt der Probenahme den Nachweis einzelner Verbindungen positiv bzw. negativ beeinflussen kann.

In Abb. 2 sind auch die Analysedaten einer Brunnenprobe (Nr. 3) aus dem Grundwasserabstrom des Versickerungs-Testfeldes dargestellt. Konzentrationen und Spektrum der in dieser Probe gemessenen Pharmazeutika sind nahezu identisch mit den Zulaufproben aus dem Wadiabfluss und lassen keinerlei Abreinigungseffekt durch die Bodenpassage erkennen. Aufgrund der kurzen Fließzeit des im Becken versickerten Wassers bis zum Brunnen 3 von nur wenigen Stunden, war dies allerdings auch nicht zu erwarten.

Auch die Probe aus dem Abfluss des Wadi Shueib, kurz vor dem Einlauf in das dortige Reservoir, zeigte deutlich, dass einige Arzneimittelwirkstoffe in das Reservoir gelangen (Abb. 2).

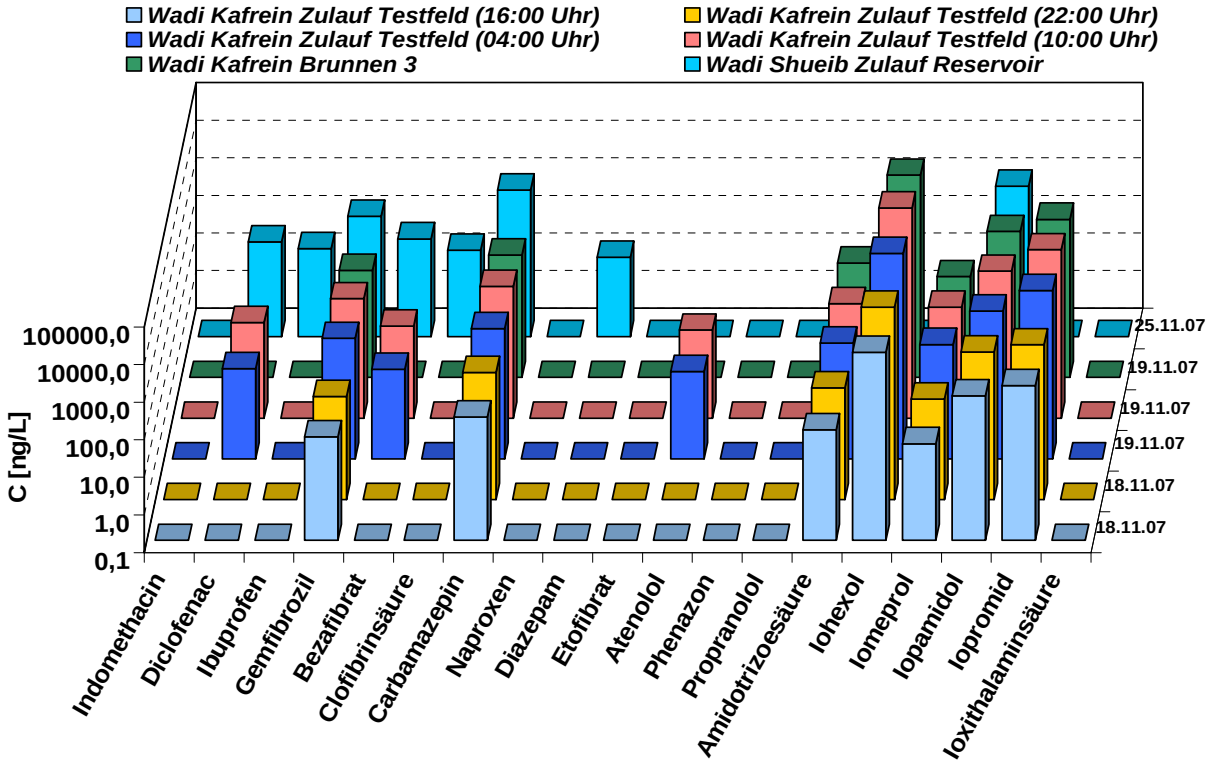


Abb. 2 Pharmazeutische Rückstände in Oberflächenwässern des Unteren Jordantals, östliche Seite (Jordanien)

Bei den von palästinensischen Kollegen aus dem Bereich der West Bank entnommenen Abwasserproben handelte es sich um 2 Abläufe von Kläranlagen sowie 2 kommunale Abwässer, die ohne Aufbereitung in Wadiabflüsse eingeleitet werden. Anhand der in **Abb. 3** dargestellten Analysenergebnisse der pharmazeutischen Rückstände in diesen Proben ließ sich allerdings keine klare Unterscheidung zwischen den im Klärwerk aufbereiteten und den unbehandelten Abwässern treffen. In allen Proben konnten Schmerzmittel, Blutfettsenker, Antiepileptika, Betablocker und Röntgenkontrastmittel mit z.T. sehr hohen Konzentrationen nachgewiesen werden (vgl. auch 1. Zwischenbericht, Tab. C-3 im Anhang).

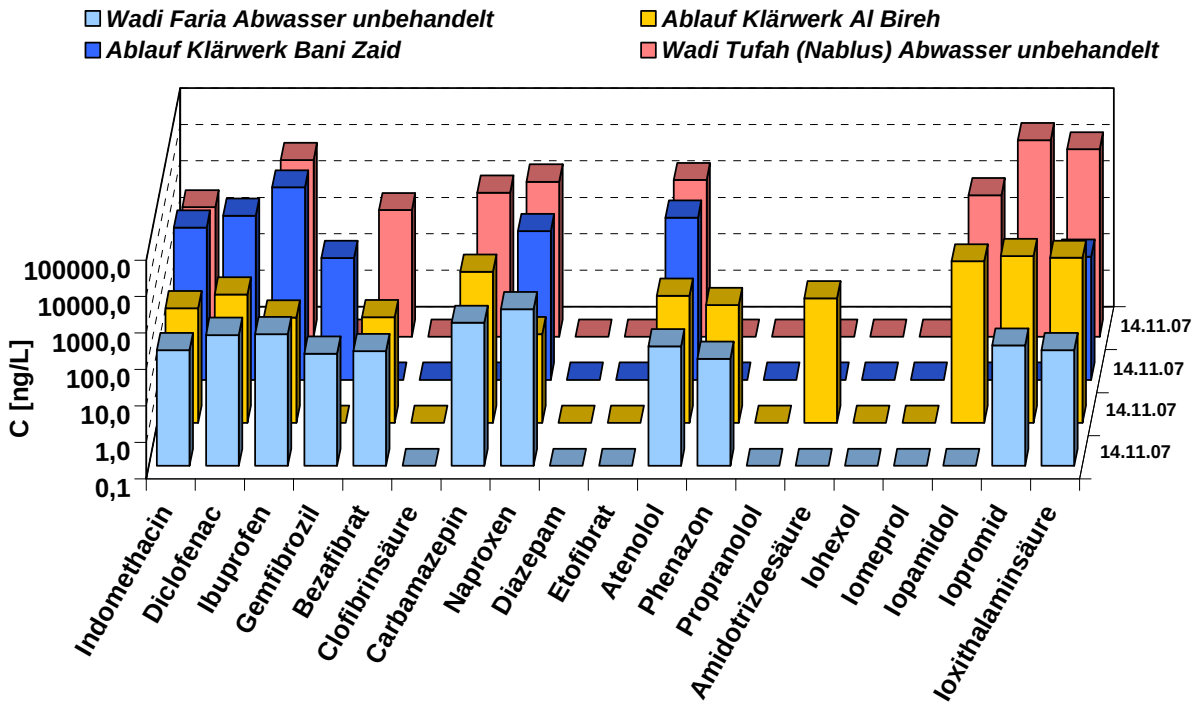


Abb. 3 Pharmazeutische Rückstände in Abwässern des Unteren Jordantals, westliche Seite (West Bank)

Beim Vergleich der Komponentenzusammensetzung der Wasserproben der westlichen mit denen der östlichen Seite des Jordantals fiel auf, dass der fiebersenkende Wirkstoff Indomethacin sowie das Röntgenkontrastmittel Ioxithalaminsäure in allen West Bank Proben vorkommt, hingegen in keinem der jordanischen Wässer gefunden wurde. Umgekehrt wurden die Röntgenkontrastmittel Iohexol und Iomeprol in nahezu allen jordanischen Proben nachgewiesen, fanden sich aber nicht auf der palästinensischen Seite (vgl. Abb. 1, Abb. 2 und **Abb. 3**). Dies ist vermutlich auf lokale Unterschiede bei der Medikamentenverordnung bzw. der Röntgendiagnostik zurückzuführen. Insgesamt ging jedoch aus den Analysedaten der pharmazeutischen Rückstände sehr deutlich hervor, dass über Abwässer von beiden Seiten des Jordantals ein breites Spektrum an pharmazeutischen Produkten in die Oberflächengewässer eingetragen wird. Aufgrund der diesbezüglich vorliegenden Erfahrungen aus Europa und den USA ist davon auszugehen, dass diese anthropogenen Spurenstoffe über die Oberflächengewässer auch in die Aquifere vordringen können.

Endokrine Wirkstoffe und Trialkylphosphate:

In Abb. 4, Abb. 5 und Abb. 6 ist die Verteilung von endokrin wirksamen Verbindungen und Trialkylphosphaten in den Abwässern und Oberflächenwässern des Unteren Jordantals dargestellt. Diese Daten zeigen, dass natürliche Steroidhormone (Estron und Estriol) nur in 2 der insgesamt 17 untersuchten Wasserproben festzustellen waren (Abb. 6). Eine deutlich stärkere Präsenz zeigen dagegen die endokrin wirksamen Xenobiotika Octylphenol, Nonylphenol und Bisphenol A. Insbesondere Nonylphenol wurde in sämtlichen jordanischen und palästinensischen Abwasserproben, im Abfluss des King Talal Reservoirs und selbst im noch weitgehend unbelasteten Wasser des King Abdullah Canal bei Deir Allah nachgewiesen, allerdings in keiner Probe aus dem Wadi Kafrein. Dort trat lediglich Bisphenol A in einer

der 4 innerhalb von 24 h genommenen Proben auf, sowie in der Grundwasserprobe aus Brunnen 3.

Komponenten aus der Gruppe der Trialkylphosphate wurden mit einer Ausnahme (Wadi Kafrein Zulauf Testfeld 22:00 Uhr) in allen untersuchten Wasserproben angetroffen. Die chlorierten Verbindungen Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat und Tris-(2-chlorethyl)-phosphat, die zu den persistentesten Vertretern zählen, scheinen am weitesten verbreitet zu sein. Die Verbindung Triethylphosphat wurde nur im Wasser des King Talal Reservoirs (bzw. im King Abdullah Canal nach dem Zufluss des King Talal Reservoirs) nachgewiesen, Triphenylphosphat fand sich nur im Ablauf des Klärwerks Al Bireh in der West Bank. Vergleichbar zu den pharmazeutischen Rückständen war auch für die Trialkylphosphate ein deutlicher Eintrag in die Oberflächengewässer des Unteren Jordantals festzustellen, der auf Abwässer aus Jordanien und der West Bank zurückzuführen ist. Da einige Vertreter der Trialkylphosphate als sehr resistent gegenüber chemischen und biologischen Abbauprozessen gelten, kann damit gerechnet werden, auch diese Verbindungen in den Grundwässern des Jordantals anzutreffen.

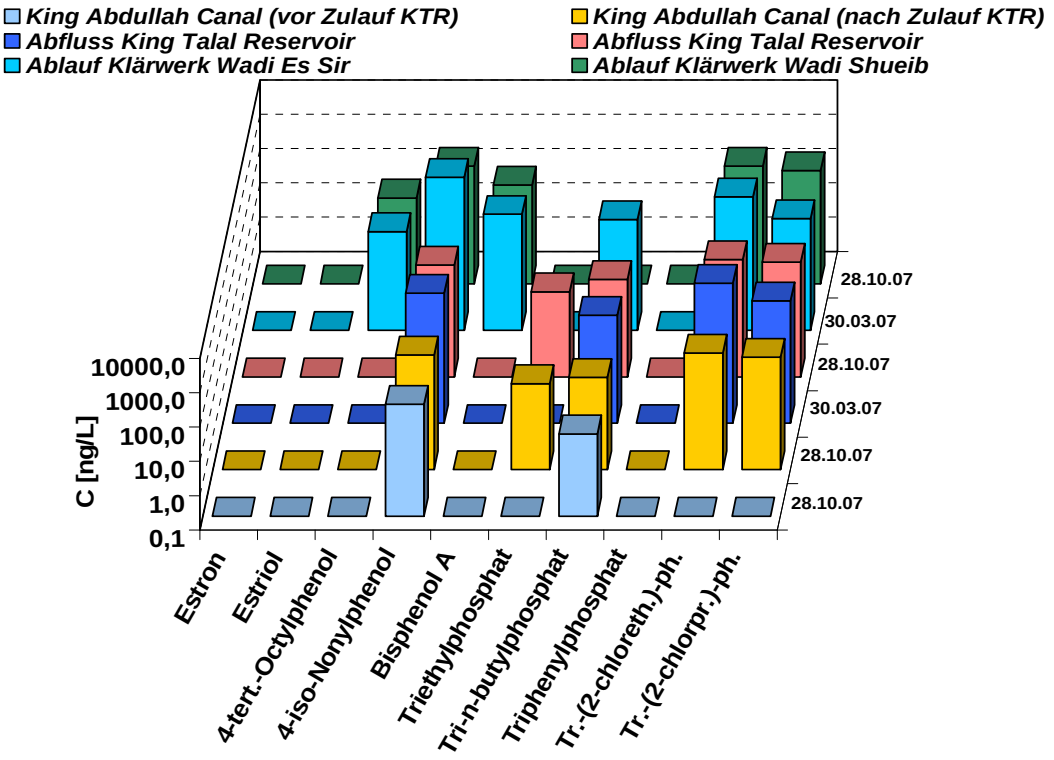


Abb. 4 Endokrin wirksame Substanzen und Trialkylphosphate in Abwässern und Oberflächenwässern des Unteren Jordantals, östliche Seite (Jordanien); KTR = King Talal Reservoir

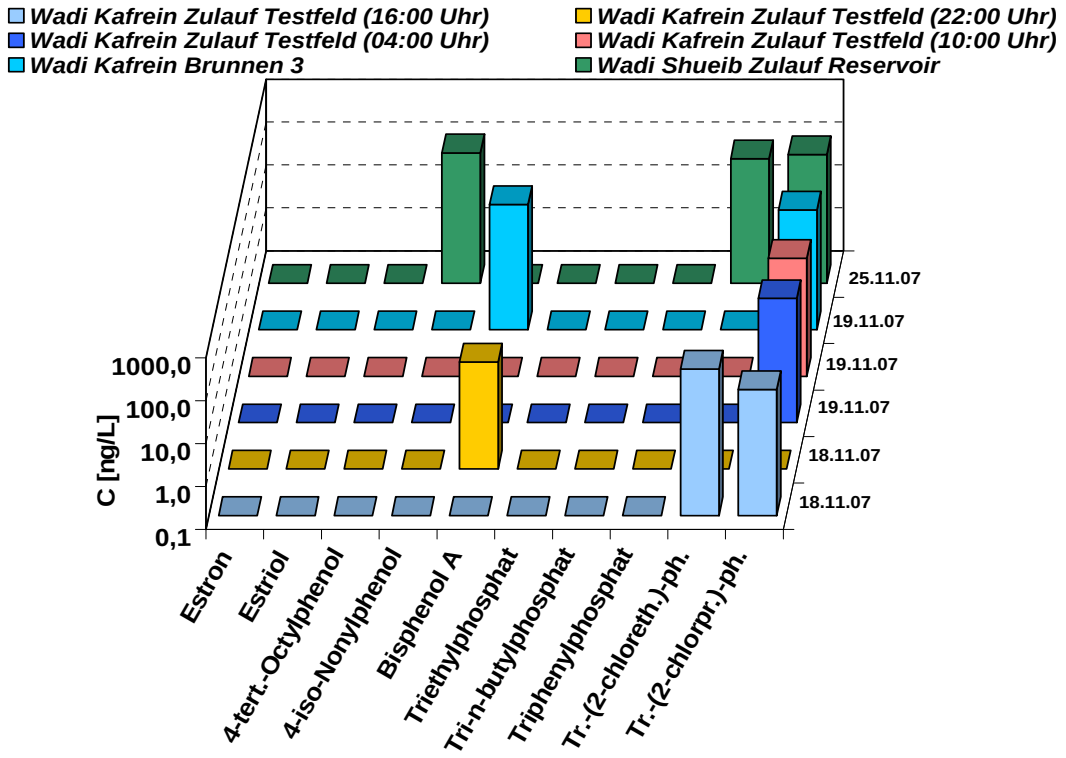


Abb. 5 Endokrin wirksame Substanzen und Trialkylphosphate in Abwässern und Oberflächenwässern des Unteren Jordantals, östliche Seite (Jordanien)

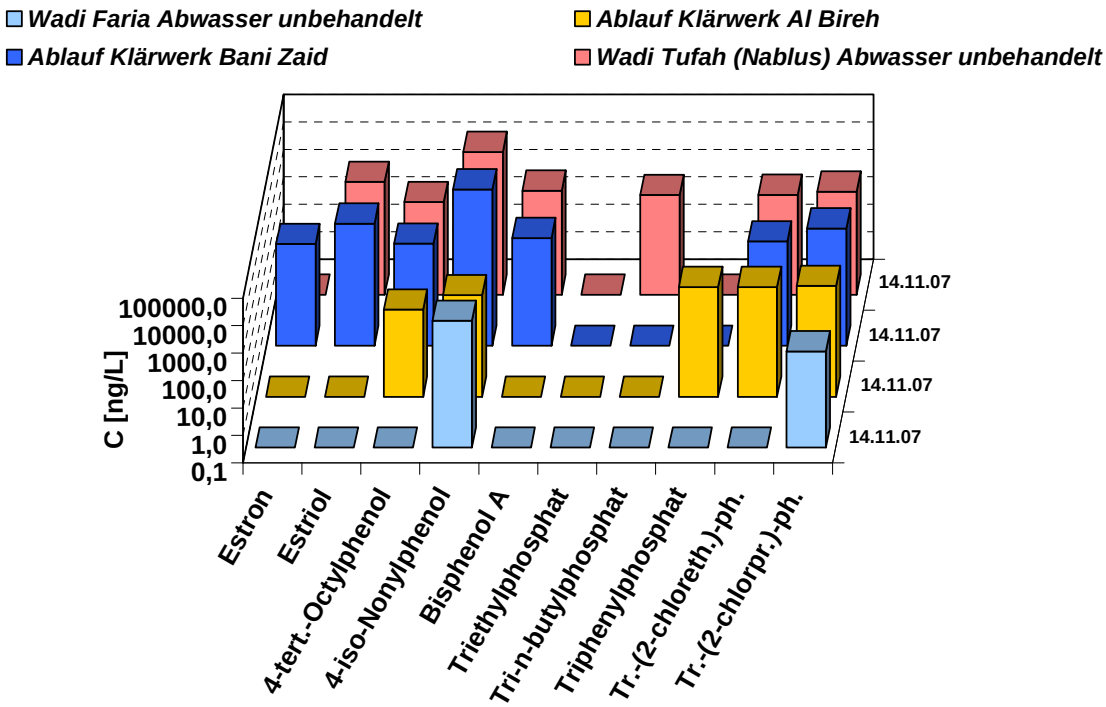


Abb. 6 Endokrin wirksame Substanzen und Trialkylphosphate in Abwässern des Unteren Jordantals, westliche Seite (West Bank)

6.1.3. Analysenkampagne Frühjahr 2008

Durch die Analysenkampagnen im Frühjahr und Herbst 2007 wurden zahlreiche persistente anthropogene Spurenstoffe in den Abwässern und Oberflächengewässern des Unteren Jordantals identifiziert. Die Schwerpunkte bildeten pharmazeutische Rückstände, endokrin wirksame Xenobiotika und Trialkylphosphate. Da die meisten dieser Verbindungen bei der konventionellen Abwasserbehandlung nur ungenügend eliminiert werden und somit in die Oberflächengewässer eingetragen werden, ist zu erwarten, dass sie über Ufer- und Flussbettfiltration auch in die Grundwässer transportiert werden. Vor diesem Hintergrund fanden im Mai 2008, sowie im November 2008 weitere Untersuchungen zum Vorkommen von anthropogenen Spurenstoffen im Grundwasser an verschiedenen Messstellen (Brunnen und Quellen) statt. Dabei wurde diesmal auch das nördliche Jordantal in die Untersuchungen mit einbezogen um über die räumliche Verteilung der Spurenstoffe im gesamten Einzugsgebiet des Jordantals deren Transport und Kontaminationsquellen zu erfassen.

Im Rahmen der Diplomarbeit von Frau Pöschko (2008) wurden im Gebiet des nördlichen, mittleren und südlichen Jordantals Proben von Oberflächengewässern, die für die Bewässerung von Agrarflächen genutzt werden, sowie jeweils 3 Grundwasserproben aus den betreffenden Gebieten genommen und am TZW analysiert. Außerdem wurden die Abläufe der Kläranlagen bei As Salt, Fuheis und Es Sir als mögliche Eintragsquellen für die persistenten Spurenstoffe beprobt. Eine Übersicht über die Probenahmestellen gibt Abb. 7.

Die anthropogenen Substanzen konnten in mehr als 90% der beprobten Grundwasserentnahmestellen nachgewiesen werden, was auf einen weit verbreiteten Einfluss von Abwasser auf das Grundwasser hinweist. Für eine hydrogeologische Beschreibung der Ergebnisse aus dieser Probenahmekampagne siehe Pöschko (2008).

Zusammen mit den Ergebnissen aus diesen Untersuchungen und den Probenahmen im Jahr 2007 wurde eine Übersicht aller bisher gemessenen Daten zum Vorkommen pharmazeutischer Reststoffe im Jordantal erstellt, (Tab. 1). Die Übersicht verdeutlicht die Persistenz iodierter Röntgenkontrastmittel (RKM). Amidotrizoesäure und Iopamidol nehmen dabei den Hauptteil der im Grundwasser nachweisbaren anthropogenen Substanzen ein. Die Tatsache, dass Amidotrizoesäure in geringeren Konzentrationen im Abwasser und Oberflächengewässer als im Grundwasser vorkommt ist vermutlich auf eine Veränderung in der Verschreibungspraxis zurückzuführen und könnte das Röntgenkontrastmittel als potentiellen „age marker“ ausweisen.

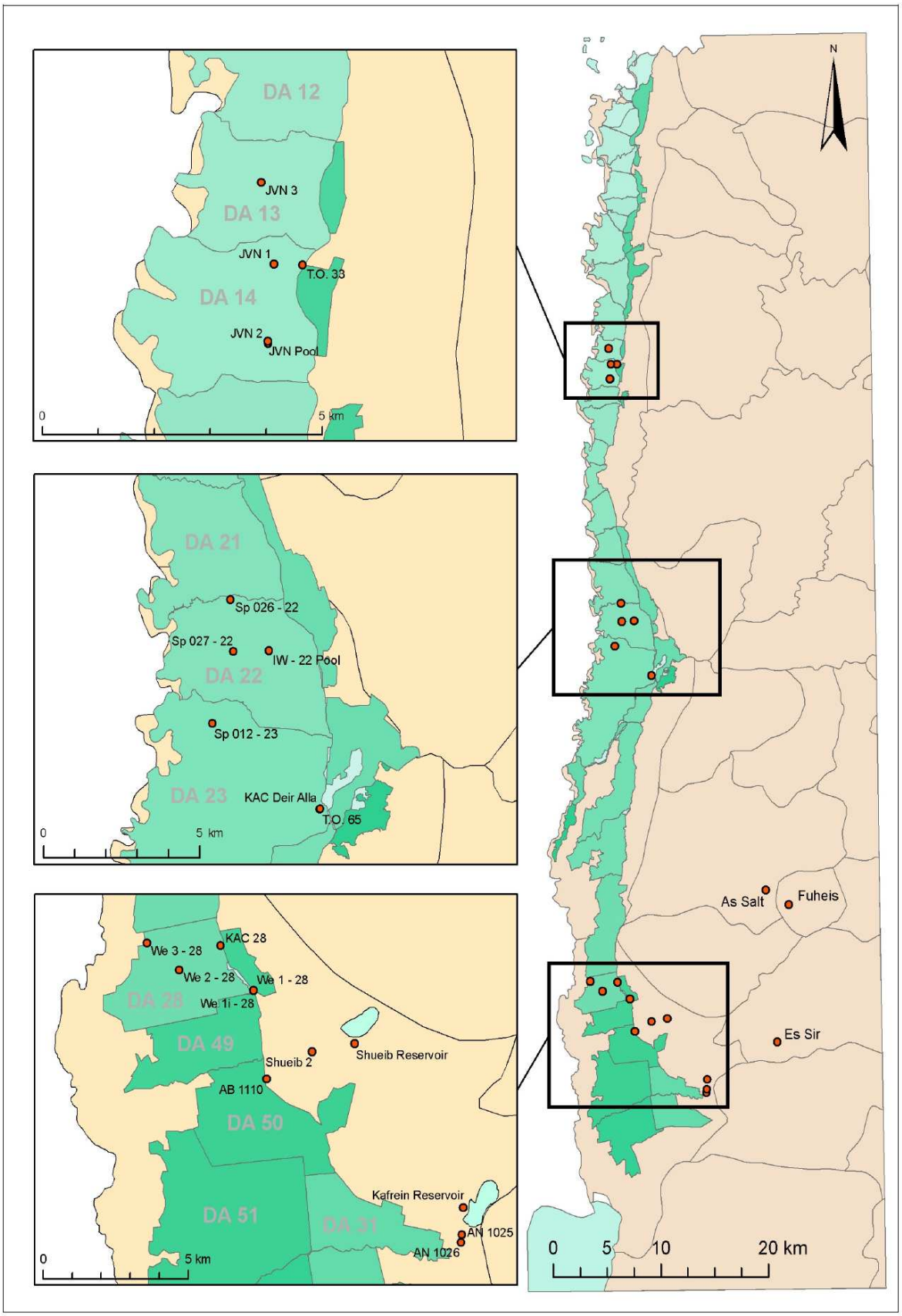


Abb. 7 Probenahmestandorte des nördlichen, mittleren und südlichen Jordantals. Die Kläranlagenstandorte sind in der Übersichtskarte dargestellt (As Salt, Fuheis, Es Sir), Quelle: Pöschko, 2008.

Tab. 1 Gemessene Konzentrationen von pharmazeutischen Reststoffen im Grundwasser (GW), Oberflächenwasser (SW) und Abwasser (WW), bei einem Detektionslimit (LOD) von 20 ng/L (GW, SW), bzw. 50 ng/L (WW).

	Samples above 50 ng/l			Median conc. of samples above LOD			Maximum concentration		
Substance	GW	SW	WW	GW	SW	WW	GW	SW	WW
	[%]	[%]	[%]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]	[ng/l]
Amidotrizoe Acid	71	50	20	120	110	110	940	170	110
Iopamidol	21	69	80	70	840	2250	760	4200	4500
Carbamazepine	7	75	80	107	305	2100	180	1000	3600
Gemfibrozil	7	75	80	70	160	1850	70	2100	4800
Iohexol	7	63	100	38	1600	360	24000	39000	1200
Iopromide	7	63	60	1600	1300	860	1600	3000	2200
Atenolol	0	6	40		28,5	770		200	1400
Bezafibrate	0	19	80		37	305		390	430
Clofibric Acid	0	0	20		31	150		33	150
Diazepam	0	0	60		13	340		13	720
Diclofenac	0	13	40		34	315		160	390
Fenofibrate	0	0	20			160			160
Ibuprofen	0	25	60		63,5	250		1400	750
Iomeprol	0	56	60		110	5900		5300	360000
Naproxen	0	19	40		82	159		550	240
Phenazone	0	0	20			150			150
Propranolol	0	0	20			91			91
				[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
Boron				0,48	0,33	0,89	2,66	0,97	1,29
Nitrate				44	20	7	178	93	13
Chloride				382	188	251	1053	894	291
total number of samples	14	16	5	14	16	5	14	16	5

Neben zeitlichen Veränderungen in der Anwendungspraxis der RKM ließen sich auch räumliche Unterschiede feststellen. So wird aus Abb. 8 zur räumlichen Verteilung der Amidotrizoesäure im Untersuchungsgebiet eine Zunahme der Konzentration im Grundwasser von Norden nach Süden ersichtlich, die auf den Abwasserfluss aus der Hauptstadt Amman (angedeutet durch grüne Pfeile) zurückzuführen ist. Eine räumliche Auftrennung verschiedener Spurenstoffmuster kann auch westlich und östlich des Jordantals festgestellt werden, wie bereits unter 6.1.2 z.B. im Hinblick auf das Röntgenkontrastmittel Ioxithalaminsäure erwähnt.

Mittels der durch die Probenahmen gewonnenen Daten zur Konzentration der persistenten Spurenstoffe in Gewässern unterschiedlicher Herkunft (Grundwasser, Oberflächenwasser, Abwasser), können, wie in Abb. 8 beispielhaft für 2 RKM dargestellt, Eintragsquelle und Verlauf dieser Stoffe nachvollzogen werden. Dies ist ein wesentlicher Schritt zur Abgrenzung von Einzugsgebieten, die zukünftig als Schutzzonen ausgewiesen werden könnten.

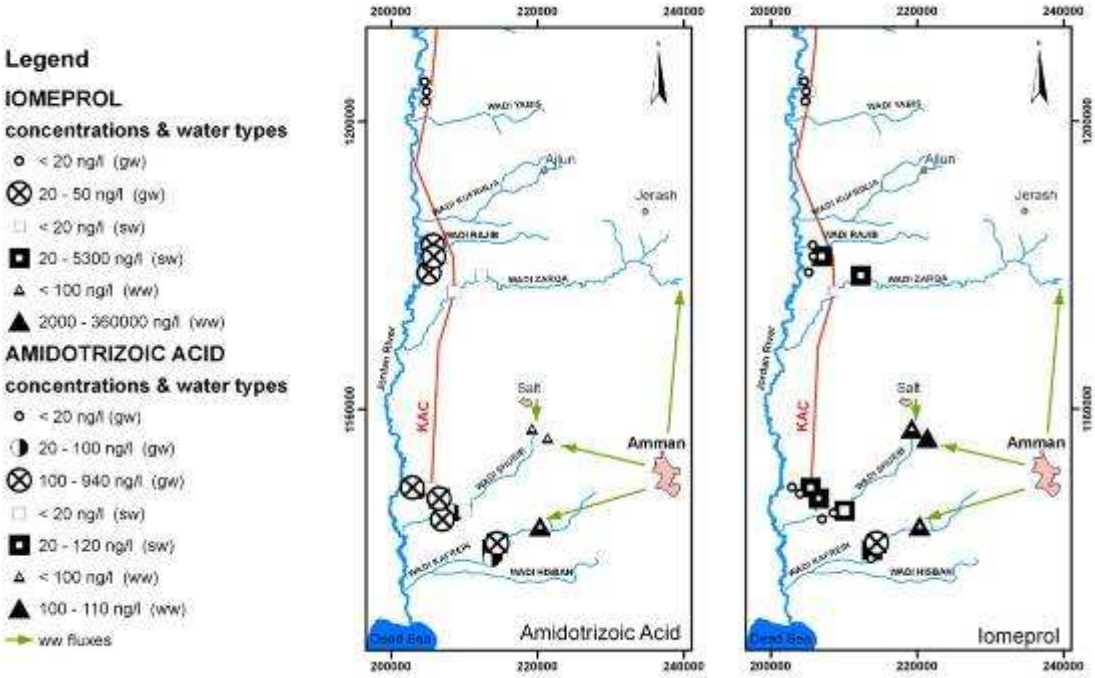


Abb. 8 Räumliche Verteilung der Röntgenkontrastmittel Iomeprol und Amidotrizoesäure im Grundwasser (GW), Oberflächenwasser (SW) und geklärtem Abwasser (WW) im Nordwesten Jordaniens

6.1.4. Analysenkampagne Herbst 2008

Die Modellregion Wadi Shueib, ist eines der am dichtesten besiedelten Einzugsgebiete des Jordantals. Um auch hier Eintrag und Verlauf anthropogener Stoffe zu untersuchen, wurde das Vorkommen von Röntgenkontrastmitteln an 5 Quellen und 2 Brunnen untersucht. Da sich diese anthropogenen Spurenstoffe als sehr resistent erwiesen haben, kann ihr Nachweis Hinweise auf die Herkunft und Verteilung anthropogener Einflüsse im Wasservorkommen der Region geben. In 4 von 5 Quellen wurde das Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure (diatrizoic acid) nachgewiesen, sowie auch in einem Brunnen bei Um Alliya, (Abb. 9). Die Nitratwerte der beprobten Quellen und Brunnen lagen zwischen 30 und 70 mg/L, was auf Abwassereinfluss hindeutet, aber auch geogene Einflüsse nicht ausschließt. Das Vorkommen der Röntgenkontrastmittel lässt jedoch eindeutig auf anthropogene Einflüsse schließen. Ausnahmen bildeten die Azzraqu Quelle und der Yesidia Brunnen, bei denen keine Röntgenkontrastmittel nachgewiesen wurden. Mit 8 mg/L wurde für die Messstelle Yesidia der niedrigste Nitratwert gemessen. Allerdings wurden erhöhte Sulfatwerte (155 mg/L) gemessen, was wahrscheinlich auf geogenen Einfluss zurückzuführen ist. Die Nitrat und Sulfatwerte der Azzraqu Quelle lagen mit jeweils 30 mg/L und 24 mg/L im unteren Bereich und lassen aufgrund des Negativbefundes für die Röntgenkontrastmittel ebenfalls auf Lösungsvorgänge im Boden schließen.

Im Zulauf der Kläranlage bei Salt, der größten Stadt des Einzugsgebietes, konnten allerdings nur Iopamidol und Iopromid nachgewiesen werden. Auch hierbei mag der Wechsel von einem RKM auf ein anderes der Grund für das Auftreten von Amidotrizoesäure in den Grund-

wässern, jedoch nicht im Kläranlagenablauf sein. Dies deutet darauf hin, dass in Folge der neuen Anwendungspraxis Iopamidol und/oder Iopromid im Grundwasser in Zukunft häufiger nachgewiesen werden könnten.

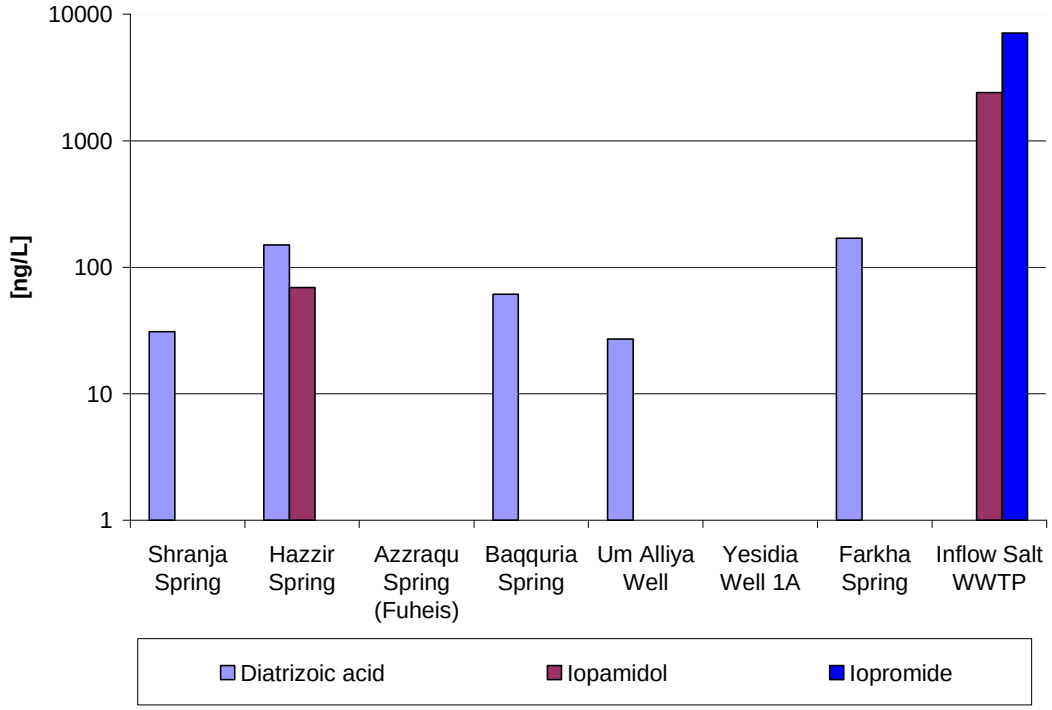


Abb. 9 Auftreten von Röntgenkontrastmitteln in Quellen (Spring) und Brunnen (Well), sowie dem Kläranlagenzulauf in Salt im Wadi Shueib

Versuchsfeld Tar-al-Mantah

Im Hinblick auf die Elimination der persistenten Spurenstoffe sollten im Rahmen des Forschungsvorhabens auch Versuche zur Versickerung von Kläranlagenablauf in der ungesättigten Bodenzone laufen, um den weitergehenden natürlichen Abbau durch Mikroorganismen zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurde zunächst die Kläranlage Tar-al-Mantah bei Deir Allah, etwa 1 Autostunde nord-westlich von Amman entfernt, ausgewählt. Es handelt sich um eine dezentrale Kläranlage, die täglich mit Abwasser aus der Region über Tankwagen beliefert wird. Nach Klärung wird das Abwasser auf ein sich direkt anschließendes Versickerungsfeld zur Grundwasseranreicherung gegeben (Abb. 10 und Abb. 11).

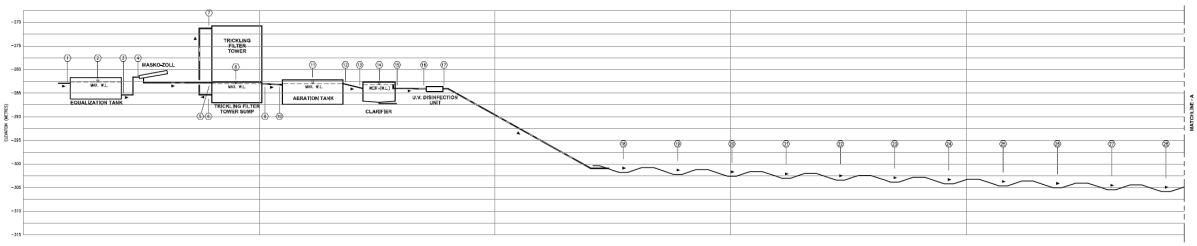


Abb. 10 Hydraulisches Profil Tar-al-Mantah mit Versickerungsfeld

Abb. 11 Blick auf das Versickerungsfeld von Tar-al-Mantah

Zur Orientierung der dort vorherrschenden Stoffzusammensetzungen wurden Zulauf, Ablauf und ein dem Versickerungsfeld angrenzende Grundwassermessstelle auf Röntgenkontrastmittel sowie eine Reihe weiterer Pharmaka, darunter auch das als persistent geltende Antiepileptikum Carbamazepin, analysiert. Zulauf und Ablauf der Kläranlage wurden am selben Tag hintereinander beprobt, weshalb die Ergebnisse in Abb. 12 einen direkten Vergleich zulassen. Durch Schwankungen der Zulaufskonzentrationen kann es auch beim Ablauf zu unterschiedlichen Konzentrationen und Stoffspektren kommen. Allerdings zeigen die Ablaufwerte, weder für Carbamazepin, noch Iopamidol, die beide bereits in mehreren Grundwasserproben detektiert wurden (Tab. 1), eine Elimination und beide wurden auch im Wasser der Messstelle nachgewiesen. Neben Iopamidol wurden auch die RKM Iomeprol und Iopromid nach Versickerung im oberflächennahen Grundwasser gefunden, was wiederum die Persistenz der Röntgenkontrastmittel unterstreicht.

Vor einigen Jahren wurde überschüssiger Klärschlamm aus der Anlage auf die erste Hälfte der Versickerungsstrecke aufgebracht. Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse aus der Brunnenbeprobung berücksichtigt werden. Auch der Schlamm kann das Stoffspektrum im Grundwasser beeinflussen.

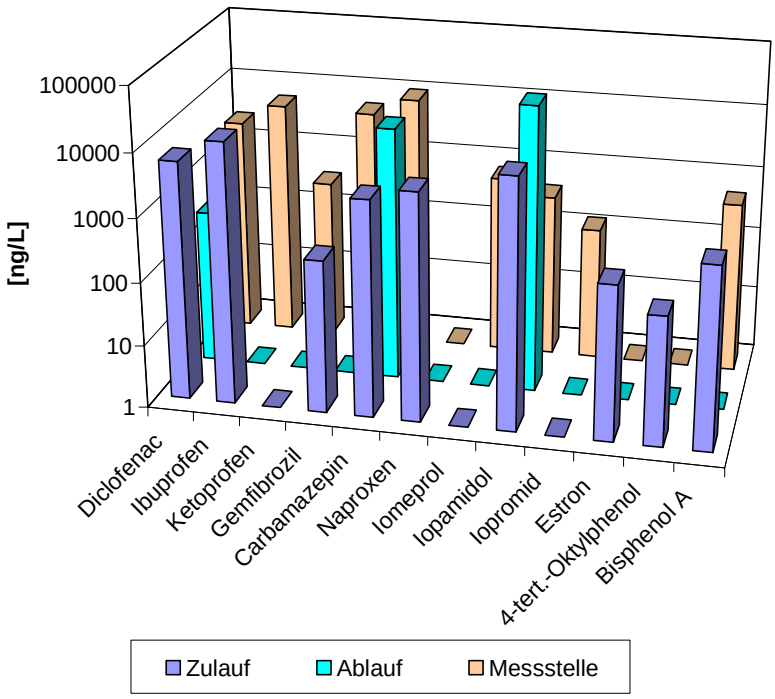


Abb. 12 Konzentrationen pharmazeutischer Reststoffe im Zulauf und Ablauf der Kläranlage Tar-al-Mantah, sowie in einem Brunnen nach Infiltration auf dem Versickerungsfeld

Neben Spurenstoffen wurden auch Betriebsparameter der Kläranlage, wie der Nitrat- und Ammoniumgehalt im Zu- und Ablauf, sowie im Brunnen, analysiert. Mit 284 mg/L Nitrat im Ablauf der Kläranlage ergibt sich eine hohe Belastung für das Versickerungsfeld. Für den hohen Nitratgehalt könnten mögliche Störungen im Betrieb der Anlage Grund gewesen sein. Allerdings wurden nur 30 mg/L Nitrat in der Brunnenprobe festgestellt, was auf denitrifizierende Bedingungen hindeutet. Die Schlammdecke könnte den freien Austausch der ungesättigten Bodenzone mit Luftsauerstoff verhindern, weshalb es zu anaeroben Verhältnissen kommt. Der Nachweis von Eisen und Mangan deutet ebenfalls auf anoxische Bedingungen im Untergrund hin. Ibuprofen, ein schmerzlinderndes Arzneimittel, das unter aeroben Bedingungen als gut abbaubar gilt, zeigte in der Messstelle eine Konzentration im oberen ng/L Bereich. Der Eintrag über den Klärschlamm und die schlechte Abbaubarkeit unter vermutlich anaeroben Bedingungen könnten zu dieser erhöhten Konzentration geführt haben.

Auf Grund der hohen Schlammbelastung und der damit einhergehenden Behinderung bei der Versickerung des aufgebrachten geklärten Abwassers im Feld, hat sich der Standort Tar-al-Mantah mittlerweile als ungeeignet für die Untersuchung von Abbauprozessen während der Bodenpassage herausgestellt. Alternativ werden nun in der 2. Projektphase Untersuchungen an Versickerungsbecken im klein-skaligen Maßstab (Volumen = 250 L) durchgeführt. Zunächst wird mit synthetischem Abwasser in einer Klimakammer gearbeitet, um unterschiedliche Temperaturereignisse zu simulieren. Vergleichend sollen darauf hin auf dem Gelände der Testfeldanlage Fuheis, unter den klimatischen Vor-Ort-Bedingungen und mit Realabwasser Versuche durchgeführt werden. Dabei wird neben den Abbauprozessen einzelner Schadstoffe auch auf die horizontalen und vertikalen Transportprozesse eingegangen

werden. Die Arbeiten erfolgen in Zusammenarbeit mit dem Institut für Hydrogeologie (KIT, Doktorarbeit Herr Zemann).

6.1.5. Zusammenfassung und weiteres Vorgehen

Durch die Analysenkampagnen im Frühjahr und Herbst 2007 konnten zahlreiche persistente anthropogene Spurenstoffe in den Abwässern und Oberflächengewässern des Unteren Jordantals identifiziert werden. Zusätzlich wurden einige der relevanten Stoffe in Grundwasserproben während der Probenahmekampagnen 2008 nachgewiesen. Die Schwerpunkte bildeten pharmazeutische Rückstände, endokrin wirksame Xenobiotika und Trilalkylphosphate. Diese Verbindungen werden sowohl über den Ablauf von Kläranlagen als auch unbehandelt abfließende Abwässer in die Oberflächengewässer eingetragen. Aus Untersuchungen in Europa und den USA wurde in den letzten Jahren bekannt, dass viele der auch im Jordantal nachgewiesenen anthropogenen Verbindungen über Ufer- und Flussbettfiltration in die Grundwässer transportiert werden können.

Für die weiteren Untersuchungen im Forschungsvorhaben von TZW und Fa. Huber hatten die Analysedaten der erstmalig für das Einzugsgebiet des Unteren Jordantals nachgewiesenen persistenten Spurenstoffe einen hohen Stellenwert. Aus vielen bisher publizierten Untersuchungen geht hervor, dass die meisten der identifizierten Verbindungen bei der konventionellen Abwasserreinigung nur ungenügend eliminiert werden. Einige wissenschaftliche Publikationen kommen allerdings zu dem Schluss, dass durch Optimierung einzelner Prozessabläufe (z.B. höheres Schlammalter im Belebungsbecken) oder Einsatz von Membranbioreaktoren der Wirkungsgrad der Spurenstoffelimination bei der Abwasserreinigung noch deutlich verbessert werden kann. Vor diesem Hintergrund liefen sowohl in einem auf der Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen aufgestellten Membranbioreaktor (siehe 6.4.2.5.12), als auch in Batch-Experimenten mit Abwasser dieser kommunalen Kläranlage (siehe 6.5.4.1) Untersuchungen zur Elimination der persistenten Spurenstoffe. Da über die Spurenstoffelimination bei der Bodenpassage bisher noch sehr wenig bekannt ist, wurden auch Experimente in Bodensäulen zum natürlichen Abbau der verschiedenen Verbindungen in der ungesättigten Zone (siehe 6.5.1) sowie weitere Batchuntersuchungen bei verschiedenen Redoxmilieus und mit unterschiedlichen Inokuli (Nitrifikanten, Methanotrophe) durchgeführt (siehe 6.5.4.2). Neben der Ermittlung optimaler Betriebsparameter stand vor allem das Prozessverständnis beim Abbau einzelner anthropogener Spurenstoffe im Vordergrund der Untersuchungen.

Des Weiteren ermöglichte die systematische Verfolgung besonders persistenter Spurenstoffe, (z.B. Röntgenkontrastmittel, Carbamazepin), im Abwasser, Oberflächen- und Grundwasser, Schadstoffquellen und Verbreitungswege zu identifizieren, um so mögliche Schutzzonen ausweisen zu können. Bei den verschiedenen Probenahmen stellten sich die Röntgenkontrastmittel auf Grund ihrer Persistenz und unterschiedlichen Einsatzpraxis in verschiedenen Gebieten (West Bank, Jordanien) als geeignete Tracer für räumlich und zeitlich aufgeschlüsselte anthropogene Einflüsse heraus.

Durch die Bewässerungspraxis mit wiederverwendetem Abwasser kann es über lange Sicht auch zum Eintrag weiterer, bisher noch nicht im Grundwasser detektierter Spurenstoffe

kommen. Deshalb spielt das Verständnis für die Abbauprozesse während der Bodenpassage eine wichtige Rolle, da die Landwirtschaft auf die Wiederverwendung geklärten Abwassers zur Bewässerung angewiesen ist und viele der Stoffe während der Behandlung in Kläranlagen nicht abgebaut werden. Die Kläranlage Tar-al-Mantah mit angeschlossenem Versickerungsfeld wurde zunächst ausgewählt, um diese Prozesse unter Real-Bedingungen zu untersuchen. Auf Grund der ungünstigen Versickerungsverhältnisse entschloss man sich für vergleichbare Laboruntersuchungen mit Versickerungswannen unter leichter zu kontrollierenden Bedingungen, welche in der 2. Projektphase durchgeführt werden sollen. Dabei wird neben den klimatischen Bedingungen auch die Versickerung in horizontaler wie vertikaler Ebene Berücksichtigung bei den Untersuchungen finden. Die Verwendung synthetischen Abwassers lässt die eingehende Untersuchung der Abbau- und Transportprozesse einzelner Stoffe zu. Die Erkenntnisse aus den Untersuchungen können dann zur Interpretation der Ergebnisse, die sich unter Vor-Ort-Bedingungen mit Realabwasser ergeben, herangezogen werden.

6.2. Entwicklung und Einsatz des PCR-Nachweises von humanpathogenen Viren und begleitenden Fäkalindikatoren in Abwasser, Oberflächenwasser und Grundwasser

6.2.1. Zielstellung

Über 140 verschiedene Typen humanpathogener enteraler Viren finden sich als Kontaminanten in Abwasser (Draft Guidelines for Drinking-water Quality Management for New Zealand 2005). Zu den häufigsten zählen Noro-, Rota-, Adeno- und Enteroviren (Water Environment Federation 1994). Begleitend finden sich weitere spezifische Indikatoren für eine virale Kontamination wie *E.coli*, die Bakteriophagen MS2, T4 und der *Bacteroides fragiles* infizierende HSP40 Bakteriophage (human strain). Das Auftreten dieser Organismen wird gleichgesetzt mit dem gleichzeitigen Vorkommen von enteralen Viren. Allerdings liefert ihre Abwesenheit keine Garantie für die gleichzeitige Abwesenheit dieser Organismen.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde der PCR-Nachweis von Viren entwickelt und eingesetzt. Die Methode setzt sich aus den Schritten Aufkonzentrierung, Nukleinsäurenextraktion, Reverse Transkription und PCR zusammen. Für die Etablierung der Methode wurde der Bakteriophage MS2 als Tracer verwendet, da dieser in seiner physischen Struktur, seinem Aufbau und der Morphologie vielen humanpathogenen enteralen Viren ähnelt. Die Nachweismethode soll dazu beitragen den Membranbioreaktor der Fa. Huber und die nachfolgende Bodenpassage hinsichtlich der Elimination ausgewählter Organismen zu bewerten. Sie bietet die Möglichkeit Wasserproben bereits vor Ort im Jordantal soweit zu konservieren (Durchführung der Aufkonzentrierung), dass nachfolgend eine Analyse der in den Proben vorhandenen Organismen am TZW möglich wird. Im Vergleich zum Kulturverfahren ergeben sich mehrere Vorteile. Zum einen steht das Kulturverfahren für bestimmte Organismen (z.B. Noroviren) nicht zur Verfügung, der PCR-Nachweis ist schneller durchzuführen und eine Probe lässt sich wiederholt und auch nach langer Lagerzeit auf unterschiedlichste Organismen testen.

6.2.2. Hintergrund

6.2.2.1. Humanpathogene Viren

Humanpathogene Viren sind obligate, intrazelluläre Parasiten, die außerhalb eines Wirtsorganismus weder wachsen noch sich vermehren können. Sie bestehen aus einem Nukleinsäuregenom umhüllt von einem Proteinkapsid und in manchen Fällen einer Lipoproteinhülle. Sie können beim Menschen eine Vielzahl von Erkrankungen auslösen. Die Infektionsübertragung erfolgt in der Regel auf direktem Wege von Mensch zu Mensch (Schmierinfektion), oder aber durch indirekte Übertragung durch kontaminierte Lebensmittel oder verunreinigtes Wasser. Die Infektionsdosis liegt im Gegensatz zu derjenigen vieler bakterieller Erreger mit durchschnittlich 10-100 infektiösen Einheiten vergleichsweise niedrig (Fleischer 1997). Für Entero- und Rotaviren wird die Infektionsdosis gar mit ein bis zehn infektiösen Einheiten angegeben (Botzenhart 2003). Humanpathogene enterale Viren finden sich im Darm, Atmungstrakt und gelegentlich im Urin infizierter Personen und gelangen mit menschlichen Ausscheidungen in das Abwasser (Hurst 1989). Spezifische Viren oder Virenstämme sind nicht immer

vorhanden, aber Repräsentanten großer Gruppen (z.B. Adenovirus oder Enterovirus) sind immer nachzuweisen, wenn auch in geringen Konzentrationen (Lewis et al. 1986).

Jeder Erkrankte scheidet große Mengen der Viren aus. Die Angaben gehen von 10^8 g^{-1} (Fleischer & Hambsch 2007) bis 10^{11} g^{-1} (Botzenhart 2007), die über die Wasser-Route weiterverbreitet werden können. Hierbei können enteropathogene Viren die Abwasserreinigung zum Teil passieren und gelangen über Oberflächengewässer in den Bereich von Badegewässern und ins Grundwasser. Bei unzureichender Aufbereitung von Trinkwasser können sie so zum Ausgangspunkt einer Infektkette werden (Fleischer 1997).

Den enteropathogenen Viren gemeinsam ist das Fehlen einer gegen fettlösliche Agenzien empfindlichen Hülle (Botzenhart 2000), was ihnen eine große Stabilität verleiht, so dass sie über lange Zeiträume (Wochen bis Monate) speziell im wässrigen Medium überleben können (Fleischer & Hambsch 2007). In der Umwelt können sie extreme pH-Schwankungen (pH 3-10) aushalten und bei niedrigen Temperaturen über lange Zeitspannen persistieren, indem sie an Partikel adsorbieren (Kocwa-Haluch 2001). In Süß- und Abwasser bleiben Viren bis zu 120 Tagen infektiös (U.S. Environmental Protection Agency, 1992). Adenoviren (Pina et al. 1998), Rotaviren (Genthe et al. 1991) und humane Enteroviren zeigen vor allem in Abwasser eine hohe Stabilität. Enteropathogene Viren werden praktisch das ganze Jahr über in die Umwelt abgegeben, wobei es zwischen den verschiedenen Virusfamilien saisonale Unterschiede gibt (Tani et al. 1995). Die Anzahl der Viren in Abwasser wird durch den hygienischen Standard, die Populationsdichte, die Jahreszeit, die Verbreitung von Infektionen innerhalb der Bevölkerung und von Impfkampanien mit Lebendvakzinen beeinflusst (Kopecka et al. 1993).

Noroviren

Noroviren sind positivsträngige unbehüllte RNA-Viren mit einem Durchmesser von 28-35 nm und einem Genom von 7,3 – 7,6 kb. Die infektiöse Dosis ist mit 10-100 Viruspartikeln niedrig. Im Anfangsstadium der Erkrankung werden bei Patienten Konzentrationen von bis zu 10^8 Viruspartikeln/g Stuhl nachgewiesen (Koopmans & Duizer 2004). Im Jahr 2004 wurden in Deutschland 67.784 Norovirus-Erkrankungen gemeldet (Robert Koch Institut, 2005). Noroviren wurden in Abwasser bereits häufig mittels Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) detektiert (Lodder et al. 1999; Lodder & de Roda Husman 2005; van der Berg et al. 2005).

Rotaviren

Rotaviren gehören zur Familie der Reoviridae und sind unbehüllte Viren mit einem Durchmesser von 75 nm. Sie bestehen aus drei konzentrischen Proteinschalen, in denen ein doppelsträngiges RNA-Genom mit 11 Segmenten eingebettet ist. Humane Rotaviren werden in hohem Maße (10^{10} bis 10^{11} Viruspartikel/g Kot) von infizierten Personen ausgeschieden und kontaminieren so vor allem das Abwasser. Im Jahr 2004 wurden in Deutschland 37.755 Rotavirus-Erkrankungen gemeldet (Robert Koch Institut 2005). Das Virus ist sehr robust und überlebt zum Beispiel Kläranlagen trotz chemischer Behandlung. Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, dass Rotaviren während des Klärprozesses häufig nicht inaktiviert werden. Leisinger und Metzler (1997) detektierten sowohl Rota- als auch Enteroviren in geklärtem Siedlungsabwasser.

Entero- und Adenoviren

Diese zwei unterschiedlichen Gruppen repräsentieren diejenigen Viren, welche am häufigsten in kontaminiertem Wasser zu finden sind. Beide Viren rufen ein breites Krankheitsspektrum hervor. Bei einer Erkrankung sind der Atmungstrakt, die Haut, Augen, Nervensystem, Leber, Herz, und Muskeln betroffen. Enteroviren sind einzelsträngige RNA-Viren. Bei Adenoviren handelt es sich um 70 bis 80 nm große, unbehüllte Viruspartikel, die als einzige Vertreter der enteralen humanpathogenen Viren eine doppelsträngige DNA besitzen. Sie weisen 41 verschiedene Serotypen auf, die meist Erkrankungen der oberen Luftwege und Bindehautentzündungen hervorrufen (Hurst 1989). Die Bedeutung und das Vorkommen von Adenoviren in Abwässern wurde lange Zeit unterschätzt (Puig et al. 1994). Pina et al. (1998) wiesen mittels PCR Adeno- und Enteroviren in kommunalem Abwasser nach. Gelang der Nachweis von Enteroviren, so war die Probe immer gleichzeitig auch positiv für Adenoviren.

6.2.2.2. Begleitende Fäkalindikatoren

Da der direkte Nachweis pathogener Viren sich oftmals schwierig gestaltet, bedient man sich des Nachweises sogenannter Indikatororganismen. Ein „guter“ Indikator sollte folgende Voraussetzungen erfüllen (Bosch 1998):

1.in Beziehung mit der Quelle des Pathogens stehen und in nicht-verschmutzten Gebieten abwesend sein

2. in höheren Konzentrationen als das Pathogen vorkommen

3.sich nicht außerhalb des Wirtsorganismus vermehren

4.ähnlich resistent gegenüber natürlicher und künstlicher Inaktivierung wie das virale Pathogen sein

5.einfach, schnell und kostengünstig nachzuweisen sein

6.nicht pathogen sein

Das Bakterium *E. coli* gilt als klassischer Fäkalindikator, erfüllt aber nicht alle genannten Voraussetzungen. Bakterielle Indikatoren besitzen für die Beurteilung von spezifischen Reinigungsverfahren wie z.B. der Membrantechnik nur eine unzureichende Aussagekraft, da sie erhebliche physiologische und morphologische Differenzen zu Viren aufweisen (Leclerc et al. 2000; Lee & Kim 2002). Drei Gruppen von Bakteriophagen haben sich dagegen als vielversprechende Modell-Organismen erwiesen: somatische Coliphagen (Morinigo et al. 1992), F-spezifische RNA-Bakteriophagen (Havelaar et al. 1986) und *Bacteroides fragilis* Bakteriophagen (Jofre et al. 1986). Bakteriophagen sind Viren, die sich über Bakterien vervielfältigen. Phagen bestehen aus einem Nukleinsäuremolekül (Genom) umgeben von einer Proteinhülle (Kapsid). In Tab. 2 ist eine Übersicht zu Konzentrationen von Bakteriophagen in verschiedenen Wasserressourcen gegeben.

Tab. 2 Konzentrationen von Bakteriophagen in verschiedenen Wasserressourcen

Phagentyp	Rohabwasser	behandeltes Abwasser	Oberflächenwasser
	gemittelte Konzentration in pfu/100mL		
Somatische Coliphagen	10^6-10^7	10^3	10^3-10^4
F-spezifische Phagen	10^4-10^5	10^3	10^2
***Bacteroides fragilis* infizierende Phagen**	10^3-10^4	10^1	10^0-10^2
Referenzen	Araujo et al. (1997); Skraber et al. (2002); Contreras-Coll et al. (2002); Duran et al. (2002); Lucena et al. (2003)		

PFU = Plaque Forming Unit

Beispiel: Bakteriophage MS2 (F-spezifischer Bakteriophage)

Der MS2-Bakteriophage ist ein ca. 27,5 nm großer, F-spezifischer Coliphage (O`Connell et al. 2006). Sein Genom besteht aus einem einzigen, positiv orientierten RNA-Strang (Bulmer 1989), enthält 3569 Nukleotide und codiert für vier Proteine: das Hüllprotein (coat), ein Reifungsprotein (maturation), das für den Zusammenbau der Phagenpartikel verantwortlich ist, ein Protein zur Lyse der Wirtszelle (lysis), sowie eine Untereinheit der RNA-Polymerase zur Replikation des Phagengenoms (replicase) (Krueger et al. 2003). Der MS2 Phage wird bevorzugt als Modellorganismus eingesetzt, da er in seiner physischen Struktur, seinem Aufbau und Morphologie vielen humanpathogenen enteralen Viren ähnelt. MS2-Phagen können sich ebenfalls in wässriger Umgebung nicht vermehren und sind resistent gegenüber Desinfektion und extremen Umgebungen. Dieses Verhalten gleicht dem enteraler Viren.

6.2.3. Methodenentwicklung

In Abb. 13 ist das schematische Vorgehen zum molekularbiologischen Nachweis von Viren aufgezeigt. Für die Methodenetablierung und –validierung wurde der Bakteriophage MS2 eingesetzt. Die einzelnen Schritte werden im Folgenden ausführlich besprochen.

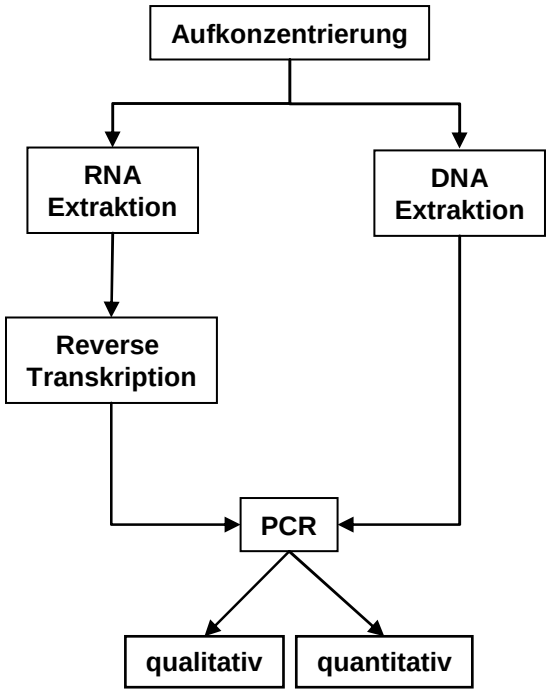


Abb. 13 Flußdiagramm der Schritte zum molekularbiologischen Nachweis von Viren

6.2.3.1. Aufkonzentrierung

Organismen sollten selbst dann noch nachweisbar sein, wenn sie in geringer Anzahl in einer Probe vorkommen. Dieses Problem kann man durch eine Anreicherung lösen. Übliche Anreicherungsmethoden sind Adsorptions-Elutionsverfahren (negativ/positiv geladene Filter, Glaswolle, Glasfaser, Aluminiumhydroxid), Präzipitation (physikalisch-chemische Flockung, Immun-Präzipitation, Polyethylenglycol Hydroextraktion) und Ultrafiltration (Lewis 2005; Mitchell & Gu 2009). Ein Großteil der verfügbaren Literatur diskutiert entweder die Aufkonzentrierung von Viren oder Bakterien, sehr selten steht die simultane Anreicherung im Vordergrund.

Um eine ausreichend hohe Aufkonzentrierung zu erreichen, müssen oft mehrere Methoden kombiniert werden. So können die Verluste für die anschließende Detektion so gering wie möglich gehalten werden. Methoden der Virenanreicherung ist gemein, dass ein gewisser Verlust an Viren wahrscheinlich ist. Außerdem kann es während der Konzentrierungsschritte auf Grund von pH-Veränderungen oder der Zugabe von potentiell toxischen Chelatoren zur Virusinaktivierung kommen. Durch die Konzentrierung der Proben werden auch Inhibitoren der molekularbiologischen Reaktionen angereichert, was zu falsch negativen Ergebnissen führen kann. Eine weitere Schwierigkeit besteht in der geringen Größe von Viren gegenüber Bakterien (Viren sind oft um Faktor 10 kleiner). Organische Flockungen bergen den Nachteil, dass organische Medien nachfolgende Detektionsmethoden (z. B. PCR) inhibieren. Dies ist auch bei Beef Extrakt, welches zur Virenelution von Filtern verwendet wird und Polyethy-

lenglycol (PEG) der Fall (Abbaszadegan et al. 1993; Mitchell & Gu 2009). Bei der Hydroextraktion-Dialyse mit PEG besteht weiterhin die Gefahr, dass Viren an den Dialysebeutel adsorbieren und inhibierende Substanzen mit aufkonzentriert werden (Lewis 2005).
Die Fällung mit Aluminiumhydroxid beruht auf Interaktionen der positiv geladenen Aluminiumhydroxid-Oberfläche und den negativ geladenen Organismen. Zwar werden Wiederfindungsraten von bis zu 70% erzielt (Block & Schwartzbrod 1989), die Methode ist jedoch nur bei kleinen Volumina anwendbar. Weitere Nachteile sind die Unspezifität der Adsorption (Reduzierung der Effizienz und Co-Konzentrierung von Inhibitoren) und der Zeitfaktor (20 h) (Block & Schwartzbrod 1989). Ultrafiltrationsmethoden wie Vortex Flow Filtration (VFF) oder Tangential Flow Filtration (TFF) zeigen hohe Wiederfindungsraten, trotzdem liegt ein großer Nachteil dieser Methoden im hohen Kostenfaktor und der langen Prozessdauer (Mitchell & Gu 2009). Weiterhin neigen die Membranen dazu, schnell zu verblocken, wodurch das prozessierte Wasservolumen stark limitiert ist. Somit ist eine Anwendung im Trinkwasserbereich nahezu ausgeschlossen. Glaswolle und Glaspuder wird ebenfalls zur Virusaufkonzentrierung eingesetzt (Bosch et al. 1998), wenn auch zu einem geringeren Anteil als Filtrationsmethoden. Für Glaspuder liegen die Wiederfindungsraten dabei nur bei 20-60% (Mitchell & Gu 2009). Vermutlich verliert Glaspuder bei der Passage von großen Volumina seine künstlich mit Polyethylenimin erzeugte positive Ladung. Die Immunpräzipitation bedient sich Antikörper beschichteten magnetischen Beads, welche spezifisch auf einen Zielorganismus ausgerichtet sind. Mittlerweile sind Beads, welche an zahlreiche Oberflächenepitope einer Vielzahl von Organismen binden, kommerziell erhältlich. Es scheint aber unwahrscheinlich, dass alle im Wasser befindlichen Organismen simultan erfasst werden können.
Untersucht man die klassischen Methoden auf ihre Eignung Viren aufzukonzentrieren, so haben sich Adsorptions-Elutionsverfahren bewährt. Unter diesen Verfahren erweist sich die Membranfiltration über Kationen-beschichtete negativ-geladene Filter am vielversprechendsten.

6.2.3.2. Kationen-beschichtete Filter Methode nach Haramoto et al. (2005)

Die Methode nach Haramoto et al. (2005) wurde wegen folgender Gründe als Aufkonzentrierungsmethode gewählt:

(a) Die Methode basiert auf der Adsorption von Partikeln mit negativer Nettoladung an einen positiv geladenen Filter (Viren, Bakterien als auch Bakteriophagen weisen eine negative Nettoladung auf (Jucker et al. 1997; You et al. 2003; Brackmann 2006)).
(b) Es werden Wiederfindungsraten von nahezu 100% erreicht.
(c) Prozessierung sehr großer Volumina möglich.
(d) Eliminierung von Inhibitoren durch einen Säure-Waschschritt, da Inhibitoren die Reverse Transkription und PCR stören.
(e) Verwendung eines anorganischen Elutionsmediums. Dieses hat gegenüber üblicherweise verwendeten organischen Elutionsmedien (z.B. Fleischextrakt) den Vorteil, dass während der PCR weniger inhibitorische Effekte auftreten (Fong & Lipp 2005).
(f) Verwendung eines trivalenten Salzes. Lukasik et al. (2000) stellten fest, dass die Zugabe von Salzen die Virusadsorption an mikroporöse Filter durch Unterstützung elektrostatischer Interaktionen zwischen Virus und Filter unterstützt, trivalente Kationen (Al^{3+}) zeigten die besten Effekte

Die Durchführung der Methode orientierte sich an dem von Haramoto et al. (2005) beschriebenen Verfahren. Zusätzlich ergänzt wurden folgende Schritte:

1. Bei Bedarf Vorfiltration der Proben durch einen Faltenfilter, um größere Partikel zu entfernen, welche bei der eigentlichen Aufkonzentrierung den Filter verblocken würden (Anwendung beispielsweise bei Kläranlagenzuläufen).
2. Einführung eines 10-minütigen Inkubationsschritts des Elutionspuffers vor Elution der Viren.
3. Erweiterung der Methode um einen Elutionsschritt, da die Adsorption von Viren an die Wand des Probenahmegefäßes die Wiederfindung nach neuesten Studien bereits nach wenigen Tagen um bis zu 95% reduziert (Butot et al. 2007).
4. Minimierung von Verlusten durch Einführung zweier weiterer Aufkonzentrierungsschritte um ein Endvolumen von 50 µL zu erreichen, welches vollständig für die Nukleinsäureextraktion verwendet werden kann.

Während der Methodenentwicklung wurde der MS2-Bakteriophage in einer Zielkonzentration von 10^7 pfu/L jeweils 1 L Kläranlagenablauf zugesetzt.
Die Proben werden durch einen Faltenfilter filtriert. 10 mL 1 mM NaOH (pH 10,8) werden in die entleerte Probenahmeflasche gegeben und diese 20 min geschüttelt, um adsorbierte Viren von der Flaschenwand abzulösen und die Ausbeute zu erhöhen. Das Filtrat und Eluat werden anschließend vereinigt. Zur Durchführung der Methode nach Haramoto et al. (2005) wird ein HA-Filter (0,45 µm Porendurchmesser, 47 mm Durchmesser, Millipore) bestehend aus einer Zellulosemischestermembran zunächst mit 5 mL 250 mM $AlCl_3$ gespült, um einen Kationen (Al^{3+})-beschichteten Filter zu erhalten. Das vorfiltrierte Wasser wird über den beschichteten Filter gegeben. Hierbei treten folgende Effekte auf:

(a) Ausbildung von Salzbrücken zwischen Virus und Filter (Abb. 14)
(b) Wechseln der Ladung des Filters
(c) pH-Absenkung
(d) Bildung von Flocken, die Viren adsorbieren und dann physikalisch an den Filter gebunden werden

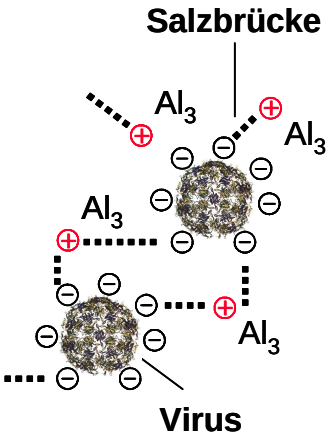


Abb. 14 Ausbildung von Salzbrücken zwischen dem negativ geladenen Organismus und Al^{3+}-Ionen

Anschließend wird der Filter mit 200 mL 0,5 mM H_2SO_4 (pH 3,0) gespült, um Aluminiumionen und Inhibitoren zu entfernen. Die Organismen bleiben dagegen weiterhin auf dem Filter haf-

ten. In einem letzten Schritt werden sie mit 10 mL 1 mM NaOH (pH 10,8) eluiert, wobei der Filter zunächst 10 min mit dem Elutionspuffer inkubiert wird. Das Filtrat wird anschließend mit 50 µL 100 mM H_2SO_4 (pH 1,0) und 100µL 100x Tris-EDTA Puffer (pH 8,0) neutralisiert.
In Abb. 15 sind die beschriebenen Schritte der Aufkonzentrierung nochmals schematisch dargestellt.

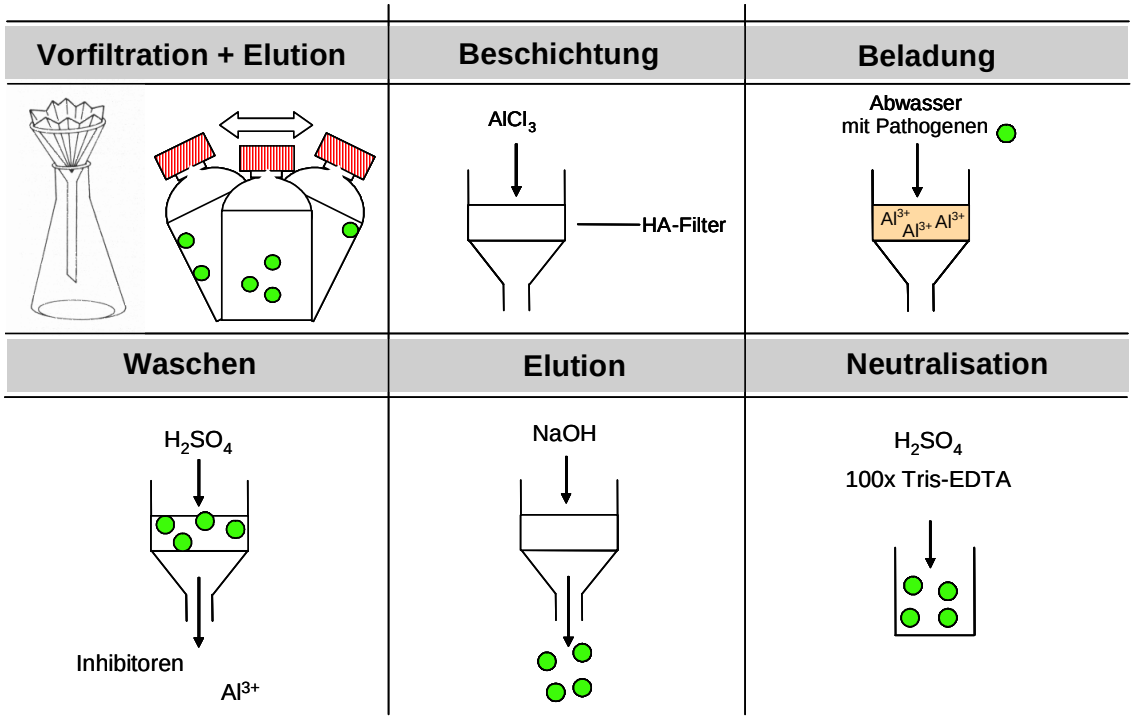


Abb. 15 Aufkonzentrierung bis zu einem Restvolumen von 10 mL

Die verbliebenen 10 mL werden in weiteren Schritten bis auf 50 µL eingeengt (Abb. 16). Ein Volumen von 50 µL kann vollständig für die Nukleinsäureextraktion verwendet werden, womit kein Probenverlust entsteht. Es wurde ein Molecular Weight Cut Off (MWCO) der Membranen von 30 kDa gewählt. Für Viren und Bakteriophagen mit einer Größe von bis zu 30 nm wird üblicherweise ein MWCO von 30-50 kDa empfohlen. Der MWCO sollte immer mindestens 50% kleiner als die Größe des Organismus/Moleküls sein, welches aufkonzentriert werden soll.

Mit dem Vivaspin 15R Konzentrator (VIVASCIENCE Sartorius Group) werden die 10 mL für 30 min bei 6000xg auf 500-1000 µL eingeengt. Bei der Zentrifugation ist auf die korrekte Orientierung der Membran im Festwinkel Rotor zu achten. Das verbliebene Volumen wird in einem nachfolgenden Schritt mit dem Roti®-Spin MINI Konzentrator (Carl Roth GmbH) auf ein Endvolumen von 50 µL aufkonzentriert. Es wird 5 min bei 14.000xg zentrifugiert (Abb. 16). Das Endvolumen kann dem Probenreservoir entnommen und bis zur weiteren Verarbeitung kühl gelagert werden.

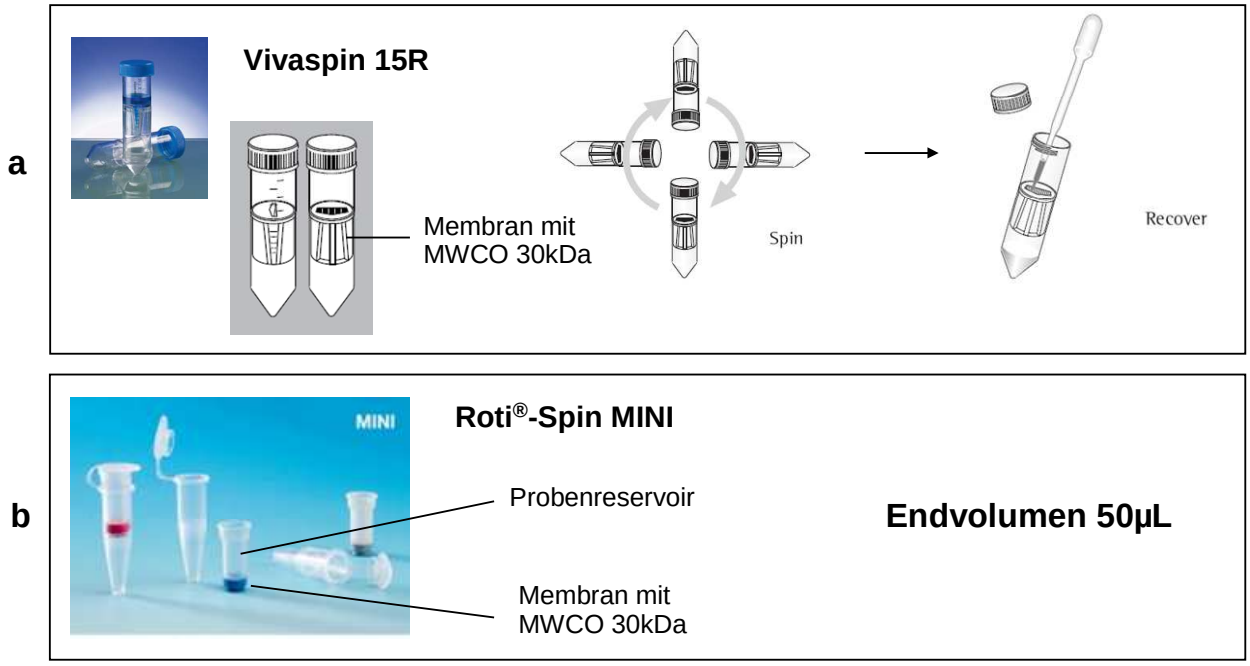


Abb. 16 Einengung der Probe durch Verwendung von (a) Vivaspin 15R und (b) Roti®-Spin MINI Konzentratoren auf 50 µL Endvolumen

6.2.3.3. DNA/RNA Extraktion

Von den Organismen, die mit PCR detektiert werden sollen, besitzen einige ein RNA- (z.B. der verwendete MS2-Bakteriophage), andere ein DNA-Genom. Da die Organismen gemeinsam in dem Konzentrat vorliegen, bietet sich aus Kosten- und Zeitgründen eine simultane Extraktion von DNA und RNA an. Verwendet wurde der ViralXpress™ Nucleic Acid Extraction Kit (Chemicon International). Der Kit ist ursprünglich auf die Extraktion viraler DNA und RNA aus klinischen oder Zellkulturproben ausgelegt. Durch seine einfache Konzeption (keine Verwendung von Säulen) konnte das Protokoll ohne Modifikation für die Extraktion aus Umweltproben eingesetzt werden.

Mit den 50 µL Konzentrat wird laut Protokoll des verwendeten Kits verfahren. Das Pellet wird bei 30℃ im Thermoblock getrocknet um Spuren von Et hanol zu entfernen. Das DNA/RNA Pellet wird in Nuclease-freiem Wasser aufgenommen und das Extrakt wird im Folgenden aufgeteilt. Eine Hälfte kann sofort in die PCR zur Detektion von DNA-haltigen Organismen eingesetzt werden. Die andere Hälfte wird einer cDNA Synthese unterzogen. Es ist auf eine schnelle Weiterverarbeitung zu achten, da RNA sehr instabil ist.

6.2.3.4. cDNA Synthese (Reverse Transkription)

Mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase kann aus RNA die dazu komplementäre cDNA hergestellt werden. Diese spezifische, RNA-abhängige DNA-Polymerase benötigt hierzu einen Primer (ein kurzer, komplementärer DNA-Abschnitt) zur Synthese, welcher an die RNA bindet. In der angewandten Methode ist dies ein *random* Hexamer (Oligonukleotide bestehend aus sechs zufällig zusammengesetzten Nukleinbasen).

Verwendet wurde der cDNA Synthesis Kit der Firma Bioline. Es wird zunächst folgende Mischung (Tab. 3) auf Eis angesetzt:

Tab. 3 Primäransatz für die cDNA Synthese

Reagenz	Volumen (µL)
RNA	4
Random Hexamers	1
10 mM dNTP	1
DEPC-behandeltes H_2O	4
Σ	**10**

Der Ansatz wird 10 min bei 65℃ inkubiert und dann für 2 min auf Eis gestellt. Anschließend wird folgende Reaktionsmischung (Tab. 4) zupipettiert und bei 46℃ im Heizblock 50 min inkubiert. Die Reaktion wird bei 70℃ für 15 min ab gestoppt.

Tab. 4 Sekundäransatz für die cDNA Synthese

Reagenz	Volumen (µL)
5x BioScript Puffer	4
RNase Inhibitor	1
BioScript (200 U/µL)	0,25
DEPC-behandeltes H_2O	4,75
Σ	**10**

Die erhaltene cDNA kann nun in die PCR eingesetzt werden.

6.2.3.5. Qualitative PCR

Die PCR basiert auf der enzymatischen Amplifikation (Vervielfältigung) eines spezifischen DNA-Bereichs (Abb. 17).

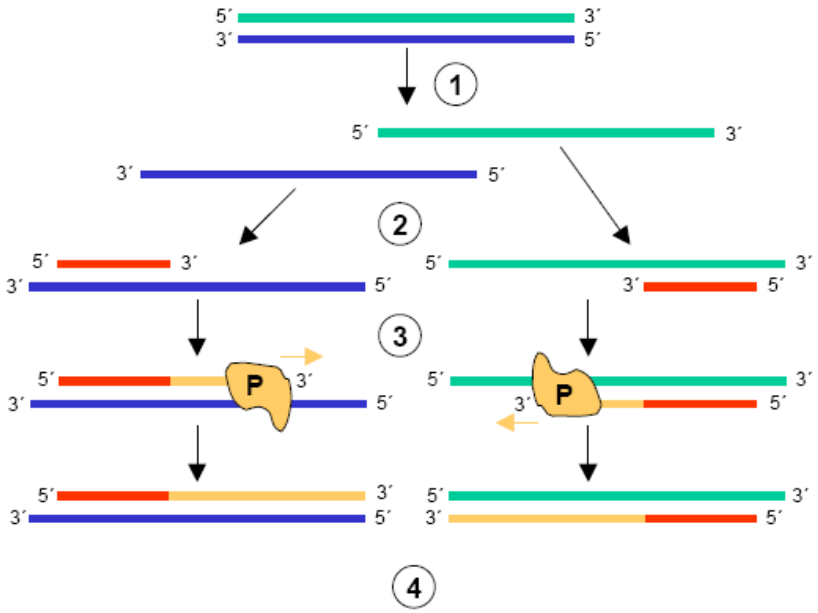


Abb. 17 Die verschiedenen Schritte einer PCR (1) Denaturierung (2) Primerannealing (3) Polymerasekatalysierte Synthese des DNA-Strangs (4) Wiederholung

Die Reaktion läuft in drei Schritten ab. Zunächst wird der DNA-Doppelstrang durch Hitzebehandlung in zwei Einzelstränge getrennt. Anschließend lagert sich an beiden DNA-Strängen

jeweils ein Primer an, der in seiner Basensequenz komplementär zu einem Teilbereich der DNA ist. Der DNA-Bereich, den man amplifizieren will, wird nun von zwei Oligonukleotid-Primern flankiert. Die Primer werden mit in der Reaktionsmischung befindlichen Desoxynukleotiden (die vier Basen der DNA: Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin) verlängert. Eine hitzestabile DNA-Polymerase (P) katalysiert diese Reaktion, in dessen Verlauf die Einzelstränge zum Doppelstrang aufgefüllt werden. Als Produkt erhält man zwei neue, doppelsträngige DNA-Moleküle, zusammengesetzt aus jeweils einem Elternstrang (Parentalstrang) und einem neu entstandenem Strang (Tochterstrang). Die Doppelstränge werden erneut hitzedenaturiert und der Reaktionszyklus beginnt von Neuem.

Durch Wiederholung der einzelnen Schritte erhält man nach 30 Reaktionszyklen eine millionenfache Anreicherung des zwischen den beiden Primern liegenden DNA-Bereiches. Die Zusammensetzung des PCR Reaktionsansatzes ist in Tab. 5 dargestellt.

Tab. 5 Zusammensetzung des PCR Reaktionsansatzes

	Konzentration	**Volumen (µL)**
H_2O		12,85
Puffer	10x	2
dNTPs	je 10 mM	0,8
Primer A	10 pmol/µL	0,8
Primer B	10 pmol/µL	0,4
Taq Polymerase	5 U/µL	0,15
DNA-Template		3
Σ		**20**

Die Methodenoptimierung und Validierung erfolgte über die Detektion des MS2-Bakteriophagen, für den folgendes Temperaturprofil im PCR-Cycler verwendet wurde (Tab. 6).

Tab. 6 PCR Temperaturprofil zur Detektion des MS2-Bakteriophagen

Zyklen	**Temperatur**	**Zeit**
1	95℃	2 min
39	95℃ 50℃ 72℃	2 s 12 s 10 s
1	72℃	8 min
	4 ℃	∞

Es wird jeweils eine Negativkontrolle (H_2O reinst.) und eine Positivkontrolle mitgeführt. Die PCR Produkte werden auf ein 0.8%iges Agarose Gel geladen, die Banden durch Ethidiumbromid, welches dem Gel zugegeben wird, unter UV-Licht sichtbar gemacht und das Ergebnis dokumentiert. Bei jedem Lauf wird ein entsprechender Größenmarker (DNA-Marker pBR328 Mix I) mitgeführt, um die Produktgröße bestimmen zu können.

6.2.3.6. Primerauswahl

In Tab. 7 sind die nach Literaturrecherche ausgewählten Primer zur Detektion diverser Organismen in Feldproben, in Proben des Membranbioreaktors und des Säulenversuchs aufgeführt.

Tab. 7 Zusammenstellung der Primer

Detektion von	Produktlänge (bp)		Primerpaar	Quelle
Noroviren Genogruppe I	84	**Noro-G1-F**	5`-CGY TGG ATG CGN TTY CAT GA-3`	Katayama et al. 2002
		Noro-G1-R	5´-CTT AGA CGC CAT CAT CAT TYA C-3`	
Noroviren Genogruppe II	97	**Noro-G2-F**	5`-CAR GAR BCN ATG TTY AGR TGG ATG AG-3`	Haramoto et al. 2005
		Noro-G2-R	5`-TCG ACG CCA TCT TCA TTC ACA-3`	
Enteroviren	149	**Entero-F**	5`-TGT CAC CAT AAG CAG CC-3`	Abbaszadegan et al. 1993
		Entero-R	5`-TCC GGC CCC TGA ATG CGG CT-3`	
Adenoviren A-F	482	**Ad1**	5´-TTC CCC ATG GCI CAY AAC AC-3`	Xu et al. 2000
		Ad2	5`-CCC TGG TAK CCR ATR TTG TA-3`	
Rotaviren Gruppe A	186	**Rota_VP6-F**	5`-GCT TTA AAA CGA AGT CTT CAA C-3`	Villena et al. 2003
		Rota_VP6-R	5`-GGT AAA TTA CCA ATT CCT CCA G-3`	
E. coli	147	**UAL-754**	5`-AAA ACG GCA AGA AAA AGC AG-3`	Tsai et al. 1994
		UAR-900	5`-ACG CGT GGT TAC AGT CTT GCG-3`	
Bakteriophage MS2	314	**MS2-2717-F**	5`-CTG GGC AAT AGT CAA A-3`	Dreier et al. 2005
		MS2-3031-R	5`-CGT GGA TCT GAC ATA C-3`	
Pseudomonas aeruginosa	222	**gyrB-F**	5`-CCT GAC CAT CCG TCG CCA CAA C-3`	Quin et al., 2003
		gyrB-R	5`-CGC AGC AGG ATG CCG ACG CC-3`	
Coliforme	326	**Coli-F**	5`-ATG AAA GCT GGC TAC AGG AAG GCC-3`	Bej et al., 1990
		Coli-R	5`-GGT TTA TGC AGC AAC GAG ACG TCA-3`	

6.2.4. Real-time PCR zum quantitativen Nachweis des MS2-Bakteriophagen

Die Real-time PCR ist eine schnelle Technik zum quantitativen und spezifischen Nachweis von Mikroorganismen, die auf dem Prinzip der herkömmlichen PCR beruht. Diese molekularbiologische Methode ermöglicht es, die Amplifikation von spezifischen DNA-Regionen durch Zugabe entsprechender Fluorophore in Echtzeit zu messen. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu, was eine Quantifizierung ermöglicht. Um während der Real-time PCR-Amplifikation entstehende PCR-Produkte messen zu können, stehen einige gängige Verfahren zur Verfügung. Hierzu gehören interkalierende Farbstoffe wie z. B. SYBR® Green I, Lux-Primer und Fluoreszenz Resonanz Energietransfer (FRET)-Sondensysteme (Hybridisierungssonden, TaqMan-Sonden, Molecular Beacons und Scorpion-Primer). Alle Verfahren beruhen auf einer Änderung der Fluoreszenz, die gemessen werden kann. SYBR® Green ist die einfachste und kostengünstigste Methode und wurde aus diesem Grund für die Real-time PCR-Assays ausgewählt.

Der Fluoreszenzfarbstoff lagert sich in die DNA ein bzw. bindet an die doppelsträngige DNA, wodurch die Fluoreszenz dieser Farbstoffe ansteigt (Abb. 18).

Um mit Hilfe der Fluoreszenzmessung während der PCR-Zyklen eine Quantifizierung des Ausgangsmaterials durchführen zu können, benötigt man DNA-Standards, die das Amplikon in bekannter Kopienzahl enthalten. Verdünnungen dieser Standards können in die Real-time PCR eingesetzt werden, um eine Standardkurve zu ermitteln, anhand derer man die Kopienzahl unbekannter Proben bestimmen kann. Hierzu wird der „Threshold Cycle“ (C_t-Wert) herangezogen, der angibt, in welchem Zyklus die Fluoreszenz über die Hintergrundfluoreszenz ansteigt.

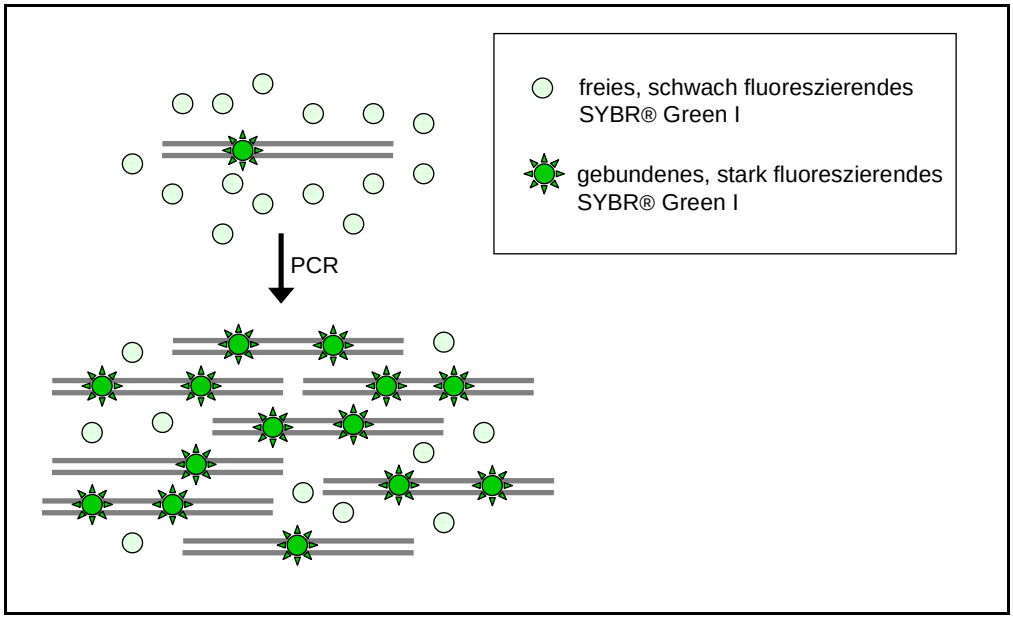


Abb. 18 Prinzip der Real-time PCR mit SYBR® Green I

6.2.4.1. Herstellung der Standards für die Real-time PCR

Um die Standards herzustellen, waren genehmigungspflichtige gentechnische Arbeiten erforderlich. Diese Arbeiten wurden nach dem Einreichen eines entsprechenden Antrags genehmigt und durchgeführt.

Bei den Real-time PCR-Standards handelt es sich um DNA, bei der die Anzahl der Genkopien bekannt ist. Vor allem Plasmid-DNA mit entsprechenden Inserts ist als Standard geeignet. Es wurde nach dem in Abb. 19 gezeigten Schema vorgegangen.

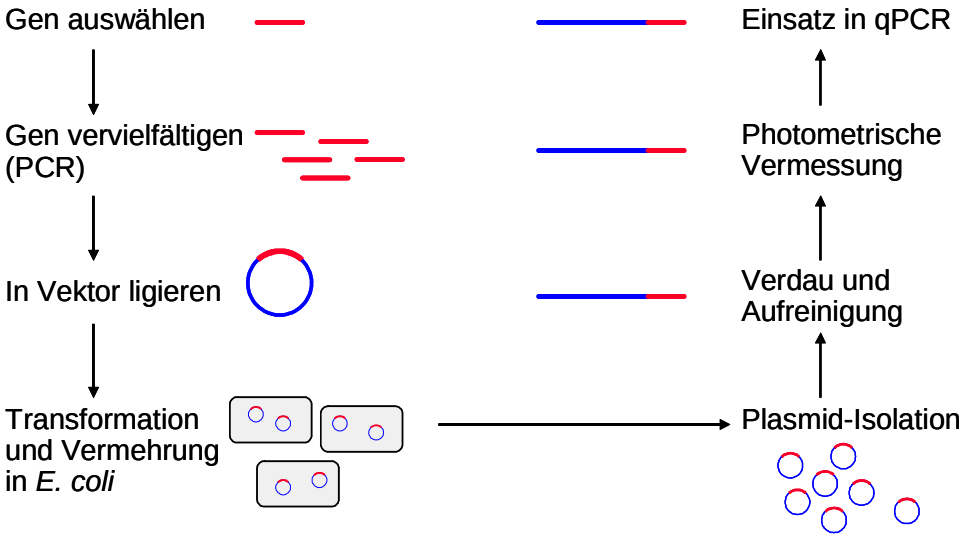


Abb. 19 Vorgehen zur Herstellung von Real-time PCR Standards

Die Kopienzahl wurde folgendermaßen berechnet:

$$\text{pmol(dsDNA)} = \mu\text{g(dsDNA)} \cdot \frac{10^6\ \text{pg}}{1\mu\text{g}} \cdot \frac{1\text{pmol}}{660\ \text{pg}} \cdot \frac{1}{N_{bp}} = \frac{\mu\text{g(dsDNA)} \cdot 1515{,}15}{N_{bp}}$$

Formel 1 Berechnung der Molmenge des Standards (nach Reim, 1999)

$$\begin{aligned}\text{Kopienzahl(Gen)} &= x\ \text{pmol(dsDNA)} \cdot 6{,}023 \cdot 10^{23}\ \text{Teilchen/mol} \\ &= x \cdot 10^{-12}\ \text{mol} \cdot 6{,}023 \cdot 10^{23}\ \text{Teilchen/mol} \\ &= x \cdot 6{,}023 \cdot 10^{11}\ \text{Teilchen}\end{aligned}$$

Formel 2 Berechnung der Kopienzahl der Standards

Wobei:

N_{bp} = Anzahl der bp = bp(pGEM) + bp(Insert)

Formel 3 Berechnung der Basenpaarzahl des Standards

Die hergestellten PCR-Standards wurden in die Real-time PCR eingesetzt, um geeignete PCR-Bedingungen für die quantitative Real-time PCR zu ermitteln. Hintergrund hierfür ist, dass es theoretisch bei jedem Zyklus zu einer Verdopplung des PCR-Produkts kommen kann, entsprechend einer Effizienz der PCR von 100%. Diese optimale Kinetik entspricht jedoch nicht der Realität. Zum einen schließt sich der Phase der exponentiellen Amplifikation eine Plateauphase an, in der sich die Reaktion durch kompetitive Effekte zwischen Primer und Template oder durch absolute oder relative Verarmung an einem der nötigen Reaktionspartner (z.B. begrenzte oder im Verlauf der Reaktion abnehmende Enzymaktivität bei steigender Templatekonzentration oder Verbrauch der Primer) verlangsamt und schließlich zum Erliegen kommt. Zum anderen beeinflussen zahlreiche systematische und zufällige Faktoren die PCR-Effizienz auch während der exponentiellen Phase: Die Sequenzen von Template und Primer, die Auswahl und Konzentrationen der Reaktionspartner und der Pufferverhältnisse (z.B. Mg^{2+}), die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren (z.B. Huminstoffe), sowie Pipettierungenauigkeit. Es ist daher nicht zulässig, ohne weiteres von der Menge des PCR-Produkts am Ende der Reaktion auf die Menge des PCR-Edukts zu Beginn der Reaktion zu schließen. Es muss eine sehr sorgfältige Optimierung und Normierung der PCR stattfinden.

Von jedem DNA-Standard wurde eine dekadische Verdünnungsreihe hergestellt und in kleine Aliquots abgefüllt, die bei -20°C gelagert wurde n. Diese Verdünnungen wurden in die Real-time PCR mit SYBR Green als Fluorochrom eingesetzt und für jede Verdünnung der entsprechende C_T-Wert ermittelt. Der C_T-Wert gibt an, bei welchem Zyklus die Fluoreszenz der Probe über die Hintergrundfluoreszenz ansteigt und ist abhängig von der Anfangskonzentration des Templates. Enthält eine Probe zu Beginn viele Kopien des zu amplifizierenden Gens, reichen wenige Zyklen aus, um die Fluoreszenz über den Schwellenwert der Hintergrundfluoreszenz (Threshold) ansteigen zu lassen und man erhält einen niedrigen C_T-Wert. Die Auswertungssoftware des Real-time PCR-Gerätes ermittelt die optimale Lage des Schwellenwerts. Weil der Schwellenwert und die C_T-Werte bei sehr geringen Fluoreszenzwerten liegen, betrachtet man sie in einer anderen Darstellung. Dazu wird die normalisierte Fluoreszenz auf der y-Achse gegen die Zyklenzahl auf der x-Achse aufgetragen (Abb. 20A). Im nächsten Schritt trägt man die C_T-Werte gegen die bekannte Konzentration der Standards auf und erhält so eine Kalibriergerade (Abb. 20B). Im Fall der qPCR dient diese Gerade als Standardkurve, anhand derer man die Kopienzahl mit Hilfe des C_T-Werts der unbekannten Proben ablesen kann.

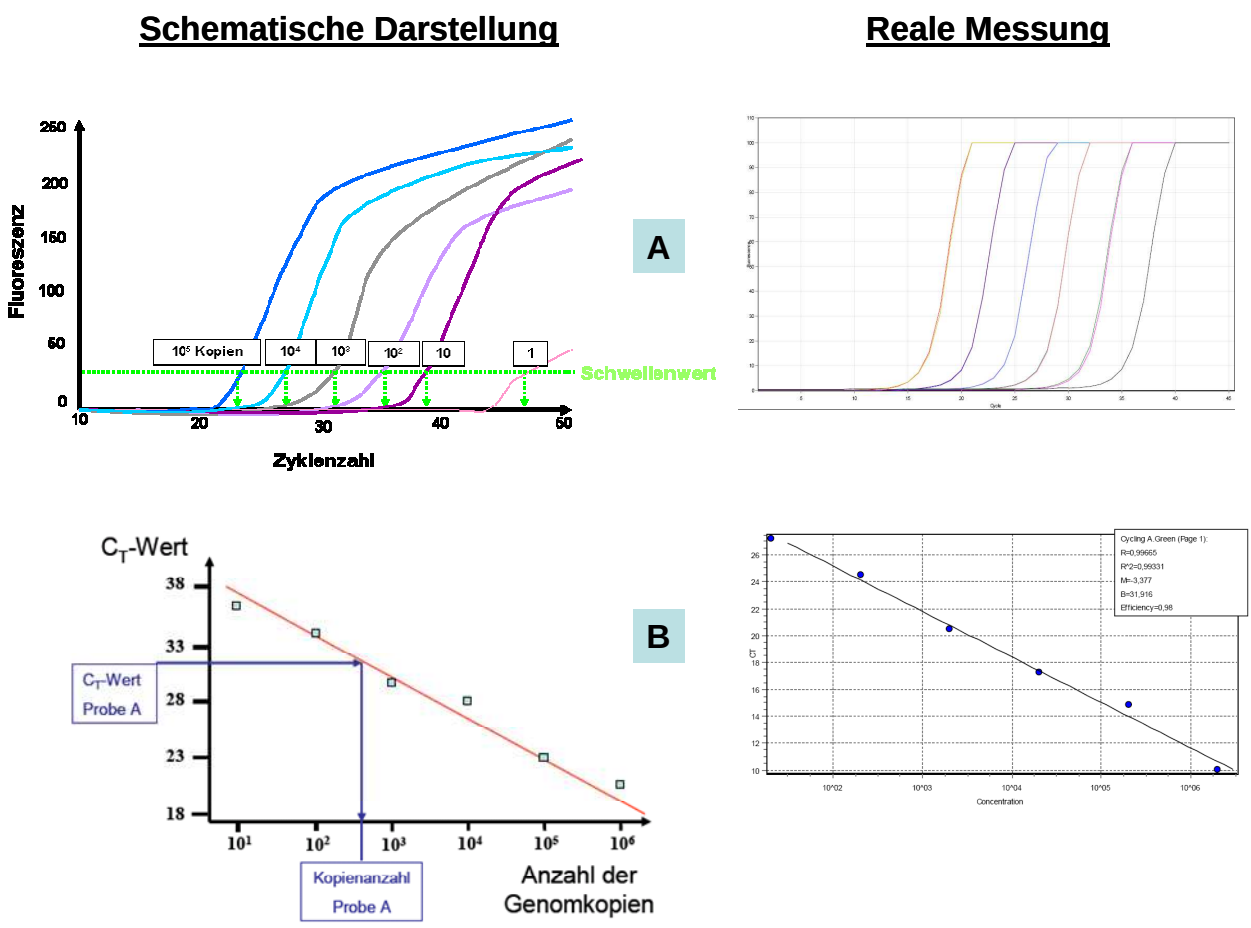


Abb. 20 Schematische Darstellung im Vergleich zur realen Messung: Auftragung der normalisierten Fluoreszenz gegen die Zyklenzahl (A); Kalibriergerade (B)

Zusätzlich liefert das Programm einige Werte, mit denen sich die Qualität des Laufs beurteilen lässt. Wichtig ist, dass die Standardkurve linear verläuft. Dies ist der Fall, wenn der Korrelationskoeffizient nach Pearson r größer als der Betrag von -0,990 und das Bestimmtheitsmaß R^2 größer als 0,980 ist. Diese beiden Werte der Standardkurve zeigen wie linear die Daten sind. Um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten, macht man Doppelt- oder Dreifachansätze jedes Standards. Die C_T-Werte sollten bei den Parallelproben gleich sein, ihre Abweichung ist auch ein Maß für die Genauigkeit des Experiments. Ein weiteres Qualitätsmerkmal ist die Amplifikationseffizienz, die angibt, wie viel Template in jedem Zyklus amplifiziert wurde. Diese wird mit folgender Formel berechnet:

$$E = 10^{-1/\text{Steigung der Standardkurve}}$$

Formel 4 Berechnung der Amplifikationseffizienz

Idealerweise verdoppelt sich die Templatemenge in jedem Zyklus, was einer Effizienz von E = 2 entspricht. Durch Umstellen der Gleichung errechnet sich daraus -3,32 als ideale Steigung der Standardkurve. Meist wird die Effizienz in Prozent ausgedrückt und folgendermaßen berechnet:

$$\%\,\text{Effizienz} = (E - 1) \cdot 100\%$$

Formel 5 Effizienz bei der Real-time PCR

Damit ergibt sich für die oben genannte ideale Reaktion eine Effizienz von 100%. In der Praxis sollte die Effizienz einer Reaktion zwischen 90% und 105% liegen.

Um die Produktspezifität der Reaktion zu untersuchen, wird am Ende jeden Laufs eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Dazu werden die Ansätze in kleinen Schritten von 55℃ auf 99℃ erhitzt und die Fluoreszenz gemessen. Der Schmelzpunkt eines DNA-Fragments ist abhängig von der Basensequenz und der Fragmentlänge. Zwischen den Basen sind Wasserstoffbrückenbindungen, die durch Hitze gelöst werden. Je mehr Basenpaare ein Fragment enthält, desto höher ist die Temperatur, bei der sich die Doppelstränge trennen. Zwischen den Basen Guanin und Cytosin der DNA befinden sich drei Wasserstoffbrücken, zwischen Adenin und Thymin aber nur zwei. Es braucht also mehr Energie ein GC-Paar zu trennen, als ein AT-Paar. Unter Fragmenten gleicher Länge haben diejenigen mit hohem GC-Gehalt den höheren Schmelzpunkt. Wenn die dsDNA denaturiert und in Einzelstränge zerfällt, nimmt die Fluoreszenz ab. Die negative erste Ableitung der Fluoreszenz, also die Steigung, wird gegen die Temperatur aufgetragen. War die Reaktion spezifisch und wurde nur ein Produkt gebildet, dann hat die Kurve nur einen Peak. Sind mehrere Peaks pro Ansatz zu sehen, gab es Nebenprodukte, die das Ergebnis verfälschen können.

Durch Variieren der Reaktionsbedingungen, wie z.B. Annealingtemperatur oder -dauer, lassen sich schlechte Effizienzwerte oft verbessern. Auf diese Weise wurde mit Hilfe der DNA-Standards für jedes Nachweissystem ein Temperaturprogramm ermittelt, bei dem die oben aufgezählten Bedingungen eingehalten werden.

Im nächsten Schritt wurden Realproben (Kläranlagenablauf) in die Real-time PCR eingesetzt, um die ermittelten PCR-Bedingungen zu überprüfen.

6.2.4.2. Optimierung der Real-time PCR und Schmelzkurvenanalytik

Die PCR wurde nach dem Schema in Tab. 8 angesetzt.

Tab. 8 Zusammensetzung des PCR-Reaktionsansatzes

	Konzentration	**Mix [µL]**	**Finale Konzentration**
H_2O		8,5	
2x Sensi Mix (No R-OX inkl. SYBR Green; Fa. Quantance)	2x	12,5	1x
Primer A	10 pmol/µL	1	0,4 µM
Primer B	10 pmol/µL	1	0,4 µM
DNA-Template		2	
Σ		**25**	

Folgendes PCR-Programm brachte eine Effizienz von 98% (Tab. 9).

Tab. 9 Real-time PCR Temperaturprofil zur Detektion des MS2-Bakteriophagen

Zyklen	**Temperatur**	**Zeit**
1	95℃	15 min
45	94℃	15 s
	50℃	30 s
	72℃	30 s
	55℃-99℃	Melt

Abb. 21 zeigt eine Schmelzkurvenanalyse der amplifizierten PCR-Produkte. Man sieht einen einzelnen scharfen Peak bei 86℃. Während der Ampli fikation werden also keine unspezifischen Produkte synthetisiert.

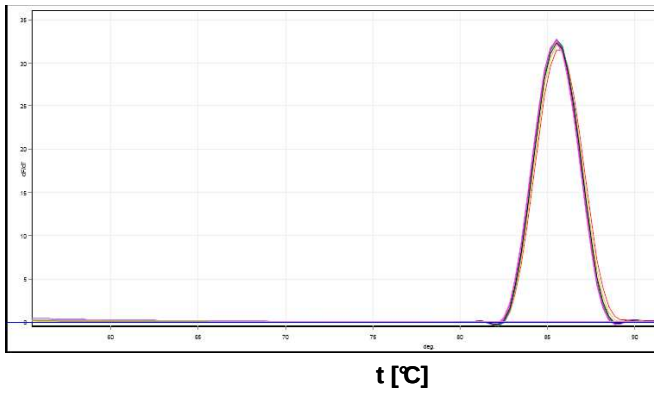


Abb. 21 Schmelzkurvenanalyse

6.2.5. Screening von Feldproben: Frühjahr/Herbst 2007

Im Frühjahr 2007 wurden im Bereich der jordanischen Seite des unteren Jordantals 6 Wasserproben aus Oberflächengewässern (unterschiedlich mit Abwässern belastet), 1 Ablauf einer Kläranlage und Wasser aus einer Trinkwasserquelle entnommen.

Im Herbst 2007 folgten 11 Wasserproben (9 Oberflächenwässer, 1 Grundwasser, 1 Klärwerksablauf) von der jordanischen Seite, sowie 4 Abwasserproben (2 Klärwerksabläufe, 2 ungeklärte Abwässer) aus der West Bank.

Die Feldproben wurden auf die Anwesenheit von MS2 Bakteriophagen, Noroviren Genogruppe I, Rotaviren Gruppe A und Adenoviren getestet. Eine detaillierte Aufstellung findet sich in der Tab. 10 und der Tab. 11. Positive Befunde sind blau unterlegt.

Tab. 10 Ergebnis des Screenings vom Frühjahr 2007, OW = Oberflächenwasser, GW = Grundwasser, WWTP = Waste Water Treatment Plant, TW = Trinkwasser

Probenbezeichnung (Probenahmedatum/ Probeneingang TZW)	**Herkunft**	**MS2 Baktrio-phage**	**Rotavirus Gruppe A**	**Adenovirus**	**Norovirus Geno-gruppe I**
Wadi Es Sir before treatment plant (30.03.2007/14.04.2007)	WWTP Zulauf (OW)				
Hwarat deverion weir from King Talal Redervoir (30.03.2007/14.04.2007)	OW				
Mixing Water 5th stage Arda (30.03.2007/14.04.2007)	OW				
Yarmouk Deir Allah near pumping to Amman (30.03.2007/14.04.2007)	OW				
Bahat+Es Sir+WWTP Es Sir outflow (30.03.2007/14.04.2007)	WWTP Ablauf (OW)				
Bahat Spring drinking water source (30.03.2007/14.04.2007)	TW				
King Talal Reservoir upper part (30.03.2007/14.04.2007)	OW				
Wadi Es Sir WWTP outflow (30.03.2007/14.04.2007)	WWTP Ablauf				

Tab. 11 Ergebnis des Screenings vom Herbst 2007, OW = Oberflächenwasser, GW = Grundwasser, WWTP = Waste Water Treatment Plant, TW = Trinkwasser

Probenbezeichnung (Probenahmedatum/ Probeneingang TZW)	**Herkunft**	**MS2 Bakterio-phage**	**Rotavirus Gruppe A**	**Adenovirus**	**Norovirus Geno-gruppe I**
Wadi Shueib Reservoir (26.11.2007/12.12.2007)	OW				
King Abdullah (Deir Allah KAC before mixing) (28.10.2007/13.11.2007)	OW				
Effluent King Talal Reservoir (KTD before mixing) (28.10.2007/13.11.2007)	OW				
King Abdullah after influent King Talal Reservoir (28.10.2007/13.11.2007)	OW				
Wadi Kafrein Well 3 (19.11.2007 08:00 / 12.12.2007)	GW				
Wadi Tufah Nablus (19.11.2007/26.11.2007)	Abwasser unbehandelt				
Faria Area (19.11.2007/26.11.2007)	Abwasser unbehandelt				
Bani Zaid (19.11.2007/26.11.2007)	WWTP Ablauf				
Wadi Shueib WWTP (25.11.2007/12.12.2007)	WWTP Ablauf				
Biren outflow Al Bireh WWTP (20.11.2007/26.11.2007)	WWTP Ablauf				
Wadi Kafrein Pool (18.11.2007 16:00 / 12.12.2007)	Zulauf Testfeld (OW)				
Wadi Kafrein Pool (18.11.2007 22:00 / 12.12.2007)	Zulauf Testfeld (OW)				
Wadi Kafrein Pool (19.11.2007 04:00 / 12.12.2007)	Zulauf Testfeld (OW)				
Wadi Kafrein Pool (19.11.2007 10:00 / 12.12.2007)	Zulauf Testfeld (OW)				
Wadi Kafrein Pool (25.11.2007 10:00 / 12.12.2007)	Zulauf Testfeld (OW)				

Es zeigte sich, dass alle Viren zu finden sind. Manche Proben sind stärker belastet, andere gänzlich unbelastet.

Insgesamt waren 16 Proben (69,6%) für mindestens einen Virus positiv. Eine detaillierte Aufschlüsselung findet sich in den Abb. 22 und Abb. 23.

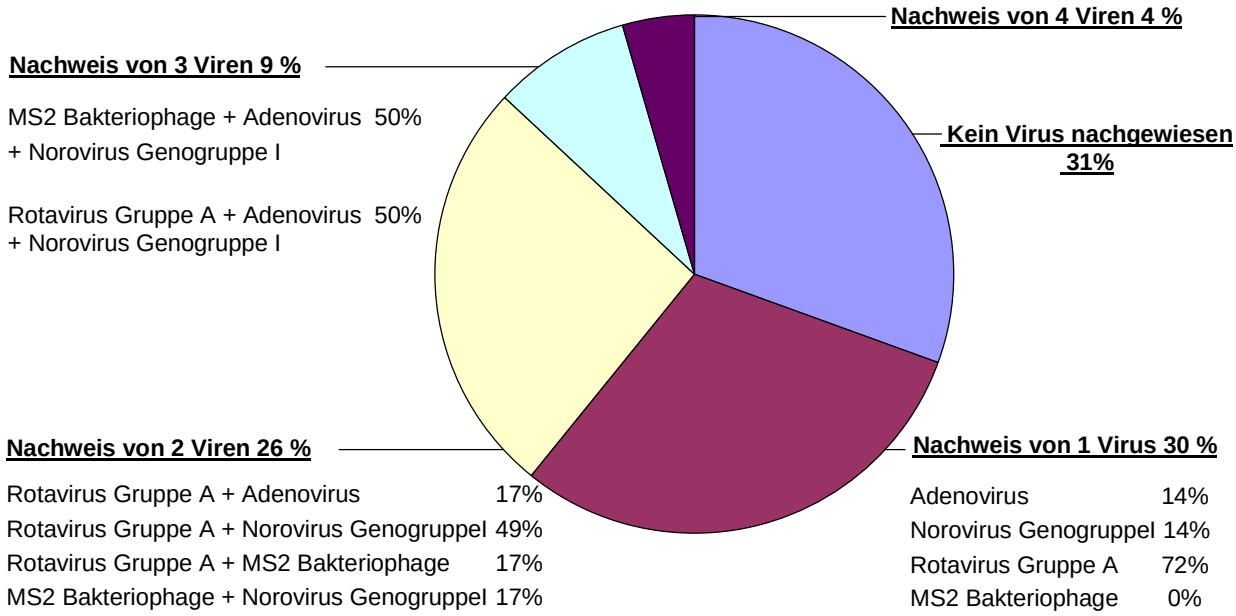


Abb. 22 Aufschlüsselung nach Anzahl und Art der detektierten Viren

Ein oder zwei verschiedene Viren wurden in sieben (30%) beziehungsweise sechs (26%) Proben gefunden. Drei Viren gleichzeitig waren in zwei Proben (9%) und alle vier Viren nur in einer von 23 Proben (4%) nachweisbar. Der MS2 Bakteriophage trat nie allein, sondern immer zusammen mit anderen Viren auf. Die Rotaviren der Gruppe A dominierten unter allen untersuchten Viren mit 72%, wenn der Virus allein nachgewiesen wurde und auch in Kombination mit anderen Viren. Die Ergebnisse bestätigen vorangegangene Untersuchungen, in denen der Rotavirus als ubiquitär erkannt wurde: 95% aller Kinder weltweit infizieren sich im Alter von drei bis fünf Jahren mit dem Rotavirus (Parashar et al. 1998). Auch in einer deutschen Studie stellten sich Rotaviren als dominierende Gruppe in Oberflächenwässern heraus (Fleischer & Hambsch 2007).

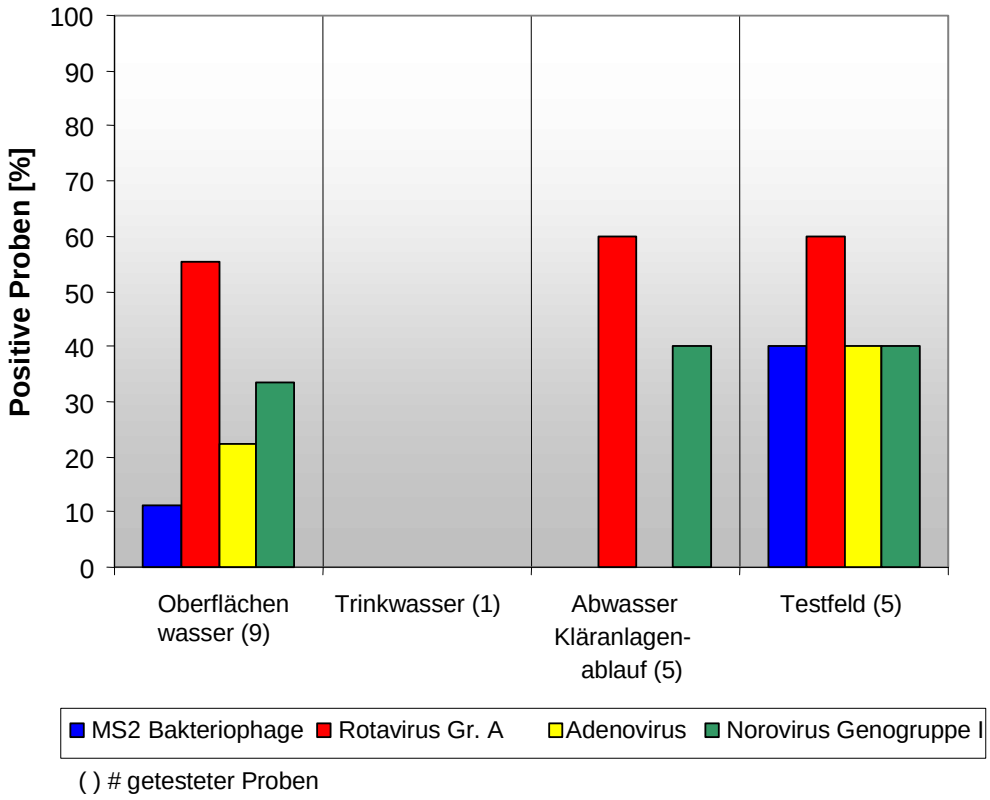


Abb. 23 Vergleich verschiedener Probenahmestellen bezüglich des Auftretens von Viren

6.2.6. Screening von Feldproben: Frühjahr 2008

Zwischen dem 28.04.2008 und dem 02.05.2008 wurden im Jordantal von Frau Anke Pöschko (Pöschko 2008) im Rahmen ihrer Diplomarbeit insgesamt 25 Proben genommen: Oberflächenwasser (9), Grundwasser (13) sowie drei Kläranlagenabläufe. Die Proben trafen erst nach einem über 2-wöchigen Transport am TZW ein. Der Großteil der Proben war klar und ließ sich leicht filtrieren. Tab. 12 zeigt das Ergebnis des Screenings.

Insgesamt waren 7 Proben (28%) für mindestens einen Virus positiv. Alle drei Kläranlagenabläufe zeigen einen negativen Befund. Bei der vorangegangenen Probenahme im Jahr 2007 war der Ablauf der Kläranlage Es Sir noch positiv auf Rotaviren getestet worden; ebenso der Zulauf. Grund für die unterschiedlichen Befunde auf Rotaviren im März 2007 und Mai 2008 ist wahrscheinlich die Chlorierung des Ablaufs, die vor allem in den Sommermonaten Anwendung findet. Dann werden die Wadis auch als Erholungsgebiete genutzt, weshalb eine weitergehende Keimelimination durch Chlorierung durchgeführt wird. Die Ergebnisse von Vaughn et al. (1986) stützen diese Aussage, denn sie konnten zeigen, dass Rotaviren ab einer Chlorkonzentration von 0,3 mg/L vollständig eliminiert werden. Die Chloridgehalte des Ablaufs der Kläranlage Es Sir liegen mit Konzentrationen von 251 mg/L im Mai 2008 und 97 mg/L im März 2008 weit über diesem Wert. Noroviren sind im Vergleich zu anderen Virusarten resistenter gegenüber Chlor, aber auch für Noroviren ist eine Chlorkonzentration von 10 mg/L ausreichend zur Desinfektion (Keswick et al. 1985). Chlor wirkt auf Viren, indem es mit den Proteinen, aus denen das Kapsid besteht, reagiert und somit die virale RNA oder DNA freigesetzt wird. Zusätzlich reagiert das Chlor mit der freien Nukleinsäure und nimmt dem Virus die Fähigkeit zur Replikation (Block 2001).

Der MS2 Bakteriophage wurde in zwei Proben nachgewiesen (8%) (Abb. 24).

Tab. 12 Ergebnis des Screenings vom Frühjahr 2008, OW = Oberflächenwasser, GW = Grundwasser, WWTP = Waste Water Treatment Plant, TW = Trinkwasser

Probenbezeichnung	Herkunft	MS2 Bakteriophage	Rotavirus Gruppe A	Adenovirus	Norovirus Genogruppe I
Es Sir	WWTP Ablauf				
Kafrein Reservoir	OW				
AN 1025	GW				
AN 1026	GW				
As Salt	WWTP Ablauf				
Fuheis	WWTP Ablauf				
Shueib Reservoir	OW				
Shueib 2	GW				
AB 1110	GW				
We 1-28	GW				
We 1 Pool	OW				
We 2-28	GW				
We 3-28	GW				
KAC-28	OW				
Sp 012-23	GW				
Sp 026-22	GW				
Sp 027-22	GW				
IW 22 Pool	OW				
T.O. 65	OW				
Deir Allah KAC	OW				
JVN 1	GW				
JVN 2	GW				
JVN Pool	OW				
JVN 3	GW				
T.O. 33	OW				

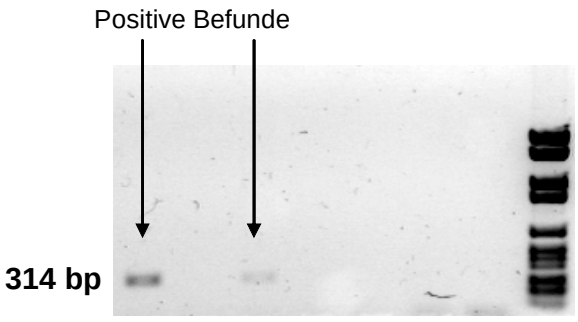


Abb. 24 Screening auf MS2 Bakteriophagen Frühjahr 2008

Vier Proben waren positiv auf Adenoviren (16%), zwei auf Rotaviren (8%) und nur eine Probe auf Noroviren (4%). Alle Banden waren sehr schwach, was auf geringe Virus-Konzentrationen schließen lässt.

In drei Probenahmekampagnen wurden insgesamt 48 Feldproben (Kläranlagenzu- und abläufe, Oberflächenwasser, Grundwasser, Trinkwasser) auf das Vorkommen von MS2 Bakteriophagen, Rotaviren, Noroviren und Adenoviren untersucht. Von allen Proben waren 48% positiv für mindestens einen Virus. In 12,5 % der Proben ließ sich der MS2 Bakteriophage nachweisen, in 29% der Rotavirus, in jeweils 19% Adeno- und Noroviren.

6.2.7. Probenkonservierung/Stabilitätsversuch

Aufgrund der langen Transportwege der Proben von ihrem Herkunftsort ist es von großem Interesse, die Proben direkt am Probenahmeort zu konservieren/stabilisieren. Verbleiben die Wasserproben über einen längeren Zeitraum (z.B. mehrere Wochen) in den Probenahmegefäßen, so kommt es zu einer Anlagerung der Viren an die Flaschenwand. Während der letzten Projektphase wurde deshalb ein zusätzlicher Elutionsschritt eingeführt, um die angelagerten Viren abzulösen und die Verluste zu verringern. Trotzdem ist davon auszugehen, dass lange Standzeiten die Verluste erhöhen.

Idealerweise sollen die Proben am Ort der Probenahme möglichst zeitnah für den Transport stabilisiert werden. Hierzu wird der erste Teil der Aufkonzentrierung durchgeführt (Abb. 25).

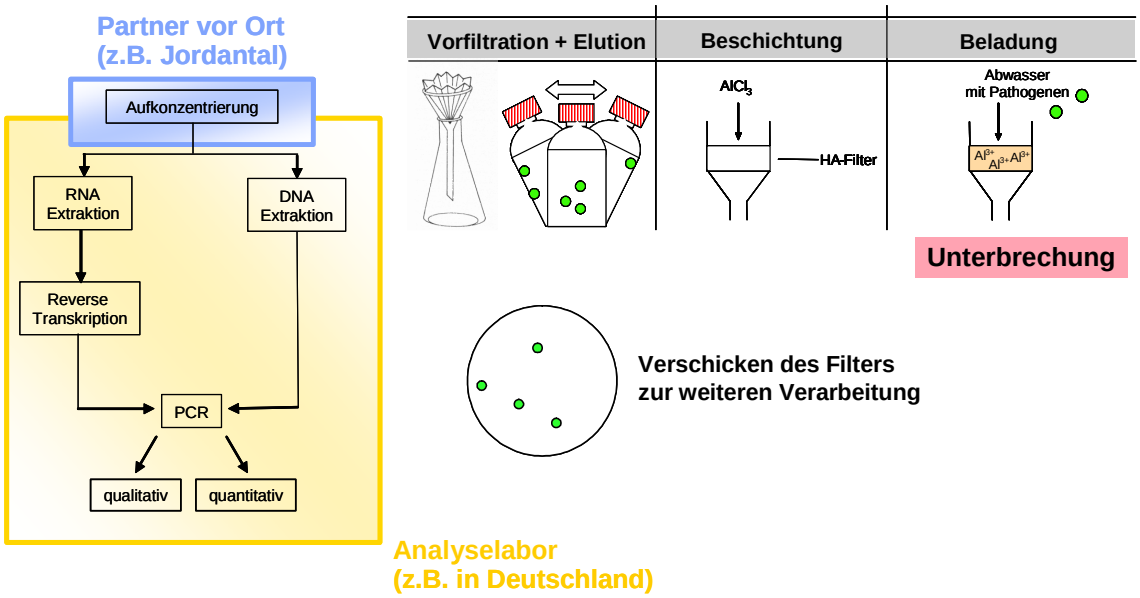
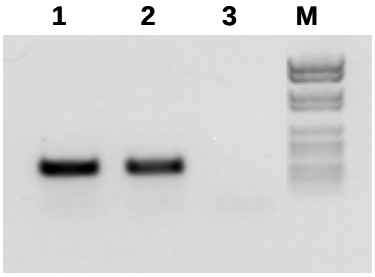


Abb. 25 Durchführung eines Teils der Aufkonzentrierung zeitnah am Ort der Probenahme. Anschließend wird der Filter zur weiteren Verarbeitung an das Analyselabor verschickt.

Zu Testzwecken wurden einem Liter Kläranlagenablauf MS2-Phagen zudosiert (Endkonzentration 10^7pfu/mL) und die Wasserproben über einen Kationen (Al^{3+})-beschichteten Filter prozessiert. Der Filter wurde anschließend mit der beladenen Seite nach innen in ein 1,5 mL-Reaktionsgefäß überführt und für 4 Wochen kühl gelagert. Nach dieser Zeit wurde mit der Aufkonzentrierung und den nachfolgenden Schritten fortgefahren. MS2 Bakteriophagen wur-

den in Proben vor und nach Lagerung mittels PCR bestimmt. Der qualitative Vergleich zeigt nur eine geringe Abnahme der Bandenintensität nach der Lagerungszeit (Abb. 26).



1 vor der Lagerung
2 nach der Lagerung
3 no template control

Abb. 26 Qualitative PCR zur Überprüfung der Probenkonservierung

Eine Überprüfung durch quantitative Real-time PCR zeigte einen Konzentrationsverlust von einer log-Stufe nach 4-wöchiger Lagerzeit.

Prinzipiell kann aber die Aussage getroffen werden, dass eine teilweise Aufkonzentrierung vor Ort und die Probenkonservierung möglich und auch sinnvoll ist.

6.2.8. Methodische Besonderheiten

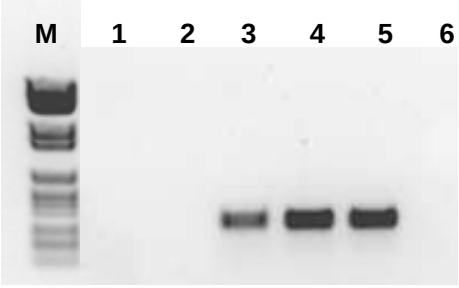
Im Verlauf der Methodenetablierung und –optimierung zeigten sich methodische Besonderheiten für die Detektion von MS2-Bakteriophagen, die im Folgenden erläutert werden.

6.2.8.1. Auswirkungen von Tryptonsalz auf den Nachweis von MS2-Bakteriophagen

Während der Projektdauer wurden wiederholt Versuche zum Abgleich von Kulturverfahren und PCR durchgeführt. Hierzu wurden dekadische Verdünnungsreihen von MS2-Bakteriophagen in einer Tryptonsalzlösung angesetzt. Die standardmäßig verwendete Lösung (EN ISO 10705-1:2001) wurde für den Nachweis von MS2-Phagen geringfügig abgeändert und besteht zu gleichen Teilen aus A. dest. und Leitungswasser mit Zugabe von Tryptonsalz. Tryptonsalz dient vorrangig der Stabilisierung der Phagen; durch die Verwendung eines konservativen Wassers ohne hohe Partikelkonzentration soll eine Adsorption der Phagen vermieden werden. Die Verdünnungen können anschließend direkt ausplattiert werden. Um gleiche Ausgangsbedingungen für Kulturverfahren und Detektion mittels PCR zu haben, wurde die Verdünnungsreihe doppelt angesetzt. Eine Hälfte wurde in das Kulturverfahren eingesetzt, die andere der Aufkonzentrierung nach Haramoto et al. (2005) unterzogen und bis zur PCR wie üblich weiter prozessiert.

Mehrere Wiederholungen brachten bei der PCR kein Ergebnis, selbst die höchste Konzentration von 10^{11} pfu/100 mL lieferte keine Bande auf dem Gel. Nachdem systematisch methodische Fehler (Verwendung eines neuen cDNA-Synthese-Kits, veraltete Lösungen, etc.) ausgeschlossen worden waren, wurde der Schluss gezogen, dass es an der Verdünnungslösung liegen muss.

In einem abschließenden Test wurde die Verdünnungsreihe mit und ohne Zugabe von Tryptonsalz durchgeführt. Abb. 27 zeigt eindeutig, dass die Proben ohne Tryptonsalzzugabe ein Ergebnis liefern, die Proben mit Tryptonsalz wieder ein negatives Ergebnis ergeben.



1 9,5x10^{11} MS2-Phagen/100mL Prozesswasser **mit** Tryptonsalz
2 9,5x10^{11} MS2-Phagen/100mL Prozesswasser **mit** Tryptonsalz; 1:10
3 9,5x10^{11} MS2-Phagen/100mL Prozesswasser **ohne** Tryptonsalz
4 9,5x10^{11} MS2-Phagen/100mL Prozesswasser **ohne** Tryptonsalz; 1:10
5 Positivkontrolle (10^{6} pfu/mL)
6 no template control

Abb. 27 Auswirkung von Tryptonsalz auf den Nachweis von MS2-Bakteriophagen

Das Ergebnis zeigt, dass Tryptonsalz einen der Schritte während der MS2 Detektion inhibiert.

6.2.8.2. Falsch negative Ergebnisse

Während der PCR-Detektion des MS2-Bakteriophagen zeigte sich, dass häufig nur bei einer 1:10 verdünnten DNA eine Bande auf dem Gel, d.h. positives Ergebnis, zu sehen war. Wurde die Probe unverdünnt eingesetzt fiel das Ergebnis negativ aus. Zur besseren Verdeutlichung ist in Abb. 28 ein Beispiel gezeigt. Es wurden jeweils 1L, 100mL und 10 mL Kläranlagenzulauf, Klärschlamm und Filtrat des Membranbioreaktors als Proben verwendet.

Werden die DNA-Proben unverdünnt in die PCR eingesetzt, erhält man für fünf Proben ein falsch negatives Ergebnis. Werden die Proben 1:10 verdünnt eingesetzt, erhält man für alle eine Bande, d.h. ein positives Ergebnis.

Vermutlich werden bei der Aufkonzentrierung inhibierende Substanzen wie z.B. Huminstoffe angereichert, welche die spätere PCR stören. Ab einer gewissen Verdünnung ist dann auch die Konzentration dieser Substanzen so gering, dass sie die PCR nicht mehr inhibieren.

Es ist bei der Detektion von MS2 Phagen immer darauf zu achten die Proben auch verdünnt in die PCR einzusetzen, um falsch negative Ergebnisse ausschließen zu können.

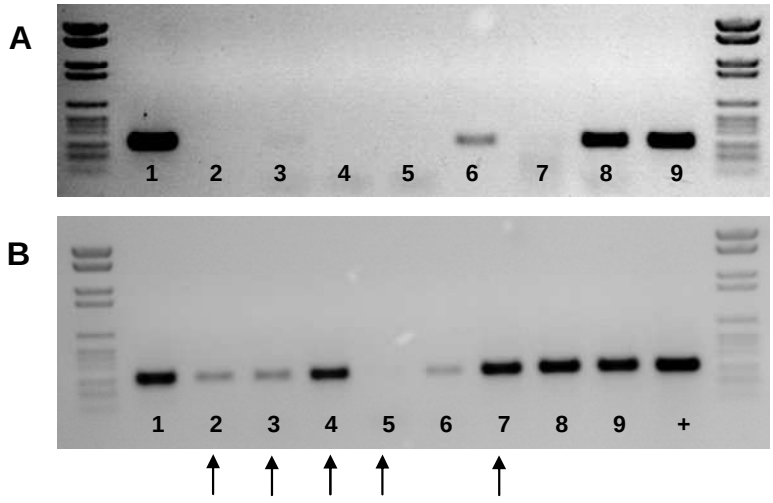


Abb. 28 Falsch negative Ergebnisse (A unverdünnte DNA; B 1:10 verdünnte DNA)

6.2.9. Wiederfindungsraten von MS2-Bakteriophagen

Aus einer MS2-Bakteriophagen Reinkultur mit einer Konzentration von 10^7 pfu/mL wurden Verdünnungen bis $8{,}78x10^1$ hergestellt. Aus den jeweiligen Verdünnungen wurde direkt RNA extrahiert und die RNA Konzentrationen bei 260 nm mit dem NanoPhotometer (Implen) bestimmt. Anschließend wurde jeweils 1 L Trinkwasser mit den gleichen Konzentrationen an MS2-Bakteriophagen versetzt. Die Proben wurden aufkonzentriert und RNA extrahiert. Diese wurde wiederum mit dem NanoPhotometer vermessen. Eingangs- und Ausgangskonzentrationen wurden in Korrelation gesetzt und die prozentuale Wiederfindung an MS2-Bakteriophagen berechnet. Die Wiederfindung lag zwischen 76 und 93% (Tab. 13). Die Negativkontrolle (Trinkwasser ohne Phagen) wies keine RNA auf.

Tab. 13 Wiederfindungsraten von MS2-Bakteriophagen in Trinkwasser

pfu/mL	$9{,}0x10^4$	$2{,}25x10^4$	$5{,}63x10^3$	$1{,}41x10^3$	$3{,}51x10^2$	$8{,}78x10^1$
Wiederfindung (%)	88	90	93	89	76	89

6.2.10. Bestimmung der Nachweisgrenze von MS2-Bakteriophagen

Die Nachweisgrenze des MS2-Bakteriophagen wurde im Kläranlagenablauf bestimmt. Je 1 L Kläranlagenablauf wurde mit Phagen in definierten Konzentrationen versetzt. Es wurde nach der im Abschnitt Methodenentwicklung beschiebenen Methode vorgegangen und MS2-Bakteriophagen molekularbiologisch durch PCR nachgewiesen.

Es wurde eine Nachweisgrenze von 288 pfu/mL ermittelt (Abb. 29).

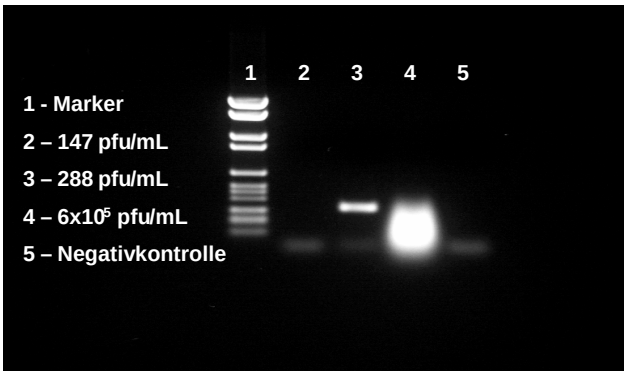


Abb. 29 Nachweisgrenze von MS2-Bakteriophagen in Kläranlagenablauf

Die Ergebnisse der Real-time PCR zeigten, dass im Vergleich zur qualitativen PCR bei 653 Kopien/L noch eine schwache Bande auf dem Gel zu sehen ist. Unter 450 Kopien/L findet man keine Bande mehr. Aus diesem Grund wird die Nachweisgrenze für MS2 Bakteriophagen auf 450-652 Kopien/L korrigiert.

6.2.11. Zusammenfassung und weitere Vorgehensweise

Im Rahmen des Projektes wurde erfolgreich der qualitative und quantitative PCR-Nachweis von MS2 Bakteriophagen in unterschiedlichen Gewässertypen (Abwasser, Oberflächen-,

Grund- und Trinkwasser) etabliert. Weiterhin wurde der qualitative PCR-Nachweis von Noro-, Rota- und Adenoviren etabliert. Eine geeignete Aufkonzentrierungsmethode für Wässer mit unterschiedlicher Partikelfracht wurde nach Literaturrecherche ausgewählt und entsprechend modifiziert.

Es wurden insgesamt 48 Feldproben aus drei Probenahmekampagnen im Jordantal (2007/2008) auf das Vorkommen von MS2 Bakteriophagen, Rotaviren, Noroviren und Adenoviren untersucht. Dabei handelte es sich um 24 Proben aus unterschiedlich stark belasteten Oberflächengewässern, 14 Grundwasserproben, 7 Kläranlagen-abläufe und 2 Kläranlagenzuläufe sowie 1 Trinkwasserquelle.

Von allen untersuchten Proben waren 48% (23 Proben) positiv für mindestens einen Virus, wobei der Rotavirus dominiert (13 positive Proben). Wie erwartet wurde in der Trinkwasserquelle kein Virus detektiert. Ob über Kläranlagenabläufe Viren in die Oberflächenwässer eingetragen werden, ist stark von der Jahreszeit abhängig. In den Sommermonaten werden die WWTP Abläufe zusätzlich in hohen Konzentrationen gechlort, dies scheint ausreichend für eine Virenelimination.

Trotzdem sind doch einige Grundwässer und Oberflächengewässer teils in erheblichem Maß durch Viren belastet (z.B. Wadi Shueib Reservoir).

6.3. Entwicklung MBR – Berichtsteil Huber SE

6.3.1. Ergebnisse bezüglich des Projektanlaufes

In jeweils enger Zusammenarbeit und Abstimmung mit den Projektverantwortlichen von TZW erfolgten sowohl am Firmenstandort Berching wie auch beim TZW in Karlsruhe mehrere Besprechungen bzgl. Planung der Versuchsstände und Durchführung von Untersuchungen. Es wurden darüber hinaus ebenfalls Detailfragen im Hinblick auf die konstruktive Umsetzung des Reaktors diskutiert sowie nachfolgende Kriterien ausgearbeitet, die als wesentlich angesehen werden, um eine erfolgreiche Umsetzung eines Forschungs- und Entwicklungsvorhabens im Ausland in der Zusammenarbeit mit Hochschulen zu ermöglichen. Zugleich wurde bereits zu Beginn des Projekts festgelegt, dass die gesamte Anlagentechnik in Deutschland innerhalb eines Containers komplett zu errichten und auch in Deutschland in Betrieb zu nehmen wäre.

Als wichtige Kriterien für die Aufstellung im Ausland wurden festgelegt:

Bauseitiges Anlegen eines Aufstellungsortes (Fundament)

- Der Container sollte mit entsprechenden Hebewerkzeugen am vorgesehenen Aufstellungsort auf einem tragfähigen Untergrund, ebenerdig aufstellbar sein; optimal wäre eine Einzäunung.
- Die Bereitstellung einer Stromzuleitung soll ebenso bauseitig erfolgen.

Zuleitung des zu behandelnden Abwassers an den Container

- Das notwendige Abwasser sollte vorzugsweise aus einem offenen Kanal mit Rückstaumöglichkeit oder einem Pumpensumpf mit Hilfe einer Pumpe (Kreiselpumpe) zu den Anlagen im Container gefördert werden. Von Vorteil wäre ein Rückhalt von Grob- und Störstoffen (bauseitige Leistung).

Ableitung des behandelten Abwassers nach dem Container und Entsorgung der aus dem Abwasser entfernten Feststoffe

- Je nach Feststoffanteil im Abwasser fallen bei täglich 10m³ pro Tag innerhalb eines relativ kurzen Zeitraums größere Mengen an Siebrückstand an. Diese werden in einem Behälter im Container zwischengelagert. Eine Entsorgung in regelmäßigen Zeitabständen ist durch den Projektpartner in Jordanien/Palästina sicherzustellen.
- Der Ablauf muss abgeleitet werden (z.B. im Sickerschacht, bauseitige Leistung).
- Der Ablauf der Notüberläufe ist vorzugsweise dem Kanal zurückzuführen (bauseitige Leistung).

Entsorgung des in der biologischen Stufe gebildeten Überschussschlamms

- Bei der biologischen Reinigung wird eine relativ geringe Menge an Überschussschlamm anfallen. Dieser soll bauseitig entsorgt werden.

Betrieb und Wartung der Anlage durch ausländischen Partner

- Nach Einweisung in die Anlagentechnik wird von Seiten der HUBER SE versucht werden, einen Betrieb teilweise durch Diplomarbeiter zu unterstützen. Dies wird und kann jedoch nicht ausreichen. Eine zuverlässige Betriebsweise kann nur sichergestellt werden, wenn sich vom ausländischen Kooperationspartner jemand bereit erklärt, die Anlage kontinuierlich zu betreuen. Dies könnte optimal im Rahmen einer Dissertation durch fachkundiges Personal erfolgen. Betriebskosten wie Strom und eventuell anfallende Entsorgungskosten sind nicht im Kostenumfang der HUBER SE berücksichtigt. Auch die Bereitstellung von Fällungsmitteln gehört zum bauseitigen Leistungsumfang.

Erhebung von Messdaten durch ausländischen Partner

- Um die im Antrag des Projektes beschriebenen Ziele aus wissenschaftlicher Sicht erreichen zu können, ist eine regelmäßige Datenerhebung notwendig. Parameter wie Permeatflux, Unterdruck, TS, CSB, NH4, NO3 und PO4, Verkeimung Permeat zu erheben. Außerdem sind stichpunktartig die Parameter zu erheben, die für das TZW von Interesse sind, um auch den zusätzlichen Einfluss der Bodenpassage zu ermitteln.
- Bei der Fest-/Flüssigtrennung sollen TS- und CSB-Rückhalt bestimmt werden.
- Kosten für Analysen sind nicht im Kostenumfang der HUBER SE berücksichtigt.

Für die geplanten, grundlegenden Untersuchungen am TZW wurde nachfolgend dargestellter Versuchsstand entwickelt, aufgebaut und ausgeliefert (siehe Abb. 30):

Abb. 30 Versuchsstand für TZW entwickelt

Weitere Planungen zu Beginn des Projekts betrafen einen 2-strassigen Versuchsstand. In diesem können zwei Module (Huber und „russische Membran“) mit Realabwasser und somit mit typischen Viren und Medikamentenrückständen betrieben werden. Geplanter Standort ist die Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen, Nähe Karlsruhe.

6.3.2. Ergebnisse bezüglich der eingesetzten Technik

Der für HUBER gefertigte Teststand wurde eingesetzt, um Maßnahmen zur Leistungssteigerung des Membranverfahrens (z.B. Zugabe leistungssteigender Polymere, Pumpe anstatt Spülgebläse) und auch alternative Animpfmöglichkeiten für das Anfahren der Versuchsanlage in Jordanien zu untersuchen. Diesbzgl. wurde der Teststand so aufgebaut, dass zwei gleiche Membranmodule bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen betrieben werden können. Um zwei Verfahren getrennt voneinander, aber im direkten Vergleich zu beobachten, ist eine wasserdichte Trennwand eingebaut, der den Behälter in zwei Bioreaktoren aufteilt.

Auch die Steuerung dieses Teststands ist so konzipiert, dass beide Module zweistraßig mit konstantem (nachgeregelt), einstellbaren Flux gefahren werden und der Transmembrandruck überwacht wird. Abb. 31 enthält den schematischen Aufbau des 2-straßigen Versuchsstands.

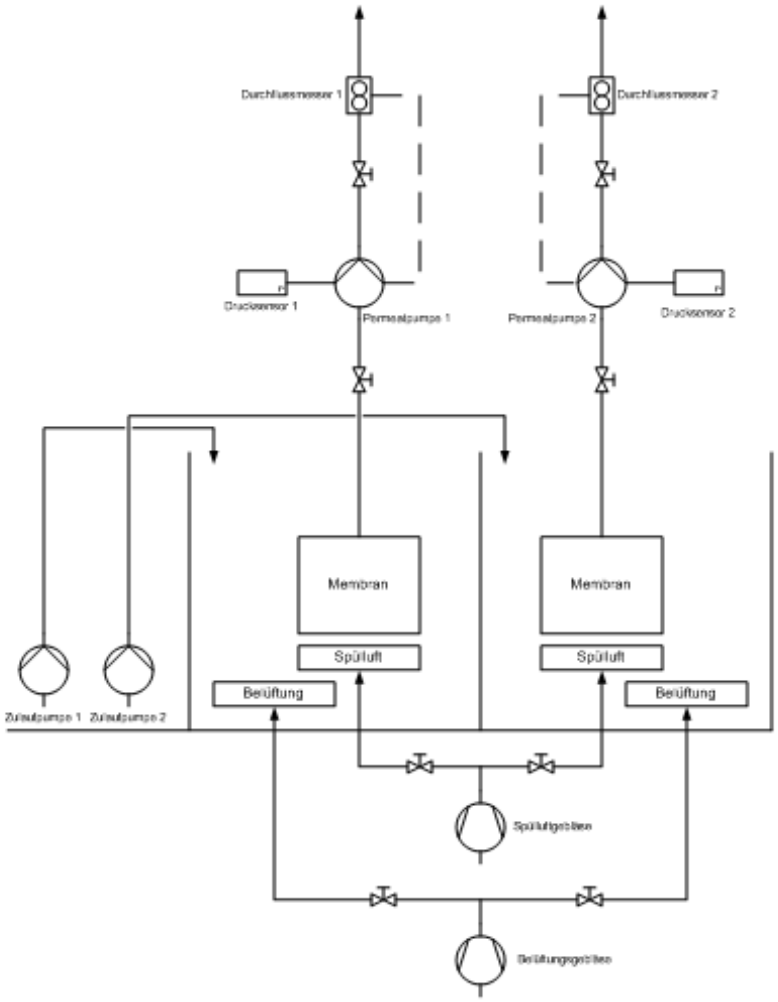


Abb. 31 Schema zum Betrieb der 2-straßigen Teststände

Der Teststand besteht aus einem Edelstahlbehälter, der als Membranbioreaktor dient und einer Aggregate- und Steuerungseinheit (Abb. 32).

Abb. 32 Membranbioreaktor mit 2 Kammern (links) und Aggregate- und Steuerungseinheit des Huber Teststands (rechts)

Im Membranreaktor sind zwei Standard-Membranmodule der Firma Huber installiert mit identischen Membranen (PES, 150 kDa). Für die Sauerstoffversorgung der Biologie ist je ein Membranrohrbelüfter montiert. Die Niveauerfassung und damit der Betrieb der Anlage erfolgt über Schwimmerschalter. Deren Signal steuert die Zulaufpumpe und den Permeatabzug der beiden Filtrationsstraßen. Die Aggregate-Einheit verfügt über zwei regelbare Permeatpumpen, Spülluftgebläse, Belüftungsgebläse, Temperaturfühler und digitale Druck- und Durchflussmesser. Über Rückkopplung der Durchflussmesser an die PID-Regler der Permeatpumpen kann ein konstanter Durchfluss realisiert werden. Gleichzeitig werden Änderungen des Transmembrandrucks aufgezeichnet. Alle Messwerte werden mit Hilfe eines Datenloggers aufgezeichnet und anschließend ausgewertet. Der Datenlogger war nicht im Planungsumfang des Projekts enthalten.

Nachfolgend sind die für das Projekt und im Sinne der Projektziele relevanten Ergebnisse dargestellt.

6.3.2.1. Synthetisches Animpfmaterial

Da für Membrananlagen ein Animpfen zum Anfahren der Anlage unerlässlich ist, wurde über die in der Antragsstellung angedachten Untersuchungen eine Alternative zur Inbetriebnahme einer Membrananlage untersucht. Da nämlich im Rahmen der Standortwahl der Containeranlage in Jordanien nicht gewährleistet werden kann, dass Belebtschlamm einer nahe gelegenen Kläranlage zur Verfügung steht, wurde ein spezifisch für Membrananlagen entwickeltes Inbetriebnahmemittel untersucht. Bei der Versuchsdurchführung wurde daher ein MBR unter Zugabe des „Animpfmittels“, der andere mit Belebtschlamm angefahren und das Verhalten des Transmembrandrucks untersucht. Dieses Animpfmittel soll zweierlei Funktionen erfüllen: Zum einen bildet es eine Schutzschicht auf der Membran, wodurch die Permeabilität gesteigert und ein Fouling verhindert wird, zum anderen wird der Aufbau von Belebtschlamm unterstützt. Wie der exemplarisch dargestellte Verlauf des Transmembrandrucks in Abb. 33 zeigt, konnte die Wirkung einer Schutzschicht auf der Membran nicht nachgewiesen werden. Bei gleichem Flux der beiden Membranen fiel der Transmembrandruck der Membran mit Animpfmittel ab dem Zeitpunkt der Beschickung mit Rohabwasser rapide ab.

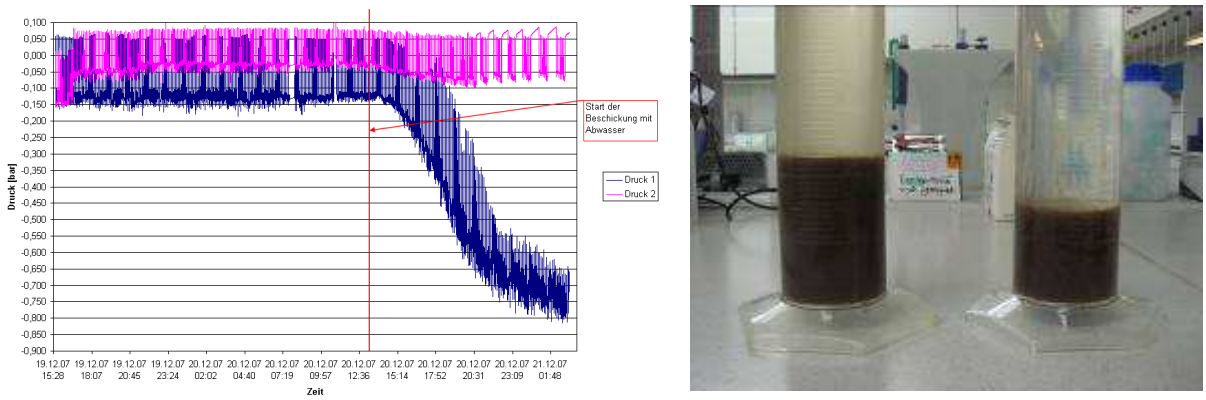


Abb. 33 Transmembrandruck (links) und Belebtschlammproduktion (rechts) unter Zugabe des Animpfmittels im Vergleich

Zusätzlich wurde die Belebtschlammproduktion in einem Zeitraum von 12 Tagen beobachtet. Innerhalb dieses Zeitraums stieg der TS-Gehalt unter Zugabe des Animpfmittels auf 1,94 g/l an. Im Belebtschlamm-Reaktor wurden im gleichen Zeitraum 1,86 g/l Überschussschlamm produziert. Somit konnte eine „versprochene Funktion als Antifoulingmittel“ nicht nachgewiesen werden, eine geringe Unterstützung des Biomasse-Aufbaus scheint jedoch vorzuliegen. Für den praktischen Einsatz sind die Substanzen allerdings nicht geeignet.

6.3.2.2. Organische Substanzen zur Erhöhung des Flux

In anderen Versuchsreihen wurden speziell für MBR-Anwendungen entwickelte organische Polymere, auf deren Wirkungsweise untersucht. Diese Membrane Performance Enhancer (MPE) versprechen eine Leistung- und Wirtschaftlichkeitssteigerung von Membranbioreaktoren durch ein deutlich verringertes Membran-Fouling und Verbessserung der Belebtschlammqualität. Diese Polymere flocken die negativ geladenen löslichen mikrobiologischen Produkte (SMP) und die kolloidalen Bio-Polymere, wie extrazelluläre polymere Substanzen (EPS), welche im MBR hauptsächlich für das Fouling an der Membraneoberfläche verantwortlich gemacht werden. Dieser Komplex wird in die geronnenen Bio-Flocken eingeschlossen, so dass der direkte Kontakt mit der Membran minimiert wird. Außerdem hilft MPE die Partikelgröße zu steigern, so dass kolloidales Fouling ebenfalls verringert wird. Bei der Versuchsdurchführung wurde analog zu vorherigem Versuch eine Straße des Versuchsstands mit, die andere ohne Zugabe des Polymers gefahren. Außerdem wurden verschiedene Flussraten und unterschiedliche Belebtschlämme als Ausgangsmaterial verwendet (nicht eingedickt, eingedickt, mit Polymer eingedickt). Ein repräsentatives Ergebnis findet sich in Abb. 34.

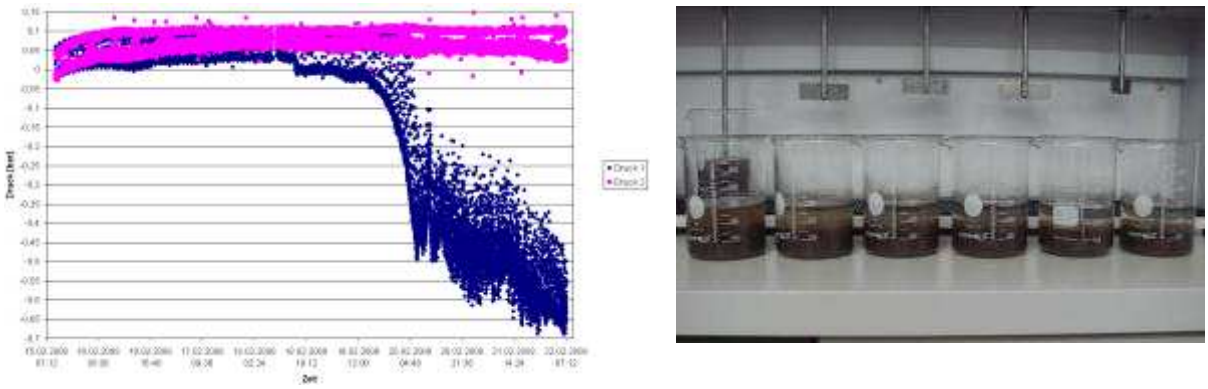


Abb. 34 Transmembrandruck (links) und Laborversuche (rechts) nach Zugabe von organischen Polymeren

Auch in diesen Versuchsreihen konnte entgegen der Prognosen des Herrstellers keine signifikante Leistungssteigerung durch Zugabe dieser Polymere in der halbtechnischen Versuchsanlage nachgewiesen werden. Zwar ist in Laborversuchen eine kurzzeitige Verbesserung des Schlammvolumenindex nachweisbar, bereits nach 24 h ist die Flockenstruktur im Reaktor allerdings zerstört und eine Steigerung der Filtrierbarkeit ist nicht gegeben. Somit scheidet auch diese Möglichkeit als Maßnahme aus, den Flux zu erhöhen.

6.3.2.3. Optimierung der Spülluft

Nach den weniger erfolgreichen Versuchen zur Erhöhung des Flux mit Animpfmitteln und organischen Animpfmitteln, wurde die Anlage für weitere Versuchsreihe um ein weiteres Spülluftgebläse (siehe Abb. 35) erweitert. Auf diese Weise ist es nun möglich, beide Kammern getrennt voneinander mit Spülluft unterschiedlicher Taktungen zu beaufschlagen.

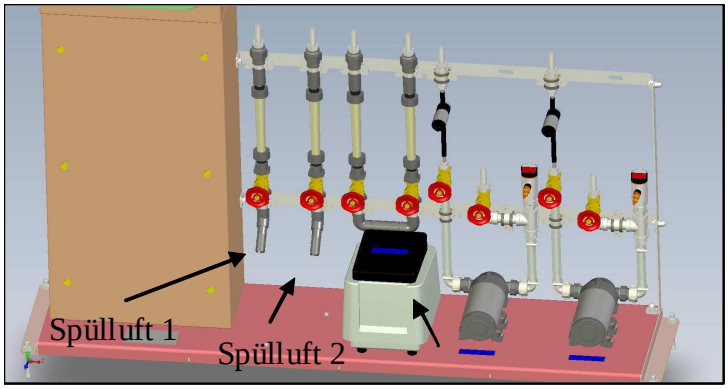


Abb. 35 Umbau der Versuchsanlage

Diese weitere Vorgehensweise begründet sich dadurch, dass die Spülluft einen bedeutsamen Betrag beim Energieverbrauch von Membrananlagen darstellt. Aus diesem Grund wurden die Zeiten für Filtrieren und Filtrationspause (mit dem Ziel der Membranerholung) wie folgt, in Tab. 14 dargestellt, variiert:

Tab. 14 Spülluftaktungen mit den dazugehörigen Ersparnissen und Pausenzeiten

Taktung	Pause [min/h]	Ersparnis [%]
9/1	6	10
8/1	6,67	11
7/1	7,5	12,5
6/1	8,57	14,3
5/1	10	16,7
4/1	12	20
3/1	15	25
2/1	20	33
1/1	30	50

In Abb. 36 ist die Auswertung aller durchgeführten Spülluftaktungen dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass alle Taktungen einen stabilen Filtrationsbetrieb bei vernachlässigbarem Druckanstieg gewährleistet haben.

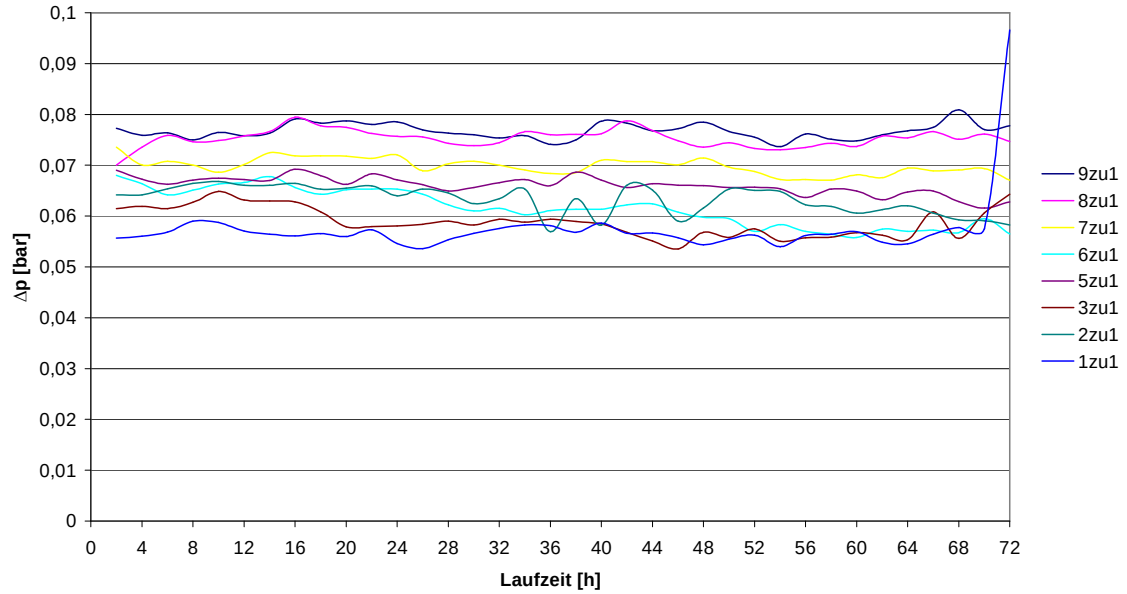


Abb. 36 Nachweis des stabilen Betriebes während verschiedenerer Taktungen

Wie das Ergebnis zeigt, gelang es mit Hilfe dieser systematisch geplanten Versuchsreihen eine optimale Spülluftaktung zu ermitteln, mit deren Hilfe sich eine Spülluftersparung von 50 % erzielen lässt. Dieses für die Praxis wichtige Ergebnis konnte auch in bestehenden Anlagen bereits umgesetzt werden und trifft zudem die Projektziele insofern, als dass eine Methode im Rahmen des Projekts entwickelt wurde, um den Energiebedarf bei MBR-Anlagen mit Flachmembranen zu reduzieren.

6.3.2.4. Rückspülen der Module

Um die Anlage auch im Rückspülmodus betreiben zu können, wurde eine weitere Modifizierung der Anlage durchgeführt (siehe Abb. 37). Ziel war wiederum ein möglichst hoher Durchsatz durch die Membran, um das Verfahren kostengünstiger zu gestalten und somit an die landesspezifische Situation in Jordanien anzupassen. Die Rückspülung wird lediglich bei einer Versuchskammer implementiert, um einen direkten Vergleich einer rückgespülten und nicht-rückgespülten Membrananlage zu erhalten.

Abb. 37 Umbau der Anlage für die Rückspülung

Für die Rückspülversuche mit produziertem Permeat wird die Rückspülung in verschiedenen Intervallen von 1/h bis 1/d variiert.

Aufgrund nicht zufriedenstellender Ergebnisse wurden die Versuche in dieser Angelegenheit abgebrochen. Die zum Zeitpunkt der Untersuchungen verwendete Membran und das daraus konzipierte Membranmodul scheinen einen derartigen Betrieb nicht zuzulassen.

6.3.2.5. Einsatz alternativer Membranen

Aufgrund der negativen Ergebnisse mit der organischen Flachmembran in Bezug auf die Rückspülbarkeit, wurde das HUBER-MCB-Modul (38 nm; Ultrafiltration) mit dem keramischen Plattenmodul der Firma iTN (200 nm; Mikrofiltration) verglichen. Ziel war es, beide Membranmodule parallel unter identischen Rahmenbedingungen kontinuierlich zu betreiben und für eine erste Beurteilung der Leistungsfähigkeit beider Materialien, die maximale Standzeit zu ermitteln. Um konstante Bedingungen zu erhalten, wurden beide Module erneut parallel betrieben. Dabei wurde in erster Linie der Einfluss des Dauerbetriebs (24 h/d, 5 min Filtration, 0,5 min Relaxation) auf die relevanten Betriebsparameter Transmembrandruck und Flux unter hohen Belastungszuständen näher untersucht. Aber auch die ästhetischen Eigenschaften des Permeats, die einen weiteren Einfluss auf die Akzeptanz des gereinigten Abwassers bei möglicher Versickerung in den Untergrund darstellen, wurden im Laufe der Untersuchungen näher betrachtet. Um unerwünschte Verfärbungen des Permeats zu entfernen, wurden in den Permeatablauf zwei Aktivkohlefilter eingebaut, nacheinander durchströmt und miteinander verglichen. Die wichtigsten Ergebnisse sind nachfolgend näher dargestellt.

Flux

Zur Inbetriebnahme der Module wurden zu Beginn der Versuche beide Anlagen eine Woche lang mit einem auf 20 ℃ genormten Flux von 19 l/m² h betrieben. Danach wurde der Flux auf 26 l/m²h (genormt) erhöht (Abb. 38). Während die Permeatpumpe der iTN-Anlage über den

gesamten Versuchzeitraum konstant den gleichen Durchfluss erbrachte, fiel die Förderleistung der MCB-Permeatpumpe mit steigendem Transmembrandruck, so dass der Flux trotz zwischenzeitlichem Nachregulieren bis zum Ende der Versuchsreihe auf etwa 12 l/m²h sank (Abb. 38).

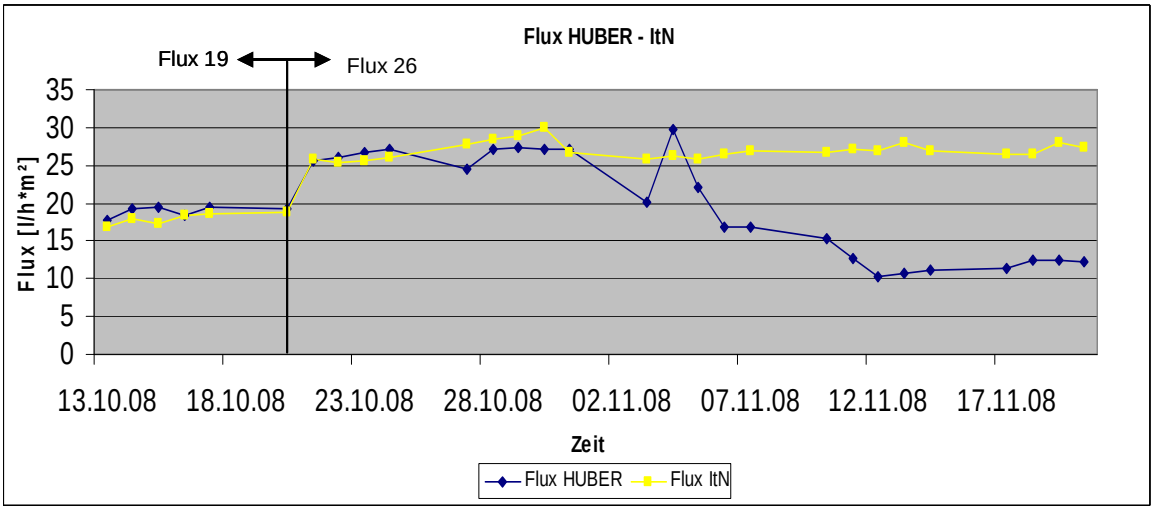


Abb. 38 Fluxverlauf des Huber MCB-Moduls und des iTN-Keramikmoduls

Druck

Etwa drei Wochen nach Inbetriebnahme wurde bei der HUBER-MCB ein rascher Anstieg des Transmembrandrucks beobachtet. Dieser stieg innerhalb von 3 Tagen von -250 auf -550 mbar an (Abb. 39). Ein stabiler Filterbetrieb war ab diesem Zeitpunkt nicht mehr gegeben. Der Flux reduzierte sich sehr stark und lag beim Abschalten der Anlage bei nur noch 10 l/m²h. Nach dem Reinigen der Module wurde der Flux bei 12 l(m²h) eingestellt, um weitergehende Versuche mit Aktivkohle durchführen zu können, die nachfolgend beschrieben werden.

Fünf Wochen nach der Inbetriebnahme stieg jedoch auch der Transmembrandruck der iTN-Anlage an. Er erhöhte sich innerhalb von sechs Tagen von 250 mbar auf über 600 mbar. Nach diesem Anstieg wurden die Filtrationsversuche mit dem Keramikmodul abgebrochen (Abb. 39).

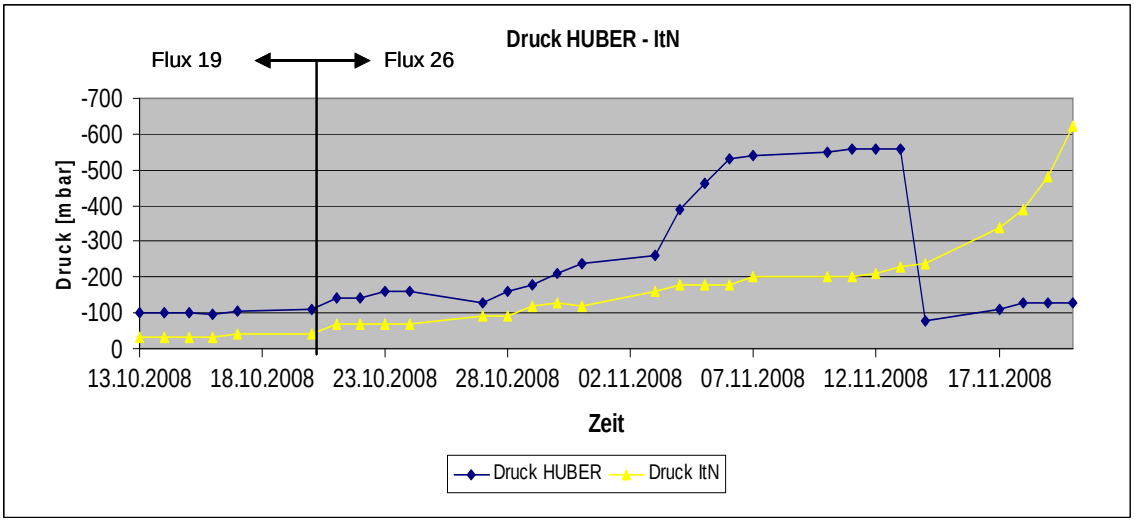


Abb. 39 Druckverlauf des Huber MCB-Moduls und des iTN-Keramikmoduls

Permeabilität

Die anfänglich sehr hohe Permeabilität des keramischen itN-Moduls zu Beginn der Versuche (siehe Abb. 40) resultiert aus dem geringen Transmembrandruck, der aufgrund der größeren Porenweite (200 nm) mit bis zu 80 mbar Differenz deutlich unter dem Transmembrandruck des MCB-Moduls (38 nm) lag.

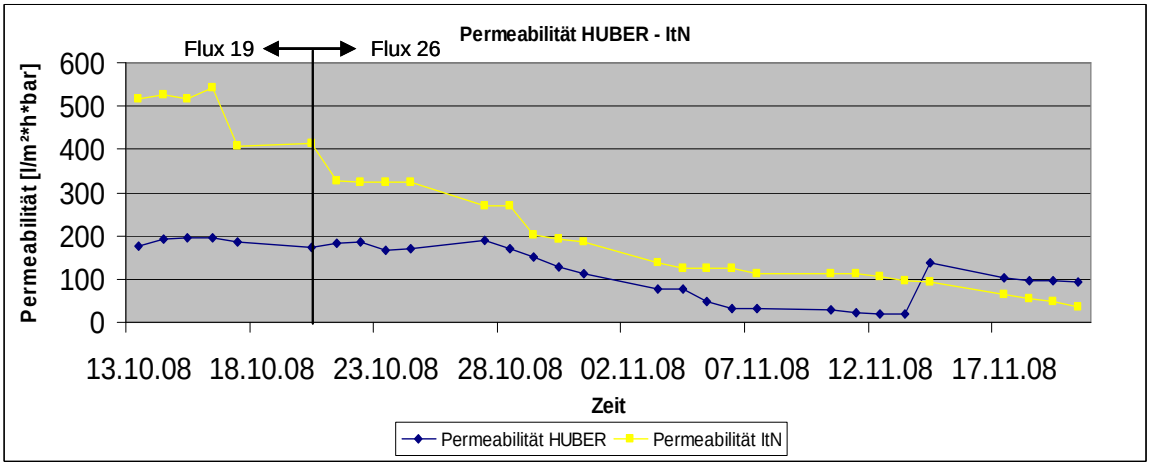


Abb. 40 Permeabilitätsverlauf des Huber MCB-Moduls und des iTN-Keramikmoduls

6.3.3. Zusammenfassung

Insgesamt wurden für die Untersuchungen mit dem 7m² großen Huber MCB-Modul 115 m³ Abwasser behandelt. Über das 4m² große iTN-Keramikmodul wurden 82 m³ filtriert. Der Vorteil, dass sich mit keramischen Membranen deutlich höhere Filtrationsleistungen bei vergleichsweise längeren Standzeiten realisieren lassen, war aus den Ergebnissen nicht ersichtlich. Bei der keramischen Mikrofiltrationsmembran, die als zusätzlichen Vorteil mit 200 nm eine deutlich größere Porenweite hat, war die Standzeit nur zwei Wochen länger als bei der Polymermembran des Huber MCB-Moduls (Porenweite 38 nm). Eine vergleichbare Be-

triebsweise rechtfertigt somit nicht den Einsatz teuerer Materialien, solange keine deutlich erkennbare Leistungssteigerung erkennbar ist.

6.3.4. Nachbehandlung des Permeats mit Aktivkohle

Oftmals weist das Permeat nach der Membranfiltration eine mehr oder weniger starke gelblich-braune Färbung auf, deren Herkunft oftmals nicht vollständig zu klären ist. Möglicherweise handelt es sich um ein Produkt verschiedener Abbauprozesse während der biologischen Reinigung. Bei dem Ziel der Wiederverwendung des Permeats könnte die Färbung aus ästhetischen Gründen jedoch eine psychologische Barriere bewirken und einer Wiederverwendung in Jordanien möglicherweise entgegenwirken, sollte dieser Fall auftreten.

Aus diesem Grund wurden zur Entfärbung des Permeats zwei unterschiedliche Aktivkohlefilter in Permeatleitung des MCB-Moduls installiert (Aktivkohle spielt als zusätzliche Maßnahme zur Entfernung organischer Spurenstoffe eine bedeutende Rolle und wird aus diesem Grund im Rahmen dieses Projektes mit dieser Zielstellung beim wissenschaftlichen Projektpartner untersucht). Bei beiden Filtern wurde eine Kontaktzeit von 15 Minuten eingestellt. Um die Leistungsfähigkeit der Filter zu ermitteln, wurden vor, zwischen und nach den Filtern Proben genommen und die Stärke der Färbung ermittelt.

Als ein quantifizierbarer, und vor allem einfach zu bestimmender Parameter für die Intensität der Färbung, stellte sich die Transmission nach Bestrahlung mit einer bestimmten Wellenlänge heraus. Diese Messung wurde mit Hilfe eines Laborfotometers bei einer Wellenlänge 340 nm durchgeführt.

Zunächst wurde aufgrund optischer Vergleiche mit unterschiedlich gefärbten Proben ein Transmissions-Grenzwert festgelegt, bei dem die Permeatqualität gerade noch optisch akzeptabel erscheint. Dieser festgesetzte Grenzwert, der während der gesamten Versuchsreihe von keiner Probe, die nach den Aktivkohlefiltern genommen wurde, unterschritten werden sollte, lag bei 98,5 %.

Die Versuche zeigten jedoch, dass die eingesetzte Aktivkohle zu keinem Zeitpunkt der Versuchreihe die gewünschte Entfärbung bewirkte. Zwar konnte man durch die Versuchsreihe feststellen, dass sich durch die Aktivkohlefiltration eine gewisse Reduktion der Färbung erzielen lässt, jedoch wurde der gewünschte Transmissions-Wert von 98,5 % zu keinem Zeitpunkt erreicht (Abb. 41). Die Untersuchungen mit weiteren Aktivkohlen wurden abgebrochen, da zum damaligen Zeitpunkt vom Projektpartner TZW bereits Untersuchungen zum Einsatz von Aktivkohle geplant waren.

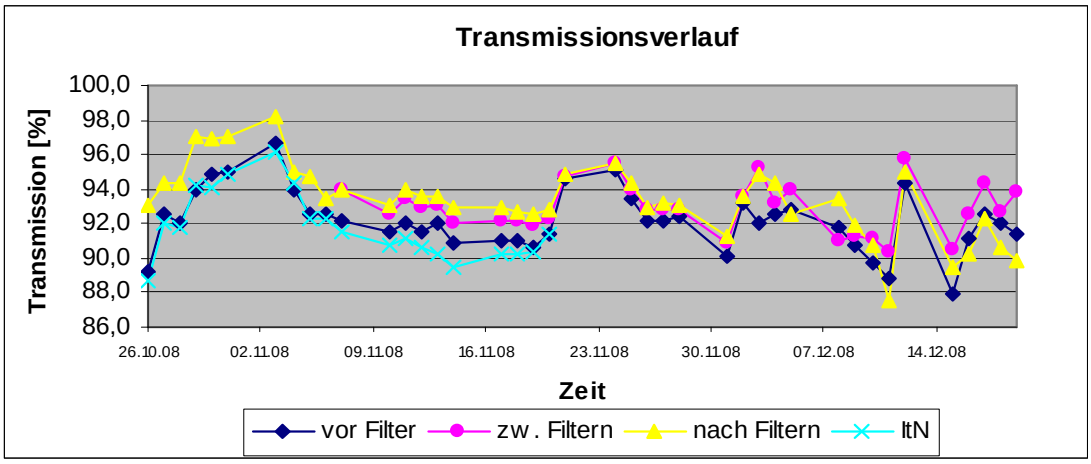


Abb. 41 Transmissionsmessung des Permeats des Huber MCB-Moduls und des itN-Moduls

6.3.5. Bau der Container-Anlage

Die Standortsuche für die Aufstellung und den Betrieb der optimierten Versuchsanlage im Pilotmaßstab hatte sich aufgrund verschiedener Anforderungen (existierende Kläranlage, geeignetes Versickerungsfeld, räumliche Nähe zur Hauptstadt Amman wg. möglicher Nutzung als Referenzanlage; fachkompetenter Betrieb der Anlage vor Ort, wissenschaftliche Begleitung der Anlage vor Ort) als äußerst schwierig und unerwartet langwierig gestaltet (was allerdings nicht durch die Projektpartner zu verantworten war). Ein geplanter Besuch vor Ort, der im Zusammenhang mit der Inbetriebnahme der Versuchsanlage im SMART-Projekt konzipiert war, musste mehrfach verschoben werden, da die Zusagen bzgl. des Zeitpunkts der Inbetriebnahme der SMART-Anlage seitens der beteiligten ausländischen Partner ebenfalls nicht aufrecht erhalten werden konnten.

Diese Situation hat letztendlich dazu geführt, dass im Projektzeitraum lediglich die Fertigstellung der Container-Anlage und die Schulung der beteiligten Projektpartner noch möglich waren und die praktische Inbetriebnahme im Rahmen eines Fortführungsvorhabens realisiert wird.

Im Einzelnen kann als Ergebnis festgehalten werden:

Inbetriebnahme der MBR-Containeranlage auf der KA Berching und Betrieb mit kommunalem Abwasser durch HUBER SE. Ferner erfolgte die Schulung der Projektpartner (TZW und Al-Balqa) am Standort Berching. Dabei wurden den Kooperationspartnern die durchgeführten Arbeiten sowie die geplanten Tätigkeiten für die 2. Projektphase vorgestellt (SMART 2). Die Schulung sah auch eine Besichtigung der Anlage, sowie die praktische Durchführung von unterschiedlichen Analysen und Tests vor. Die bauseitigen Leistungen für die Aufstellung der Anlage in Karlsruhe und Jordanien wurden erläutert. Im Rahmen eines praktischen Trainings wurde Herr Zreiqat geschult. Während der Schulung am Standort Berching erhielt er weiterführende Informationen zu Aufbau, Funktion und Betrieb der Containeranlage, und konnte gemeinsam mit HUBER-Mitarbeitern praktische Übungen sowie Analysen an der bestehenden Anlage durchführen.

Die Planungen zur Umsetzung einer optimierten Anlagentechnik mit der Möglichkeit der Datenfernübertragung sowie der gezielten Durchführung von Versickerungsuntersuchungen

resultieren in einer weitestgehend automatisierten Anlage, die nachfolgend in Abb. 42 dargestellt ist:

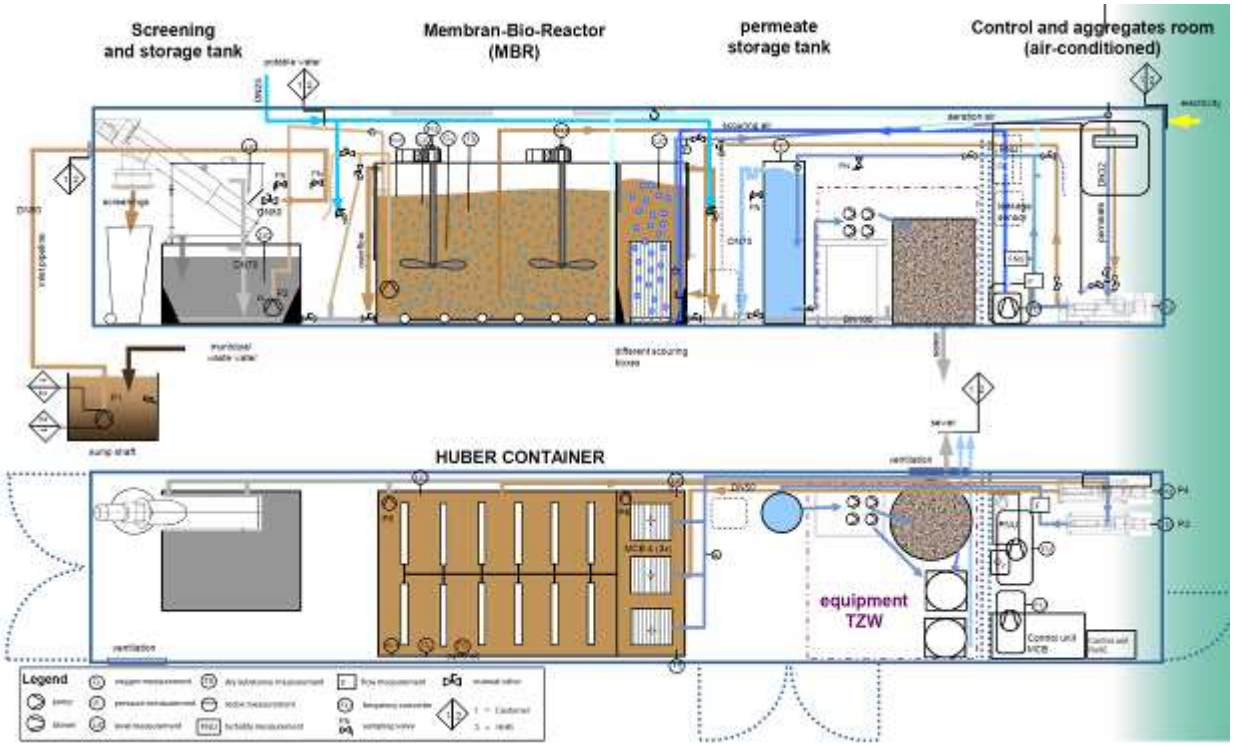


Abb. 42 Schematischer Aufbau der Versuchsanlage innerhalb eines mobilen Containers

6.4. Versuchsbetrieb MBR – Berichtsteil TZW

Die Untersuchungen zum Einsatz von Membranbioreaktoren zur Behandlung von Abwässern sind im Rahmen des Projektes in zwei Phasen unterteilt. Ziel der ersten Phase war die Charakterisierung der Membranen, die im Rahmen der halbtechnischen Versuche (Phase 2) in einem Membranbioreaktor zum Einsatz kommen sollten. In dieser Phase waren Bedingungen zu ermitteln unter denen eine optimale Entfernung organischer Spurenstoffe erreicht werden kann. Während der halbtechnischen Versuche wurden die Kenngrößen für die Auslegung der Pilotanlage ermittelt, die im Projektgebiet zum Einsatz kommen soll.

6.4.1. Charakterisierung von Membranen – Phase 1

In der ersten Projektphase (Mai 07 – April 08) wurden zunächst Untersuchungen im Labormaßstab zur Charakterisierung der eingesetzten Membranen durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden in einem Membranteststand Laborversuche durchgeführt.

6.4.1.1. Beschreibung des Membranteststandes

Der Membranteststand besteht aus einer Pumpe, einem offenen Vorlagebehälter mit einem Fassungsvolumen von 10 L, einem Plattenmodul, in den die flachen Membranmuster eingelegt werden, sowie den Zu- und Ableitungen und Messwertaufnehmer für Temperatur, Druck (absolut und Differenz) und Volumenstrom für Konzentrat und Filtrat. Ein Anlagenfließbild des Versuchstandes ist in Abb. 43 wiedergegeben.

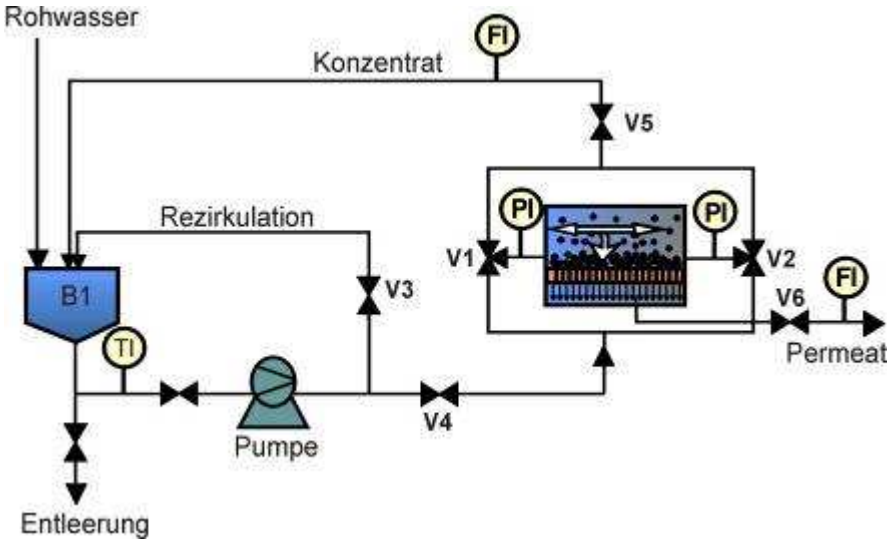


Abb. 43 Anlagenfließbild - Membranteststand

Während der Versuche wird das zu untersuchende Wasser aus dem Umwälzbehälter B1 mittels Kreiselpumpe über das Plattenmodul gefördert. In Abhängigkeit der Stellung der Ventile V1 und V2 wird das Wasser von der einen bzw. von der anderen Modulseite zugeführt, wobei die Anströmrichtung in zeitlichen Abständen von 6 min umgekehrt wird. Damit kann die Bildung von Belägen auf den Membranoberflächen vermindert werden. Mittels Druckaufnehmer (PI) ist es möglich, den Absolutdruck (max. 10 bar) bzw. den Differenzdruck am Eingang und am Ausgang des Plattenmoduls zu bestimmen. Der Filtratfluss wird über einen Durchflussmesser (FI) in der Filtratleitung ermittelt.

Eine Spülung der Membranen erfolgt aufgrund der vergleichsweise kurzen Versuchszeiträume nicht. Allerdings wird nach jeweils 6 min das Permeatventil kurz für 5 s geschlossen. Damit wird erreicht, dass die Konzentrationspolarisationsschicht an der Membranoberfläche kurzzeitig gestört wird und es zu einer tangentialen Strömung entlang der Membranoberfläche kommt, mit der evtl. aufgebaute Schichten abgereinigt werden können.

Abb. 44 zeigt eine Aufnahme des Membranteststandes im Technologielabor des TZW. Das Plattenmodul befindet sich auf der Rückseite der Anlage und ist in Abb. 45 dargestellt. Es weist eine effektive Membranfläche von 4 cm x 20 cm entsprechend 0,008 m² auf.

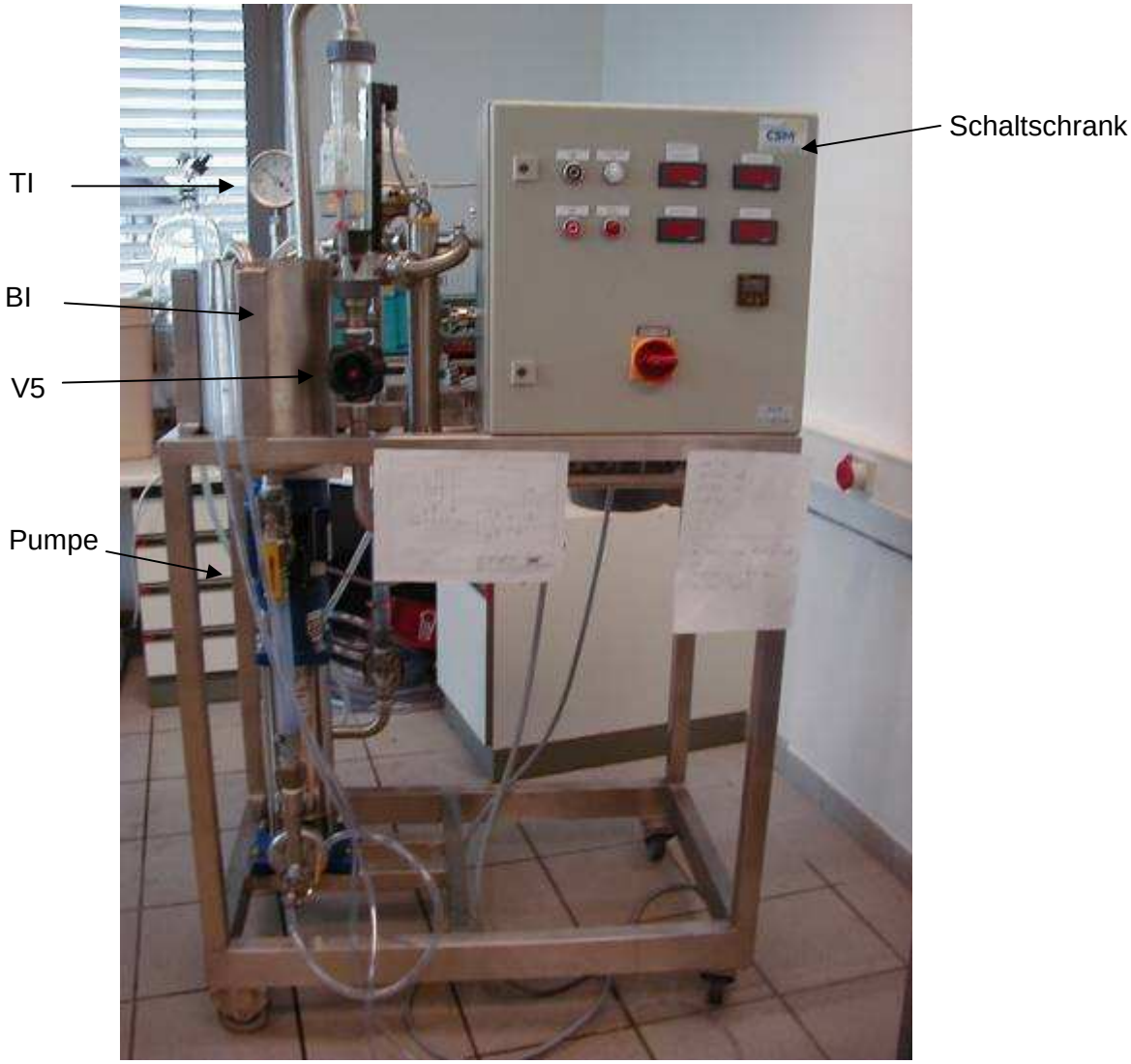


Abb. 44 Membranteststand im Labor

Abb. 45 Plattenmodul – Membranteststand

6.4.1.2. Membranvorbereitung

Die nicht mit Konservierungsmittel behandelten Membranen konnten direkt nach dem Einbau in das Plattenmodul mit Rohwasser beaufschlagt werden. Zur Entfernung von Konservierungsmitteln werden die Membranmuster mehrmals nacheinander in frisches demineralisiertes Wasser eingelegt und nach dem Einbau in den Membranteststand mit demineralisiertem Wasser überspült, bis das Konservierungsmittel vollständig entfernt war. Dies wird anhand von Messungen des DOC-Wertes überprüft.

6.4.1.3. Versuchsablauf

Vor jeder Versuchsreihe wird eine Membran in das Plattenmodul eingelegt und die Anlage mit demineralisiertem Wasser in Betrieb genommen und auf Dichtheit geprüft. Anschließend wird das zu untersuchende Rohwasser eingefüllt und die gewünschten Betriebsbedingungen eingestellt. Während der Versuchsdauer von mehreren Stunden bzw. Tagen werden die Betriebsdaten wie z.B. Temperatur, Druck, Flächenbelastung, Konzentratstrom und Differenzdruck über der Zeit aufgenommen. Zur Ermittlung des Rückhalts werden Proben vom Konzentrat und Filtrat entnommen und auf die gewünschten Parameter untersucht.

Im Batch-Betrieb wird der Versuch solange durchgeführt bis das zu untersuchende Rohwasser verbraucht ist. Es erfolgt keine Veränderung der Rohwasserbeschaffenheit während des Versuchs.

Zur Verlängerung der Versuche wird auf Kreislaufbetrieb umgestellt, indem die Teilströme Filtrat und Konzentrat in den Vorlagebehälter zurückgeführt werden. Bei dieser Betriebsweise erwärmt sich das Wasser im Vorlagebehälter. Dieser Energieeintrag durch die Pumpe muss durch Kühlung ausgeglichen werden. Im einfachsten Fall erfolgt dies durch Einbringen einer Kühlschlange in den Vorlagebehälter, wobei die Kühlschlange mit Leitungswasser durchströmt wird. Damit kann die Betriebstemperatur im Bereich von 25 bis 30℃ relativ konstant gehalten werden.

Zur Untersuchung der Membranoberflächen werden die Membranen nach Abschluss der Versuche aus dem Plattenmodul entnommen (vgl. Abb. 46) und die sich eventuell gebildeten Beläge begutachtet.

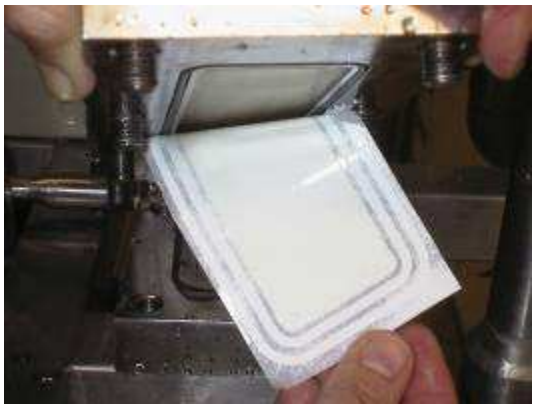


Abb. 46 Membranentnahme aus dem Plattenmodul nach abgeschlossenem Versuch

6.4.1.4. Ermittlung der Permeabilität

Im Allgemeinen besteht ein linearer Zusammenhang zwischen Filtratfluss und Druckdifferenz. Zur Charakterisierung der Permeabilität wurde der Filtratfluss jeweils über eine Betriebszeit von 4 Stunden bei konstanter Druckdifferenz ermittelt. Der Druck wurde in Schritten von 0,5 bar in einem Bereich von 0,5 bis 3 bar variiert. Zum Vergleich der Permeabilität aus verschiedenen Versuchsreihen wird diese auf eine Temperatur von 20℃ normiert. Die Berechnung erfolgt gemäß Formel 6.

$$Permeabilität(20°C) \equiv \frac{Filtratfluss \times Temperaturkorrekturfaktor}{Membranfläche \times Druckdifferenz}$$

Formel 6 Berechnung der Permeabilität

Filtratfluss = Filtratmenge pro Zeiteinheit, L/h

Membranfläche im Membranteststand, m² (= 0,008 m²)

Druckdifferenz = Druck im Zulauf – Druck im Ablauf, bar

Temperaturkorrekturfaktor = EXP(0,00237 x (20-aktuelle Temperatur))

Der auf die Membranfläche bezogene Filtratfluss wird häufig als *Flux* oder *Flächenbelastung* bezeichnet und in *L/m²/h* angegeben.

Die Eigenschaften der eingesetzten Membranen sind in Tab. 15 aufgeführt.

Tab. 15 Membrantypen – Charakterisierung

Membran	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**
Bezeichnung	Huber P105F	UPM150	UPM50	UF PES	MF	MF Sepro
Material	Polyether-sulfon	Polysulfon-amid	Polysulfon-amid	Polyether-sulfon	Polyether-sulfon	PVDF
Porenweite, nm	38	-	-	-	200	200
MWCO, kDa	150	150	50	150	-	-
Hersteller	Nadir	Vladipor	Vladipor	Vladipor	Vladipor	Sepro

Als Wasser zur Charakterisierung der Permeabilität wurde ein Modellwasser mit einer elektrischen Leitfähigkeit von ca. 380 µS/cm eingesetzt. Zur Überprüfung des Trübstoffrückhalts wurde diesem Wasser in einer Versuchsreihe zusätzlich ein synthetischer Trübstoff (Quarzmehl Sikron SF60) zugegeben. Die Ergebnisse sind in Abb. 47 dargestellt.

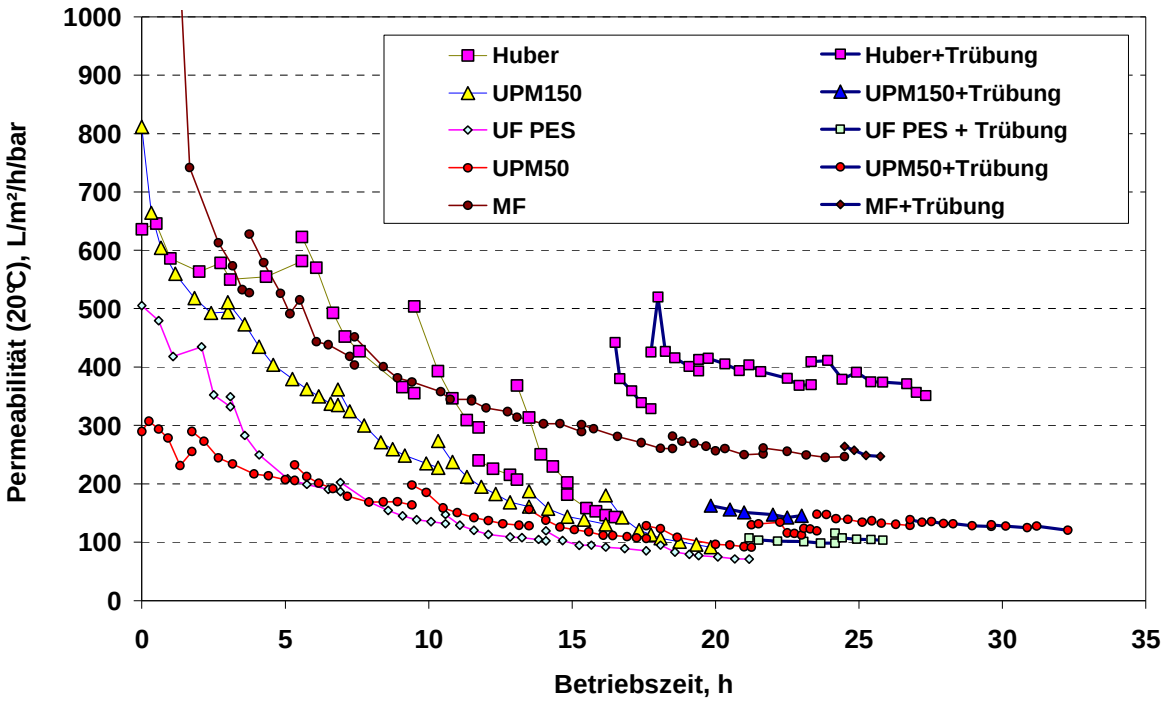


Abb. 47 Permeabilität der eingesetzten Membranen bei verschiedenen Drücken

Im laufenden Betrieb ist eine stete Abnahme der Permeabilität zu beobachten, wobei die Werte für verschiedene Drücke ermittelt wurden. Mit den trübstoffhaltigen Wässern war bei den Membranen Huber und UPM150 eine nachweislich höhere Permeabilität erreichbar.

In Abb. 48 ist der Vergleich der Permeabilität der getesteten Membranen bei einem Betriebsdruck von 1 bar gegeben. Demnach wiesen die beiden Membranen mit der Bezeichnung Huber und UPM150 eine höhere Permeabilität auf als die beiden Membranen UF PES und UPM50. Die MF-Membran hat erwartungsgemäß eine höhere Permeabilität als die UF-Membranen.

Aufgrund dieser Ergebnisse sollten von der UPM150 und der MF-Membran Plattenmodule hergestellt werden. Von der MF-Membran ließ sich jedoch kein Plattenmodul herstellen, da sich beim Verschweißen der Membranplatten die aktive Schicht von der Stützstruktur löste.

Die Suche nach einer MF-Membran erwies sich als schwierig, da sich nicht jedes Membranmaterial zum Verschweißen als Modul eignete. Schließlich konnte eine MF-Membran (Sepro MFB) gefunden werden, die sich zum Einbau in ein Plattenmodul eignete. Im MBR wurde sie parallel zur Original-Hubermembran ab November 2008 eingesetzt.

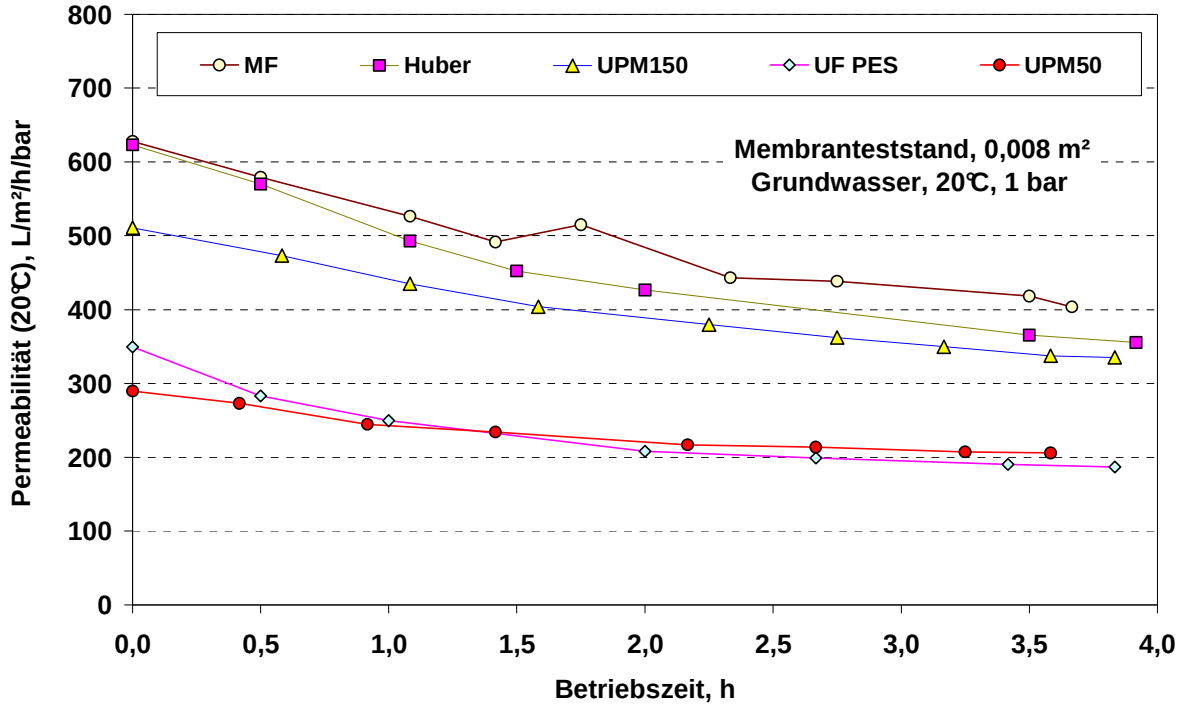


Abb. 48 Permeabilität der eingesetzten Membranen bei einem Druck von 1 bar

Zur Charakterisierung der MF-Membran wurde ihre Permeabilität im Membranteststand bei verschiedenen Drücken ermittelt. Dabei ergab sich – wie in Abb. 49 dargestellt – eine stetige Abnahme der Permeabilität.

Über einen Zeitraum von 25 Stunden (Betriebsstunden 35-60 h) stellte sich bei einem Druck von 1 bar eine Permeabilität von 180-200 L/m²/h/bar ein. Von 63-67 Betriebsstunden wurde ein synthetischer Trübstoff (Quarzmehl Sikron SF60) dosiert. In diesem Zeitraum nahm die Permeabilität deutlich ab. Im folgenden Betriebszeitraum wurde als Feed Talsperrenwasser verwendet. Dies führte zu einer weiteren Abnahme der Permeabilität auf Werte unter 100 L/m²/h/bar. In Abb. 50 ist der zeitliche Verlauf für die Permeabilität im Vergleich zur Huber-Membran dargestellt.

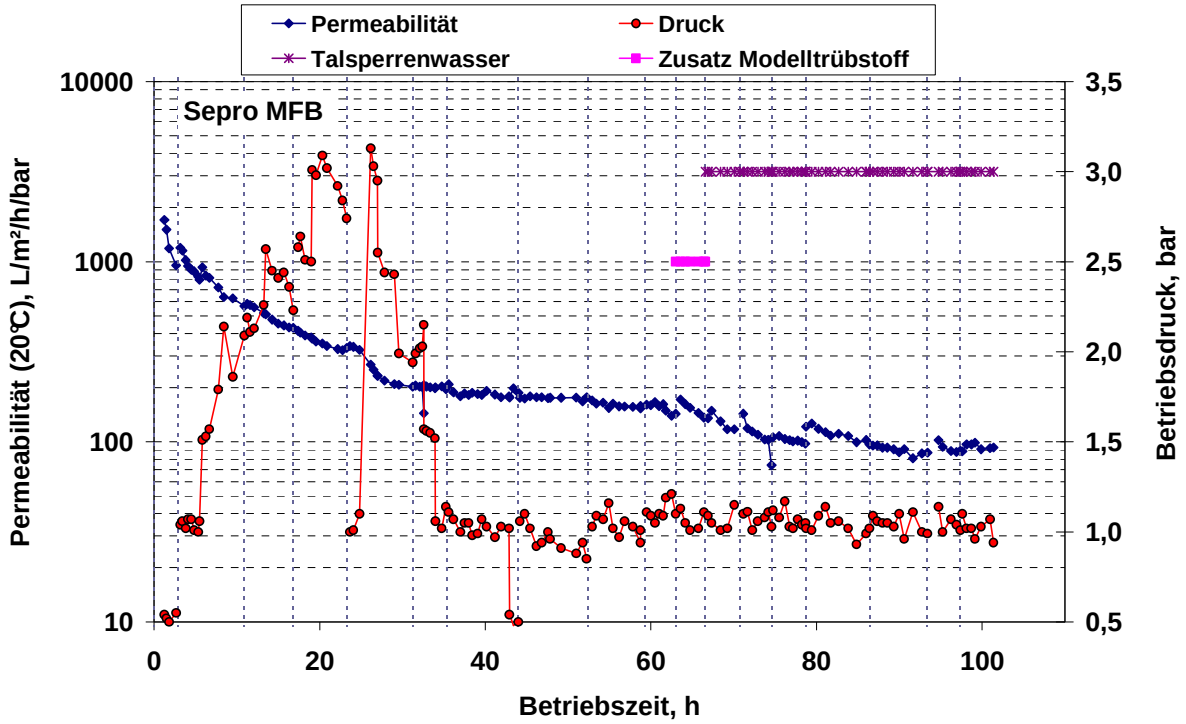


Abb. 49 Permeabilität der eingesetzten MF-Membranen bei verschiedenen Drücken und verschiedenen Wässern

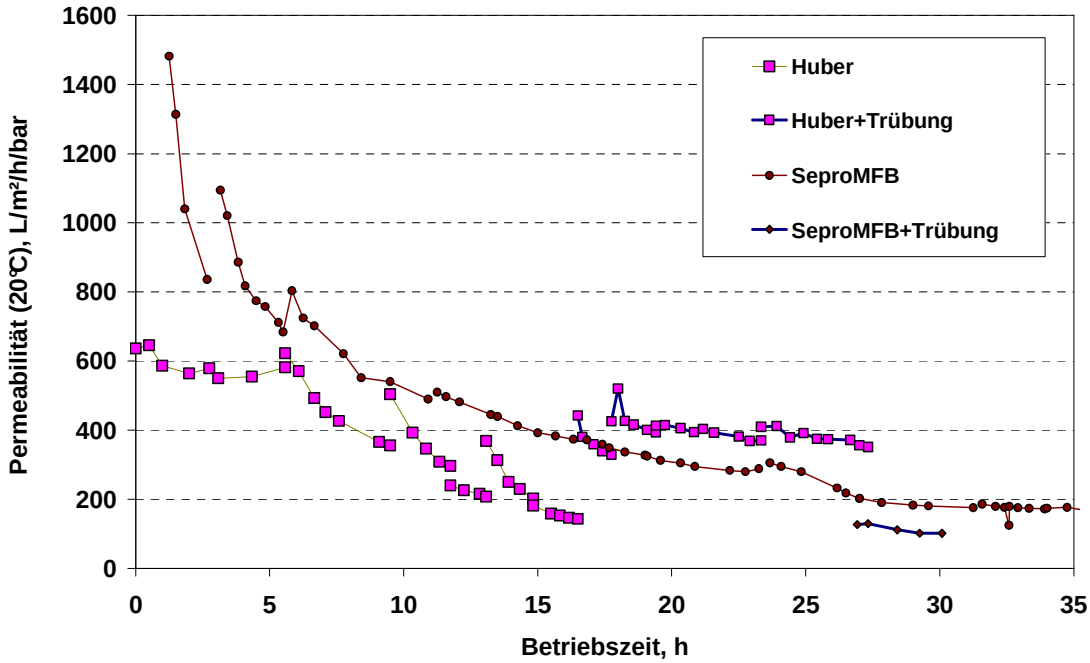


Abb. 50 Permeabilität der MF-Membran im Vergleich zur Huber-Membran bei einem Druck von 1 bar

Die MF-Membran „SeproMFB“ zeigt das typische Verhalten einer MF-Membran mit einer hohen Permeabilität am Anfang sowie einer starken Abnahme im Laufe des Filtrationsbetriebs. Die UF-Membran beginnt mit einem niedrigeren Wert, nimmt dann aber ähnlich stark ab. Bei Zugabe von Modelltrübstoff war die Permeabilität der MF-Membran geringer als ohne Trübstoff, allerdings war die Membran bei diesem Versuch schon länger in Betrieb. Dieses Verhalten ist gegensätzlich zu dem Verhalten der Hubermembran, die mit Trübung eine hö-

here Permeabilität zeigte als ohne (vgl. Abb. 50). Damit war auch beim späteren Betrieb im MBR ein unterschiedliches Verhalten zu erwarten.

6.4.1.5. Herstellung der Plattenmodule

Für die halbtechnischen Versuche stellte die Hans HUBER SE aus den ausgewählten Membranen Plattenmodule mit einer Membranfläche von jeweils 2 m² her. Wie in Abb. 51 dargestellt, werden die flachen Membranen auf eine Stützplatte gebracht und rundum verschweißt. Für ein Plattenmodul werden etwa 20 Platten zusammengesteckt.

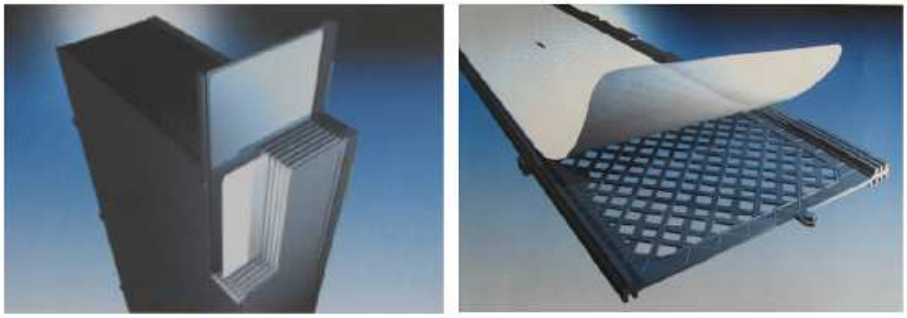


Abb. 51 Aufbau Plattenmodule (Hans HUBER SE)

6.4.1.6. Betrieb einer Laboranlage

Für die Laborversuche stellte die Hans HUBER SE sowohl die entsprechenden Labormodule wie auch eine Laboranlage zur Verfügung. Mit der in Abb. 52 dargestellten Anlage war ein Betrieb der Membranen mit Betriebseinstellungen möglich, wie sie bei der halbtechnischen Anlage realisiert werden sollten. Dies bezieht sich allerdings ausschließlich auf die Flächenbelastung als auch das Filtrationsintervall. Eine Belüftung des Membranmoduls erfolgte in der Laboranlage nicht.

Abb. 52 Laboranlage zum Betrieb der Labormodule

In dieser Anlage wurden zwei der Labormodule (Huber bzw. UPM150) abwechselnd jeweils für mehrere Tage betrieben. Als Vorlage diente partikelfreies Wasser sowie zeitweise ein

Oberflächenwasser. Während dieser Versuche wurde ebenfalls die Permeabilität ermittelt. Die Ergebnisse sind in Abb. 53 dargestellt. Demnach stellte sich im Langzeitbetrieb bei beiden Membranen eine Permeabilität in der Größenordnung von 300 bis 400 L/m²/h/bar ein, wie sie sich auch bei den Versuchen am Membranteststand ergeben hatte.

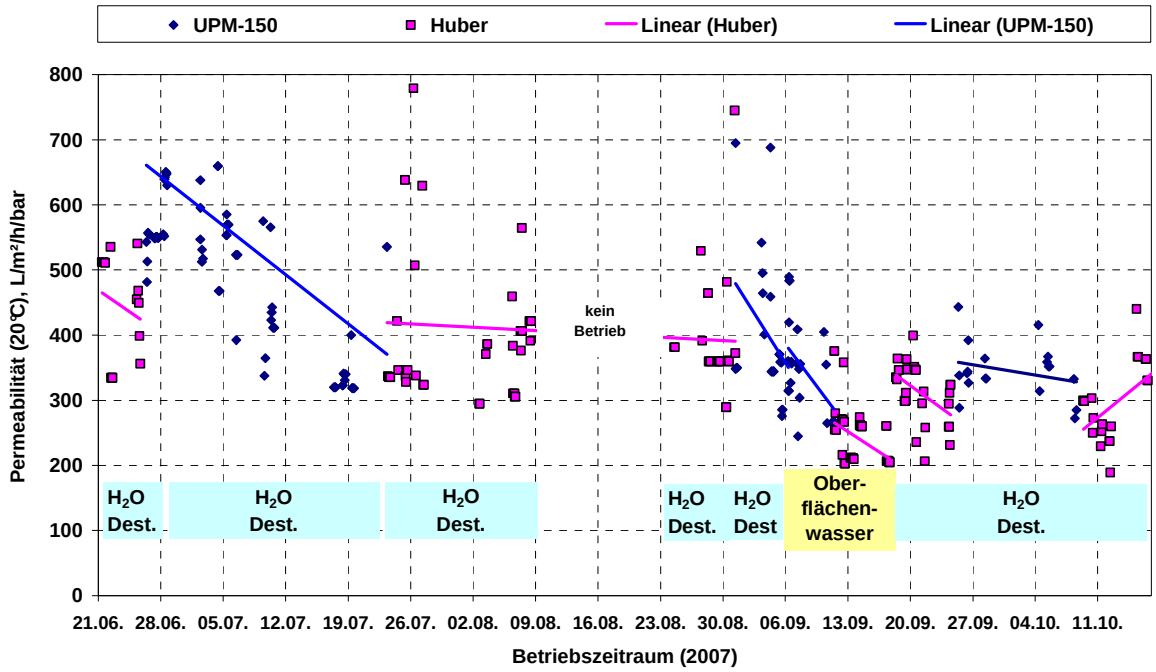


Abb. 53 Ergebnisse zum labortechnischen Betrieb der Labormodule

Zur Charakterisierung der Membranen wurde der Kontaktwinkel gemessen. Er gibt Hinweise über die Hydrophilie der Membranen, das heißt die Eigenschaft, die die Wasserdurchlässigkeit der Membranen beschreibt. Die Messung wurde mit einem Kontaktwinkelmessgerät vom Typ OCA 15 Plus (Dataphysics GmbH, Filderstadt) durchgeführt. Es wurden zwei Methoden angewandt: „static captive bubble“ und „sessile drop“. Im ersten Fall wird der Kontaktwinkel an einem auf der Membranoberfläche sitzenden Wassertropfen vermessen, im zweiten Fall eine Luftblase an einer unter Wasser gesetzten Membran.

Wie aus den Daten in Tab. 16 hervorgeht, unterscheiden sich die beiden UF-Membranen (Huber und UPM150) nicht wesentlich bzgl. der gemessenen Parameter. Es ist also davon auszugehen, dass sich die beiden Membrantypen im praktischen Betrieb vergleichbar verhalten. Die MF-Membran weist ein breiteres Spektrum in Bezug auf die Permeabilität auf als die beiden UF-Membranen. Ferner weist der größere Kontaktwinkel (sessile drop) auf hydrophobe Oberflächeneigenschaften hin. Demnach wird mit dieser Membran ein anderes Betriebsverhalten erwartet.

Tab. 16 Membrantypen – Charakterisierung

Eigenschaften	**Huber**	**UPM 150**	**Sepro MF**
Kontaktwinkel,			
sessile drop°	68,6 ± 7	67,6 ± 5,8	103 ± 3,4
captive bubble°	43,2 ± 4,2	46,6 ± 3,0	39 ± 3,2
Permeabilität (20℃) (reines Wasser), L/m²/h/bar	350 - 620	320 - 510	180 - 1800

6.4.2. Halbtechnische Feldversuche – Phase 2

Für die halbtechnischen Feldversuche wurde von der Fa. Hans HUBER SE, Berching eine MBR-Pilotanlage konstruiert, gefertigt und zur Verfügung gestellt, in der zwei Labormodule parallel betrieben werden konnten.

Es wurde beschlossen, mit der MBR-Pilotanlage zunächst vergleichende Untersuchungen mit den beiden UF-Membranen durchzuführen, die bereits in der Laboranlage erprobt wurden.

6.4.2.1. Beschreibung der Pilotanlage

Die halbtechnische Pilotanlage besteht aus einem Prozesstank, in den zwei Membranmodule (Membranfläche je 2 m²) eingehängt werden können. Die Belüftung im Prozesstank erfolgt über zwei Aggregate: 1. intermittierende Feinbelüftung zur Aufrechterhaltung der Biologie – 2. dauerhafte Grobbelüftung der Membranen zur mechanischen Abreinigung. Die Belüftungseinrichtung für den Prozesstank ist unabhängig von der Modulanzahl. Jedes Modul kann jedoch unabhängig voneinander mit unterschiedlicher Flächenbelastung, verschiedenen Filtrations- und Stillstandszeiten und unabhängiger Spülluftbeaufschlagung betrieben werden. Die grobblasige Belüftung der Membranen ist dauerhaft eingestellt, die Spülluftmenge zwischen 0,5 und 3 Nm³/h regelbar.

Eine schematische Darstellung der Pilotanlage ist Abb. 54 gegeben.

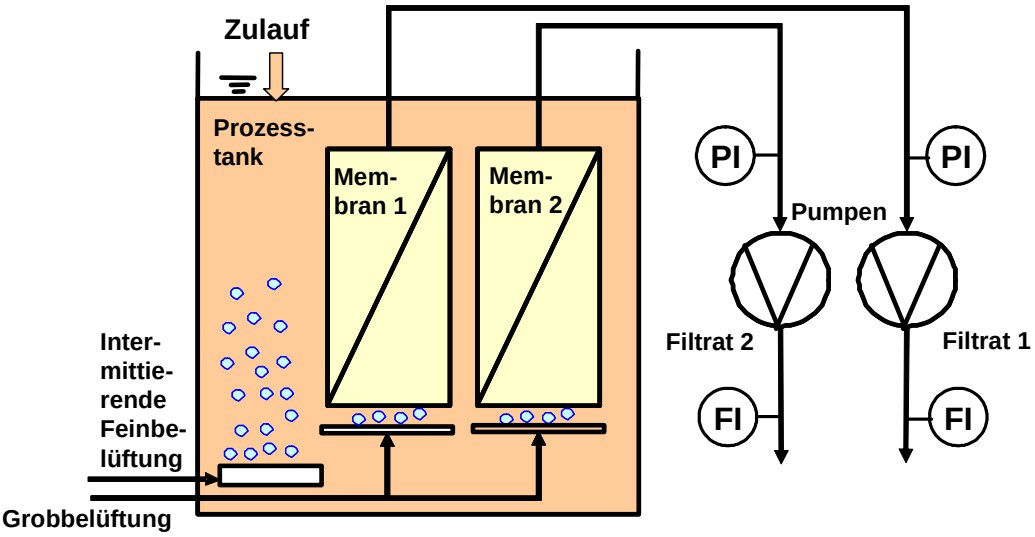


Abb. 54 Schematische Darstellung der halbtechnischen MBR-Pilotanlage

6.4.2.2. Standortbeschreibung Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen

Als Standort für die halbtechnischen Feldversuche wurde die kommunale Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen ausgewählt, die nur einen geringen Eintrag an industriellen Abwässern aufweist, um die Übertragbarkeit auf die Gegebenheiten im Projektgebiet zu verbessern.

Die Kläranlage ist auf 20.000 Einwohnerwerten ausgelegt. Der tägliche Durchsatz liegt zwischen 2.800 und 3.500 m³/d. Die Abwasserbehandlung erfolgt mehrstufig über eine mechanische Vorbehandlung (Rechen 8 mm), Sand- und Fettfang, Belebung mit intermittierender Belüftung und Nachklärbecken. Für die Phosphatelimination wird eine simultane Fällung mittels Natriumaluminat durchgeführt.

Die durchschnittliche hydraulische Verweilzeit beträgt etwa 5 Stunden, das Schlammalter liegt bei etwa 20 Tagen.

Während die konventionelle Anlage wechselweise durch An- bzw. Abschalten der Belüftung im Belebungsbecken unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen betrieben wird, werden die Prozesse Nitrifikation bzw. Denitrifikation wechselweise unterstützt, so dass im Kläranlagenablauf die geforderten Ablaufwerte bzgl. Ammonium bzw. Nitrat eingehalten werden können. Die Zulaufkonzentrationen an gesamtem anorganischem gebundenen Stickstoff ($N_{ges.}$) bzw. Gesamt-Phosphor ($P_{ges.}$) lag bei 60-80 mg/L $N_{ges.}$ bzw. 10 mg/L $P_{ges.}$

In Bezug auf den Abbau von Biomasse wird in der konventionellen Anlage der CSB-Gehalt von im Mittel 500-600 mg/L auf ca. 25-30 mg/L abgebaut. Im Ablauf beider Membranmodule lagen die CSB-Werte stets im Bereich zwischen 15 und 20 mg/L. Bei Regenwetter vermindert sich der CSB-Gehalt auf Werte von 300-400 mg/L. Nach Niederschlagsereignissen, wenn die Regenüberlaufbecken gereinigt werden, kann der CSB-Gehalt zeitweise Werte bis 1000 mg/L erreichen. Ferner verändert sich bei Temperaturschwankungen die Zusammensetzung der Biomasse. Bei ansteigender Temperatur im Frühjahr treten häufig Massenentwicklungen fädiger Bakterien auf, die das Auftreten von Schwimmschlamm verursachen. Diesem wird durch Zugabe von Flockungshilfsmitteln entgegengewirkt.

Die Pilotanlage wurde im Oktober 2007 angeliefert, im Gebläsegebäude aufgestellt und im November 2007 in Betrieb genommen (Abb. 55). Der Raum war auch in den Wintermonaten ausreichend geheizt, so dass die Temperatur im Prozesstank nicht unter 12 ℃ abnahm.

Als Zulauf zur Versuchsanlage diente ein Teilstrom aus dem Zulauf zum Belebungsbecken unmittelbar nach dem Sand- und Fettabscheider der konventionellen Anlage. Für diesen Zweck wurde in den Zulaufschacht zum Belebungsbecken eine Tauchpumpe gehängt und der Prozesstank abhängig vom Wasserstand angesteuert über einen Schwimmerschalter im Prozesstank batchweise aufgefüllt.

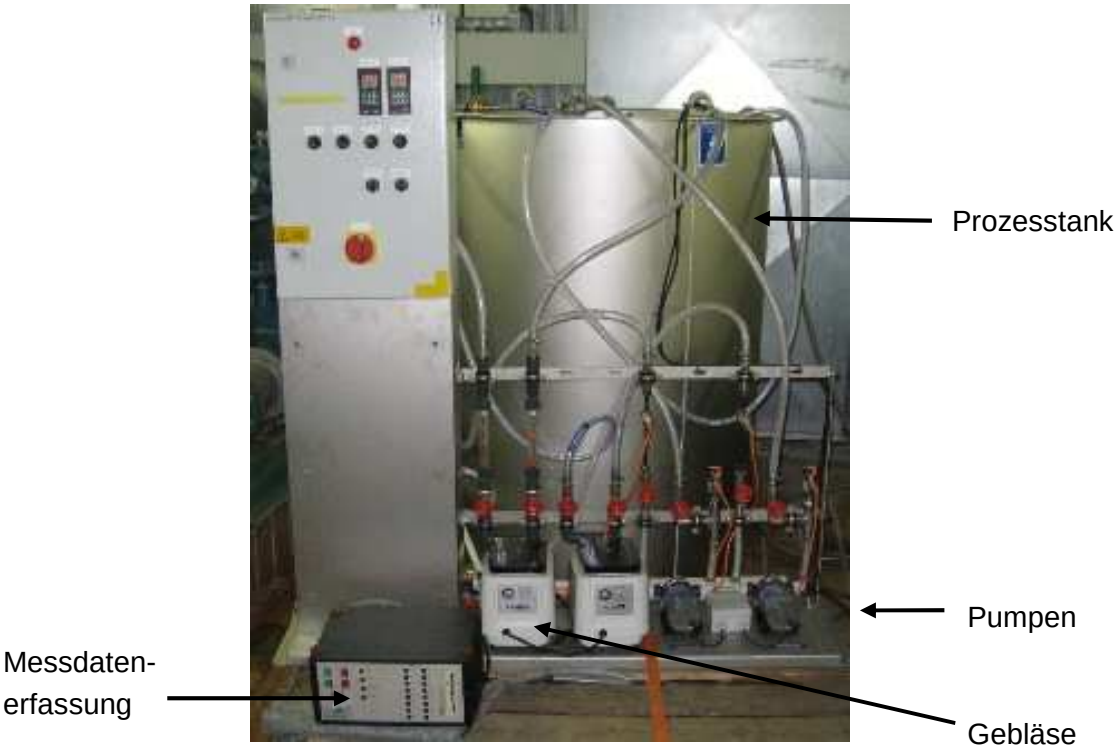


Abb. 55 Ansicht Pilotanlage

Um zu verhindern, dass durch die Zulaufleitung auch bei abgeschalteter Pumpe aufgrund der Heberwirkung weiter Wasser in den Prozesstank läuft und den Tank zum Überlaufen bringt, wurde ein Bypass eingerichtet, der in Abb. 56 dargestellt ist. Während des Pumpenbetriebs läuft überschüssiges Wasser zurück in den Zulaufschacht. Sobald die Pumpe abgeschaltet wird, reißt der Wasserfaden über den offenen Wasserhahn ab und lediglich das Füllvolumen der Leitung zum Prozesstank entleert sich noch darin.

Abb. 56 Bypass für die Zulaufpumpe zur Sicherstellung der Entleerung der Zulaufleitung bei Stillstand

Zu Beginn der Versuche wurde der Prozesstank mit Rückführschlamm aus der konventionellen Anlage angeimpft.

6.4.2.3. Einflussgrößen auf den biologischen Abbau bei der Belebung

Ein wichtiger Designparameter in Kläranlagen ist das Schlammalter, welches die durchschnittliche Verweilzeit der Biomasse im System Belebungsanlage beschreibt. Aufgrund der Kopplung des Schlammalters an die Wachstumsrate der Mikroorganismen wird durch dessen Wahl festgelegt, welche Organismen sich entwickeln und anreichern können und welche Substanzen abgebaut werden. Ein hohes Schlammalter lässt die Anreicherung von Bakterien mit niedriger Wachstumsrate zu. Dadurch können langsam wachsende Spezialisten angereichert werden, die in Abwässern anwesende schwer abbaubare Verbindungen besser eliminieren können. Die Wahl eines bestimmten Schlammalters kann somit die Restkonzentration eines Stoffes im Ablauf bestimmen. Dieser Zusammenhang zwischen Schlammalter und Reinigungsleistung macht das Schlammalter zum wesentlichen Parameter für die Bemessung von Abwasserreinigungsanlagen.

Der Literatur kann entnommen werden, dass bei einem Schlammalter von einem Tag kaum ein biologischer Abbau beobachtet wird und eine Elimination meist nur auf Sorption zurückzuführen ist (Ternes et al. 2004). Bei einem Schlammalter < 4 d (Hochlastbelebungsanlage) findet nur ein geringer Abbau von Schadstoffen statt. Bei einem Schlammalter von 10 bis 15 d wird eine bedeutende Anzahl an Arzneistoffen zumindest teilweise abgebaut. Oberhalb eines Schlammalters von 10 – 15 d wird nur noch eine geringe Zunahme der Eliminationsleistung von Arzneistoffen und festgestellt.

Die Kinetik des biologischen Abbaus von Arzneistoffen im Konzentrationsbereich von µg/L kann mathematisch beschrieben werden. Dementsprechend geht eine steigende Verdünnung des Abwassers mit einer Verschlechterung des Abbaus einher. Um den Abbau der Arzneistoffe zu optimieren, ist deshalb eine Verdünnung durch Niederschlagsereignisse und durch Fremdwasser möglichst zu verhindern.

Im Vergleich zu konventionellen Anlagen, die mit Nitrifikation und Denitrifikation ein Schlammalter von 10 – 15 d aufweisen, werden in Membranbioreaktoren Schlammalter von mehr als 25 Tagen erreicht, die zur Ausbildung einer speziell adaptierten Biomasse führen. Dadurch sind Membranbioreaktoren prinzipiell in der Lage, schwerer oder langsamer abbau-

bare Stoffe effizienter zu eliminieren als konventionelle Belebungsanlagen. Begrenzend wirkt beim Membranverfahren die Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen. Weil die Effizienz des Sauerstoffeintrages mit steigenden Schlammgehalten stark abnimmt, steigt der Energiebedarf für die Belüftung überproportional. Hier gilt es ein entsprechendes Optimum zu finden.

6.4.2.4. Erste Betriebserfahrungen mit dem MBR

Im Verlauf der ersten Versuchsreihen wurden während des Betriebs der MBR-Pilotanlage folgende Beobachtungen gemacht:

- der Eintrag von Luft zur mechanischen Abreinigung der Membranoberflächen ist erforderlich, um den Transmembrandruck stabil zu halten.
- eine Überströmung der Membranoberflächen mit Wasser ist weniger effektiv als eine Überströmung mit einem Luft/Wasser-Gemisch.
- ein Einsatz von Flockungshilfsmitteln zur Schlammbehandlung verursacht einen drastischen Anstieg des Transmembrandruckes.
- ein TS-Gehalt größer 6 g/L bei einem Schlammalter kleiner 5 Tagen führt zu einer massiven Verblockung der Membranmodule (vgl. Abb. 57).
- ein TS-Gehalt bis 10 g/L bei einem Schlammalter über 20 Tagen wird vom MBR problemlos beherrscht und führt in Bezug auf den Transmembrandruck zu stabilen Bedingungen.
- die Abbaubedingungen im Prozesstank (Biowachstum, etc) sind sowohl von der Zusammensetzung des Zulaufwassers als auch den Prozessbedingungen abhängig.
- der regelmäßige Abzug von Überschussschlamm ist erforderlich, um den TS-Gehalt und das Schlammalter auf die gewünschten Werte einzustellen.
- ein Schlammalter größer 25 Tage ist erforderlich, um den Abbau persistenter Spurenstoffe (z.B. pharmazeutische Rückstände) zu verbessern.

Die Reinigung der Module musste bei der massiven Verblockung der Membranen aufgrund des hohen TS-Gehaltes und der ungünstigen Schlammeigenschaften zu Beginn der Versuchsreihen mechanisch erfolgen. Eine chemische Reinigung hatte keinen Erfolg. Die rechte Aufnahme in Abb. 57 zeigt die verblockte Membran im Vergleich zur sauberen Membran.

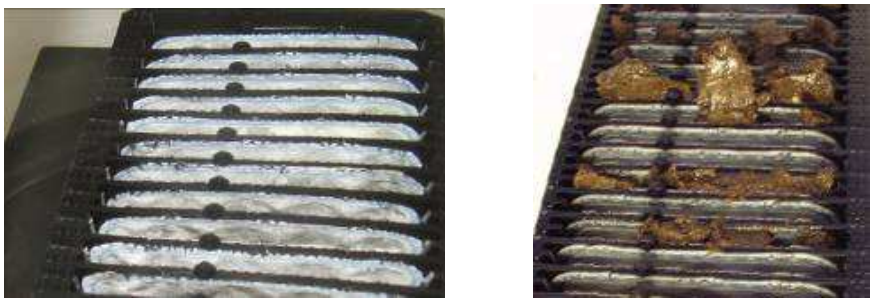


Abb. 57 Ansicht Membranmodul (sauber / verblockt)

6.4.2.5. Systematische Untersuchungen mit dem MBR

Im Rahmen einer Diplomarbeit (Nov.2007-April 2008) wurden am MBR verschiedene systematische Untersuchungen durchgeführt (Kreißel 2008). In Tab. 17 sind die Parameter aufgelistet, die variiert wurden.

Tab. 17 Betriebsbedingungen der MBR

Parameter	**Einheit**	**Messbereich**
Durchflussmenge	L/h	20 – 60
Flächenbelastung	L/m²/h	10, 15, 20, 25, 30
Transmembrandruck	mbar	20 – 800
Filtrationsintervall	min	4,5 bzw. 9
Stillstandszeit	min	0,5 bzw. 1
Spez. Spülluftbedarf (Grobbelüftung)	Nm³/m²/h	0,25 – 1,5
Belüftungsrate (Feinbelüftung)	Nm³/h	2 – 3
Schlammalter	d	5 – 30
Hydraulische Verweilzeit	h	5 – 24

Über die Konzentration des CSB im Zulauf (Mittelwert Trockenwetter ca. 600 mg/L, Regenwetter 300 mg/L), dem effektiven Durchsatz in L/h und dem installierten TS-Gehalt wurde die Schlammbelastung g CSB/g TS/d berechnet und darüber mit der Annahme eines Biomassewachstums von 0,6 g TS/g CSB (Klopp 1999) die anfallende Überschussschlammmenge bestimmt. Diese wurde dann über einen Hahn aus dem Prozesstank entfernt. Zur Kontrolle wurde der TS-Gehalt regelmäßig bestimmt.

Bei Vorgabe eines bestimmten Schlammalters wurde unter Annahme einer CSB-Zulaufkonzentration von ca. 600 mg/L (Mittelwert Trockenwetter) und 300 mg/L (Mittelwert Regenwetter) und einer Wachstumsrate von 0,6 g TS/g CSB die nötige Belastung für die Einhaltung eines bestimmten Schlammalters bei gegebenem TS-Gehalt berechnet. Darüber wurde dann der Durchsatz festgelegt. Die Werte wurden ständig überwacht und der Durchsatz gegebenenfalls angepasst.

6.4.2.5.1. Bestimmung der kritischen Flächenbelastung

Zur Optimierung des Betriebs des MBR wurde die kritische Flächenbelastung bestimmt. Sie ist definiert als die Flächenbelastung, bei der der Anstieg des Transmembrandruckes innerhalb eines Filtrationsintervalls unverhältnismäßig stark ansteigt. In der Literatur wurde dafür ein Wert von 50 mbar/h definiert (Le-Clech et al. 2005).

Zur Ermittlung der kritischen Flächenbelastung wurde die Flächenbelastung im Bereich von 10 bis 35 L/m²/h schrittweise jeweils um 5 L/m²/h erhöht. Dieses Vorgehen wird als Flux-Step-Verfahren bezeichnet. Nach jeder Versuchsreihe wurden die Membranen aus dem Tank entnommen und mit Wasser manuell gereinigt. Der Einfluss auf die kritische Flächenbelastung wurde in Abhängigkeit der Membranspülung, des TS-Gehaltes, der Grobbelüftung sowie des Filtrations-/Pauseintervalls untersucht:

Von besonderem Interesse war hier die Möglichkeit einer Verminderung des Spülluftbedarfs, da dieser den Hauptteil des Energieverbrauches eines MBR darstellt.

In Abb. 58 ist beispielhaft die Bestimmung der kritischen Flächenbelastung für die UF-Membran 2 (UPM150) bei einer Grobbelüftung von 0,5 Nm³/m²/h und einem Filtrations-/Pauseintervall von 9 min / 1 min dargestellt. Ab einer Flächenbelastung von 30 L/m²/h war ein signifikanter Anstieg des $d(\Delta TMP)/dt$ zu beobachten.

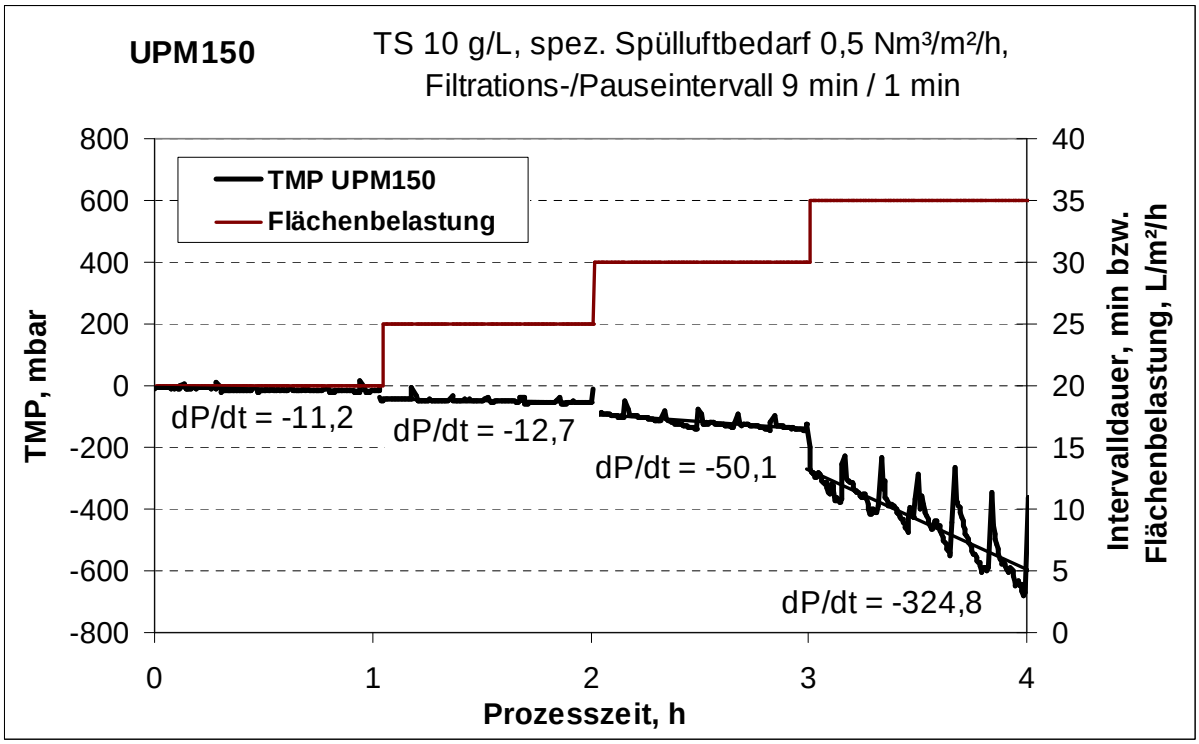


Abb. 58 Bestimmung des kritischen Fluxes mit der Flux-Step-Methode und Berechnung des interessierenden $d(\Delta TMP)/dt$ -Anstiegs

6.4.2.5.2. Einfluss der Membranreinigung mittels Grobbelüftung und Flüssigkeitsüberströmung

In der ersten Versuchsreihe wurden die Membranen jeweils 2 h mit unterschiedlichen Kombinationen mit und ohne Wasserspülung und drei verschiedenen spezifischen Spülluftmengen (1,5 / 0,75 / 0,25 Nm³/m²/h) getestet. Dazu wurde eine zusätzliche Schmutzwasserpumpe im Tank betrieben, welche Belebtschlamm direkt über einen mit 8 mm Löchern versehenen Schlauch von oben auf die Membranmodule pumpte.

Vor jeder Versuchsreihe wurde der Lochschlauch auf mögliche Verstopfungen hin überprüft und ggf. gereinigt. Nach jedem Versuch wurden die Membranen im Stillstand für 15 min mit maximalem Lufteintrag von 1,5 Nm³/m²/h gespült.

Über Nacht wurden die Membranen mit oben beschriebenen Betriebseinstellungen gefahren, um das Schlammalter und den vorgegebenen TS durch eine geringe Schlammbelastung einzuhalten.

Bei transmembranen Drücken über 700 mbar über einen längeren Zeitraum wurden die Membranen chemisch gereinigt.

In einer ersten Versuchsreihe wurden bei einem TS-Gehalt von 6 g/L und einem Schlammalter von 25 d nach einem Schlammalter „Akklimatisationsphase“ die Auswirkungen verschiedener Reinigungsarten auf die Leistung der beiden UF-Membranen (UPM150 und Huber) für 15 und 20 L/m²/h in einem einfachen Flux-Step Verfahren bestimmt. Getestet wurden Grobbelüftungen von 1,5 bzw. 0,75 Nm³/m²/h auch in Kombination mit einer Überspülung mit Belebtschlamm mittels einer Umwälzpumpe.

Aus den Beobachtungen der Einlaufphase des MBR wurde ersichtlich, dass ein häufiger Grund für eine Leistungsminderung die für Plattenmodule typische Verblockung der Membranzwischenräume war. Eine zusätzliche Überströmung dieser Räume sollte für zusätzliche Turbulenzen und einen verstärkten reinigenden Effekt sorgen und somit die Bildung eines Filterkuchens minimieren.

Die eingebaute Umwälzung wurde sowohl im alleinigen Betrieb als auch mit einer zugeschalteten Grobbelüftung getestet (siehe Abb. 59).

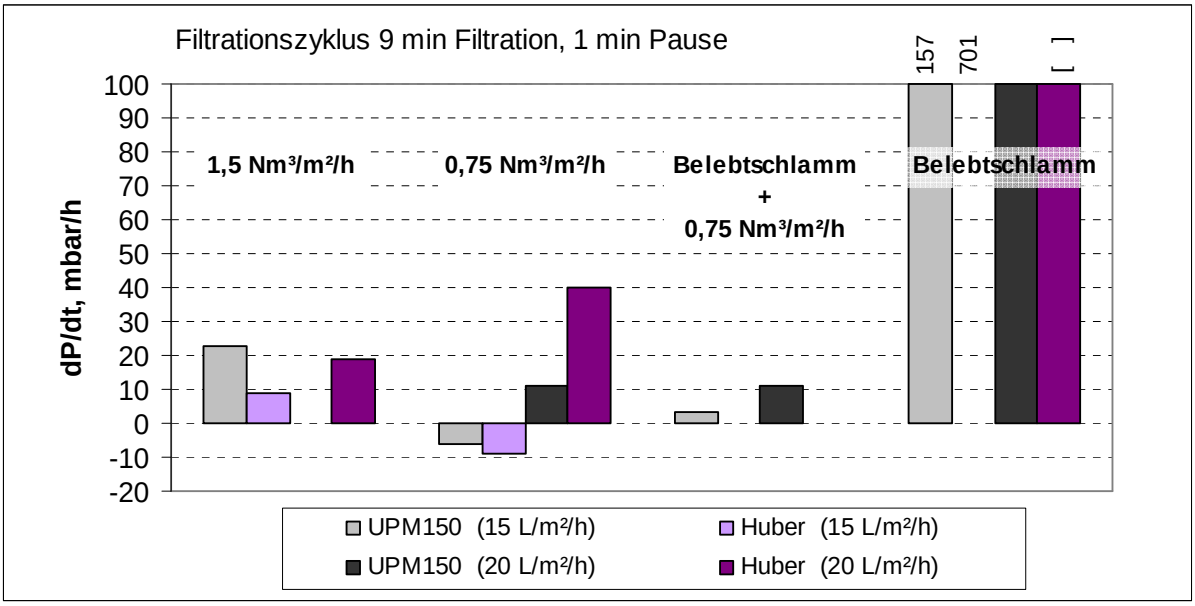


Abb. 59 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für unterschiedliche Grobbelüftungen und Überströmung mit Belebschlamm bei einem TS-Gehalt von 6 g/L und einem Filtrations-/ Pauseintervall von 9 min/1 min für 15 L/m²/h, 20 L/m²/h. Grau unterlegt der subkritische Bereich mit $d(\Delta TMP)/dt$ < 50 mbar/h.

Für beide Membranen ist bei einer alleinigen Reinigung durch Überströmung mit Belebtschlamm ohne weitere Grobbelüftung ein deutlicher Anstieg von $d(\Delta TMP)/dt$ über den Grenzwert für den subkritischen Bereich erkennbar. Für die UF-Membran 1 (Huber) konnte bei 20 L/m²/h der TMP-Anstieg nicht für die Gesamtdauer von einer Stunde bestimmt werden, sodass lediglich der Anstieg in der Anfangsphase des Versuches bestimmt wurde. Rein rechnerisch hätte sich nach 1 Stunde ein Wert von 2.100 mbar/h ergeben. Im Diagramm ist dieser starke TMP-Anstieg lediglich mit [ ] gekennzeichnet.

Eine Grobbelüftung von 0,75 Nm³/m²/h mit einer zusätzlichen Überströmung ließ im Vergleich mit einer alleinigen Grobbelüftung (0,75 Nm³/m²/h) für beide Flächenbelastungen (15 und 20 L/m²/h) und für beide Membranen ebenfalls keinen Einfluss erkennen.

Basierend auf den Erkenntnissen, dass die Erhöhung der Membranüberströmung auf diese Weise keinen positiven Einfluss auf die Membranleistung hat, wurde im weiteren Verlauf der Arbeit diese Form der Membranreinigung nicht weiter berücksichtigt. Eine genauere strömungstechnische Betrachtung des Problems könnte jedoch eine effektive Verbesserung der Filtrationsbedingungen liefern.

6.4.2.5.3. Einfluss der Belüftungsmenge

Aufbauend auf den vorherigen Ergebnissen wurde bei einem TS-Gehalt von 10 g/L der kritische Flux bei einer Grobbelüftung von 1,5 Nm³/m²/h und 0,25 Nm³/m²/h bestimmt, was dem maximal und minimal an der Anlage einstellbaren Luftstrom entsprach. Ziel war es, den spezifischen Spülluftbedarf zur Energieeinsparung so weit wie möglich zu verringern.

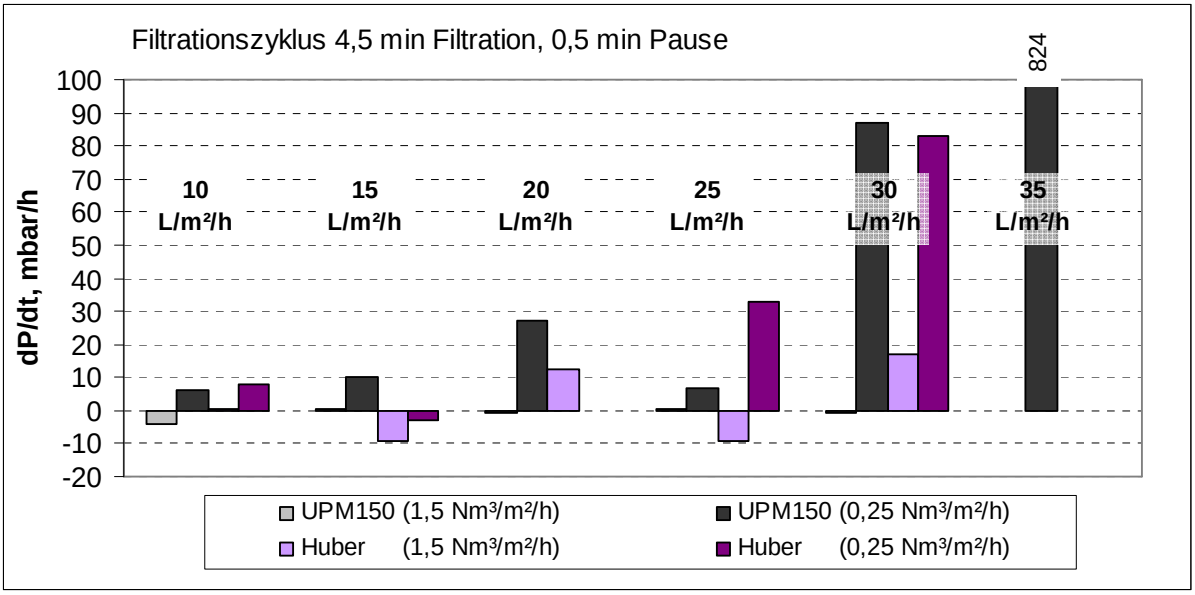


Abb. 60 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für 1,5 und 0,25 Nm³/m²/h mit dem Flux-Step Verfahren bei 10 g/L für das Filtrations-/Pauseintervall 4,5 min / 0,5 min

Wie aus Abb. 60 hervorgeht, war für beide Membranen bei einem Filtrations-/Pauseintervall 4,5 min / 0,5 min unter den vorgegebenen Bedingungen bis zu einer Flächenbelastung von 30 L/m²/h bei einer Grobbelüftung von 1,5 Nm³/m²/h kein überkritischer Zustand erreicht worden.

Bei Verminderung der Grobbelüftung auf 0,25 Nm³/m²/h stieg $d(\Delta TMP)/dt$ für beide Membranen bei einer Flächenbelastung von 30 L/m²/h über den Grenzwert von 50 mbar/h an. Dies war im Wesentlichen auch bei dem Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min der Fall, wie Abb. 61 zeigt.

Bei dieser Versuchsreihe wurde bei maximal Grobbelüftung (1,5 Nm³/m²/h) bis zur Flächenbelastung von 35 L/m²/h kein überkritischer Zustand für beide Membranen erreicht. Bei der verminderten Grobbelüftung war für beide Membranen die kritische Flächenbelastung bei 30-35 L/m²/h erreicht.

Ein Unterschied zwischen den getesteten Membranen konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Im Anschluss wurden die Membranen mit den zuvor bei minimaler Grobbelüftung erreichten kritischen Flächenbelastungen betrieben und die Grobbelüftung von 1,5 Nm³/m²/h schrittweise reduziert, um eine verbesserte Kombination aus erhöhtem Flux und reduzierter Grobbelüftung innerhalb der vorgegebenen Betriebsbedingungen zu bestimmen.

Mit einem Filtrations-/Pauseintervall von 4,5 min / 0,5 min wurden beide UF-Membranen mit dem zuvor bei einer Grobbelüftung von 0,25 Nm³/m²/h bestimmten Flux von 30 L/m²/h betrieben, bei dem der kritische Grenzwert von 50 mbar/h erstmals überschritten wurde. Die anfängliche Belüftung von 1,5 Nm³/m²/h wurde, ähnlich dem Flux-Step-Verfahren, schrittweise reduziert und der Anstieg des transmembranen Druckes aufgezeichnet (siehe Abb. 62).

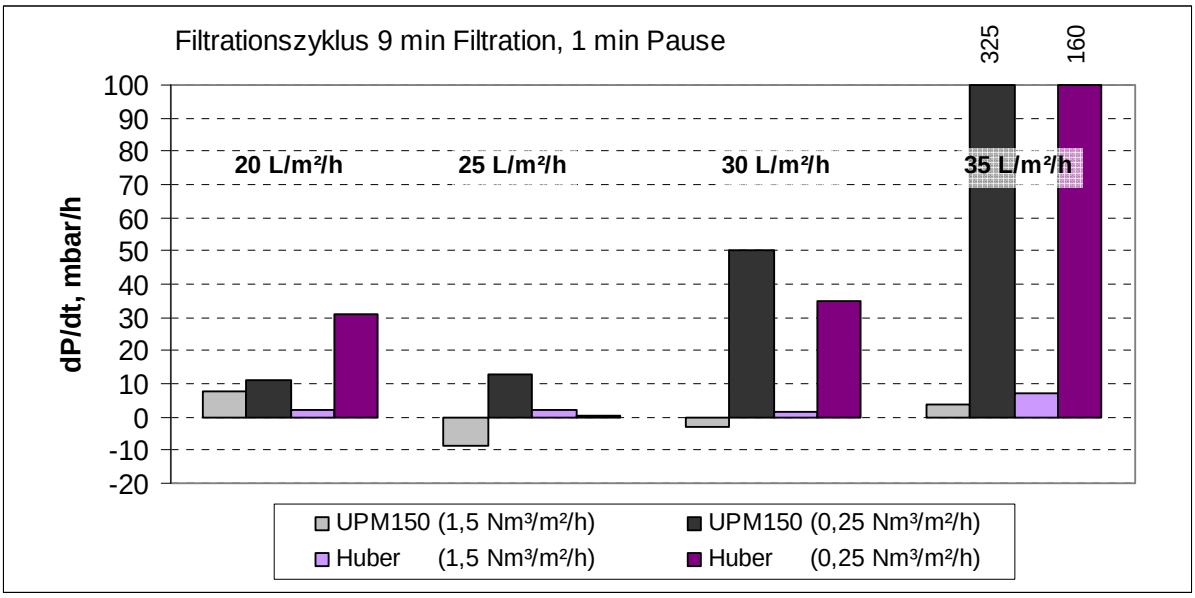


Abb. 61 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für 1,5 und 0,25 Nm³/m²/h mit dem Flux-Step-Verfahren mit TS von 10 g/L und Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min

Bis zu 0,5 Nm³/m²/h liegen die gemessenen $d(\Delta TMP)/dt$ Werte mit bis zu 30 mbar/h bei UPM150 und nahezu 0 mbar/h bei Huber deutlich unter dem kritischen Wert von 50 mbar/h. Erst im letzten Schritt bei einer minimalen Grobbelüftung von 0,25 Nm³/m²/h wird ein überkritischer Zustand gemäß der Definition erreicht.

Mit einer Grobbelüftung von 0,5 Nm³/m²/h und einer Flächenbelastung von 30 L/m²/h liegen beide Membranen nach diesem Verfahren unterhalb ihres kritischen Zustandes.

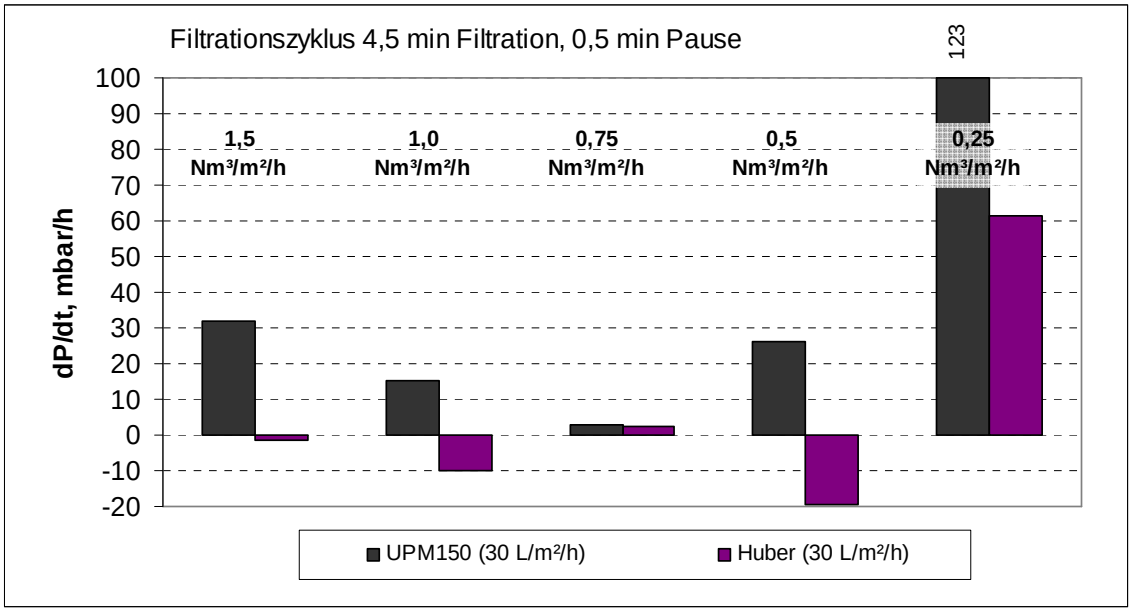


Abb. 62 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für unterschiedliche Grobbelüftungen bei TS 10 g/L, Flux 30 L/m²/h und Filtrations-/Pauseintervall 4,5 min / 0,5 min

Für das Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min wurde der Versuch unter gleichen Bedingungen mit einer Flächenbelastung von 35 L/m²/h durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 63 dargestellt.

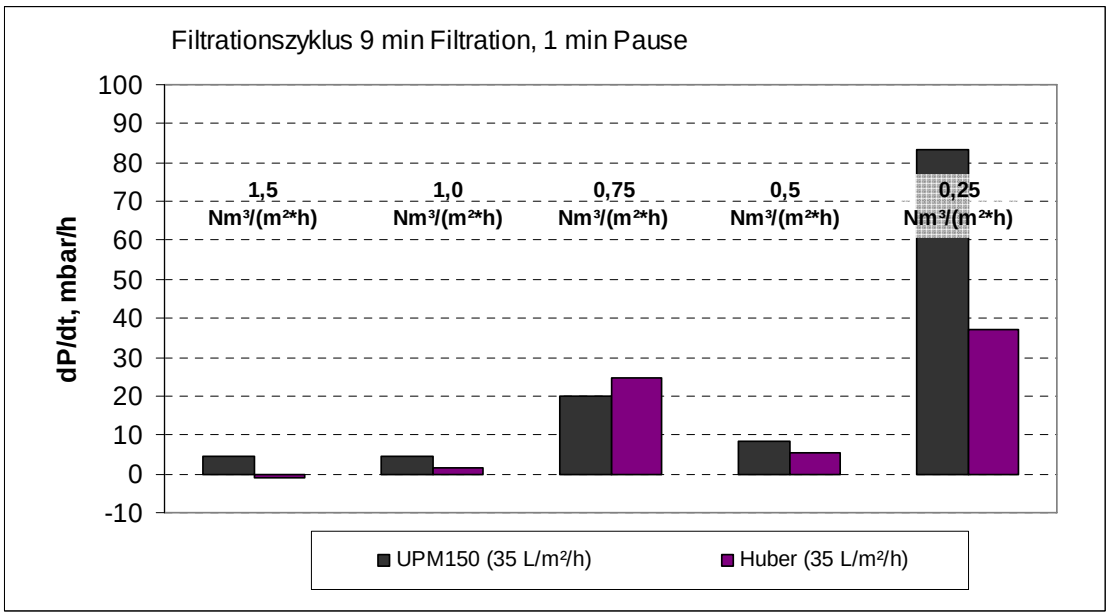


Abb. 63 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für unterschiedliche Grobbelüftungen bei 10 g/L und 35 L/m²/h für den Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min

Wie im ersten Versuch wurde auch hier der Grenzwert des kritischen Fluxes bis zu einer Grobbelüftung von 0,5 Nm³/m²/h mit Werten von 20 mbar/h für die UPM150 und 25 mbar/h für die Huber-Membran deutlich unterschritten.

Im letzten Schritt wurde von UPM150 mit einem TMP Anstieg auf 80 mbar/h der subkritische Bereich überschritten. Auch bei Huber wurden die kritischen Bedingungen erreicht, ab welchen ein stabiler Betrieb nicht weiter durchgeführt werden konnte.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der Einfluss der Belüftungsmenge zur Reinigung der Membranen erheblich ist. Bei der Charakterisierung der Membranen war es möglich die Grobbelüftungsmenge von 1,5 Nm³/m²/h um 2/3 auf 0,5 Nm³/m²/h zu vermindern und dabei gleichzeitig einen höheren als bisher angekommenen kritischen Flux von 30 bzw. 35 L/m²/h zu bestimmen. Die zu testenden Membranen zeigten keine unterschiedliche Reaktion auf die veränderten Belüftungsbedingungen.

Eine weitere Erkenntnis liefert der Vergleich von Abb. 61 und Abb. 62. Sie bilden Ergebnisse zweier unabhängiger Versuchreihen ab und verdeutlichen die Schwierigkeit der Reproduzierbarkeit der Versuchsdurchführung unter realen praxisnahen Bedingungen. Die Werte für $d(\Delta TMP)/dt$ bei auf 0,25 Nm³/m²/h verminderter Grobbelüftung und gleicher Flächenbelastung von 30 L/m²/h weisen Unterschiede von 35 mbar/h bei UPM150 und 20 mbar/h bei Huber auf. Dies zeigt, dass die Einflüsse unter realen Bedingungen vielfältig und bedeutsam sind. Die in dieser Arbeit gewonnenen Daten sind daher nicht geeignet, definitive Aussagen über Absolutwerte zu erhalten. Lediglich der Sprung in den Daten hin zum instabilen Bereich ist belastbar und kann zum Vergleich der Membraneigenschaften herangezogen werden.

6.4.2.5.4. Einfluss der Intervalldauer

Der Einfluss der Dauer des Filtrations-/Pauseintervalls bei gleich bleibendem Verhältnis von Pause zu Filtration wurde schon in den vorherigen Versuchen deutlich und soll hier noch einmal zusammengefasst werden.

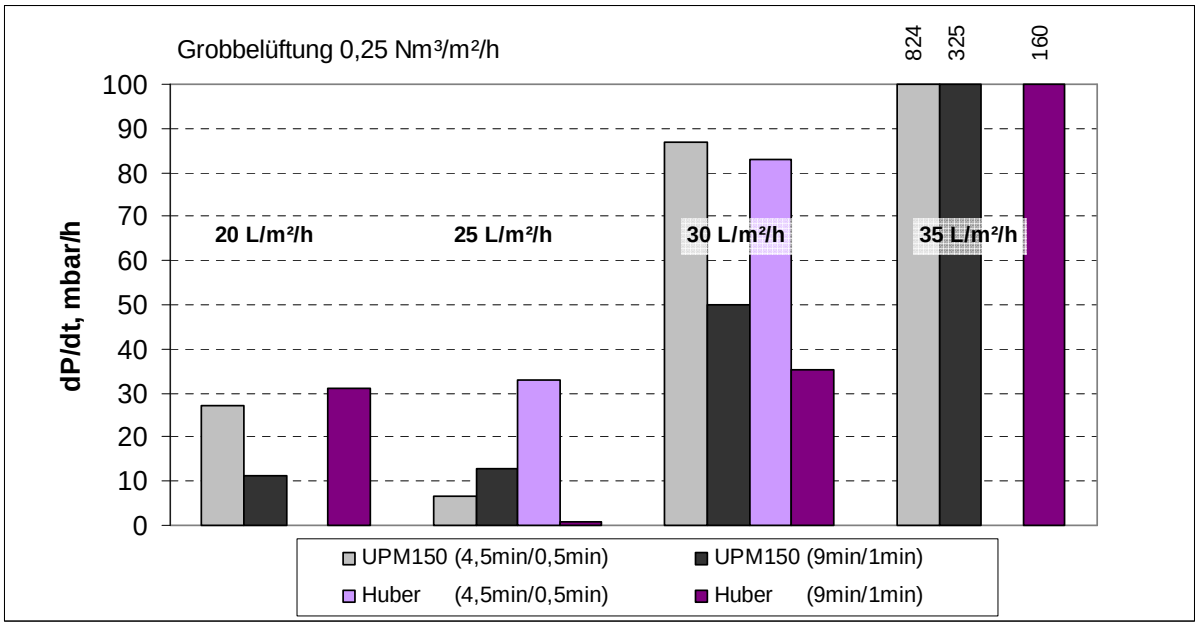


Abb. 64 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für Filtrations-/Pauseintervalle 4,5 min / 0,5 min und 9 min / 1 min bei TS 10 g/L und Grobbelüftung 0,25 Nm³/m²/h für unterschiedliche Flächenbelastungen

In Abb. 64 sind die $d(\Delta TMP)/dt$ Werte der Flux-Step-Versuche bei 0,25 Nm³/m²/h für die zwei Filtrations-/Pauseintervalle 4,5 min / 0,5 min und 9 min / 1 min aufgeführt. Es wird deutlich, dass für beide Membranen für das Filtrations-/Pauseintervall 4,5 min / 0,5 min die kritische Flächenbelastung bei 30 L/m²/h und für das Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min bei 35 L/m²/h erreicht wurde.

Von den Beobachtungen aus der Einlaufphase des MBR ist bekannt, dass bei der Huber-Membran bei einer Flächenbelastung von 15 L/m²/h und bei einem Filtrations-/ Pauseintervall von 7 min / 0,5 min der kritische Punkt überschritten wurde und es zu einem drastischen Ansteigen des TMP kam. Dieses Filtrations-/Pauseintervall hatte ein Verhältnis von 14:1, wohingegen bei den hier beschriebenen Filtrationsintervallen das Verhältnis jeweils bei 9:1 lag. Der Anstieg der kritischen Flächenbelastung um eine Stufenhöhe von 30 auf 35 L/m²/h bei einer Verdopplung der Intervallzeiten lässt vermuten, dass der positive Effekt einer Verlängerung der Pausezeit die Auswirkungen einer verlängerten Filtrationszeit überwiegt.

Zur genaueren Betrachtung dieses Phänomens wurde ein weiterer Flux-Step Versuch mit einem Filtrations-/Pauseintervall 13,5 min / 1,5 min nach zwei Schlammaltern (entspricht 50 Tagen) Adaptationszeit durchgeführt. Die Bestimmung erfolgte stellvertretend für UPM150. Es ergab sich sowohl für das verlängerte Filtrations-/Pauseintervall als auch für das Kontrollintervall von 4,5 min / 0,5 min eine erhöhte kritische Flächenbelastung von 45 L/m²/h bei 0,25 Nm³/m²/h. Da in diesem Zeitraum auch bei der konventionellen Kläranlage Probleme mit der Biologie auftraten (veränderte Biozönose durch das Auftreten von fädigen Schwefelbakterien) konnte nicht abschließend bestimmt werden, was diese Erhöhung des kritischen Fluxes, auch für das Intervall 4,5 min / 0,5 min verursachte.

Eine so drastische Beeinflussung der Leistung der beiden Membranen, wie durch die veränderten Belüftungsbedingungen beobachtet, konnte für die hier getesteten Filtrationsintervalle nicht erkannt werden. Es ist jedoch zu vermuten, dass eine Erhöhung der Filtrationszeit ab einer bestimmten Intervalldauer ebenfalls einen kritischen Wert überschreitet und eine Verblockung der Membranen verursacht. Auch hier zeigten die Membranen keine eindeutig identifizierbaren Unterschiede.

6.4.2.5.5. Einfluss des TS-Gehaltes

Einer der Vorteile der MBR ist die Möglichkeit den TS-Gehalt höher zu halten als bei einer konventionellen Kläranlage, da die Nachreinigung und deren Abhängigkeit von den Sedimentationseigenschaften des Schlammes durch den Einsatz der Membranen entfällt.

Tests wurden ausgeführt bei einem TS-Gehalt von 6 g/L, wie er vom Hersteller des MBR, Fa. HUBER SE, Berching empfohlen wurde und bei einem TS-Gehalt von 10 g/L, wie er häufig für in Betrieb befindliche Membranbelebungsanlagen angegeben wird.

Bei beiden TS-Gehalten lag ein theoretisches Schlammalter von 25 d vor mit einer Adaptationsphase von einem Schlammalter (25 Tage). Identische biologische Konditionen sind aufgrund der Komplexität der Biomassekomponenten des Parameters TS-Gehalt von großer Bedeutung.

Die Ergebnisse für die Flux-Step-Versuche mit verschiedenen Flächenbelastungen bei einer Grobbelüftung von 1,5 Nm³/m²/h sind in Abb. 65 dargestellt.

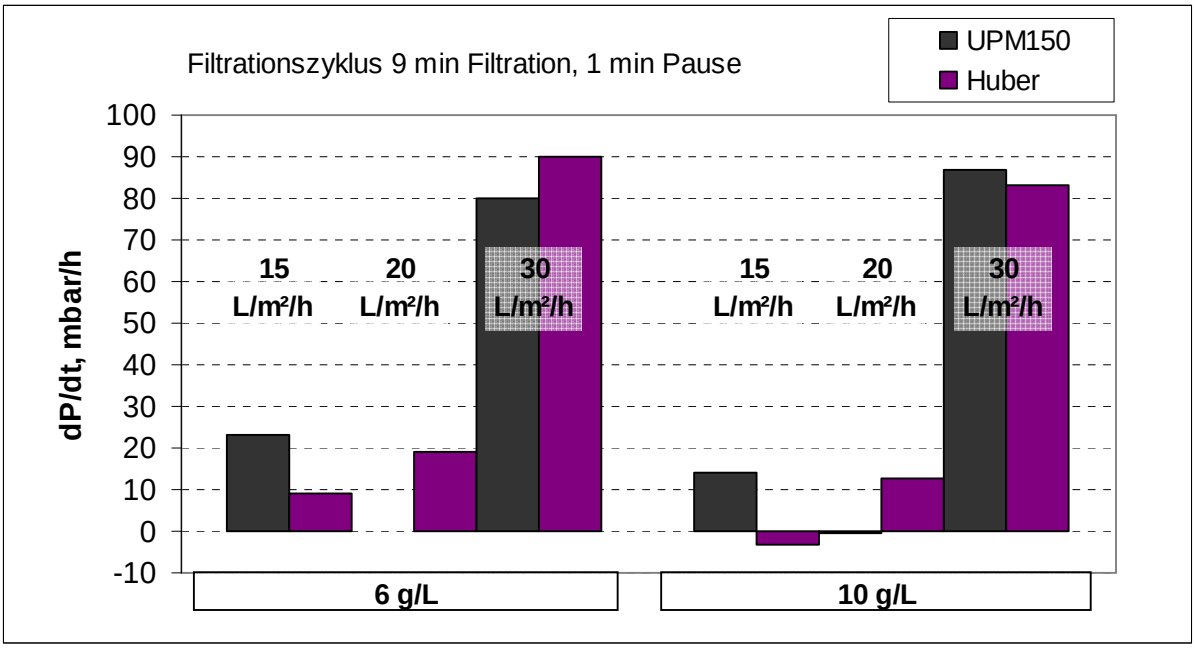


Abb. 65 Vergleich von $d(\Delta TMP)/dt$ für unterschiedliche TS-Gehalte von 6 und 10 g/L bei einem Filtrations-/Pauseintervall von 9 min / 1 min, Grobbelüftung von 1,5 Nm³/m²/h für die Flächenbelastungen 15 und 20 L/m²/h

Sowohl für das Filtrations-/Pauseintervall 9 min / 1 min als auch für 4,5 min / 0,5 min kann der Einfluss einer TS-Erhöhung von 6 auf 10 g/L auf den transmembranen Druckanstieg als gering betrachtet werden.

Der Vergleich mit aus der Literatur entnommenen Beobachtungen muss immer unter dem Vorbehalt angestellt werden, dass die biologischen Gegebenheiten, wie Schlammalter, Durchführung der TS-Gehalt Änderung und Konzentration der EPS wiederum Einflussfaktoren darstellen und die versuchstechnischen Voraussetzungen oft nicht definiert sind (Le-Clech et al. 2003, Rosenberger et al. 2005).

Abschließend konnte für den Einflussparameter TS-Gehalt gezeigt werden, dass sich eine Erhöhung von 6 auf 10 g/L im für diesen Parameter subkritischen Bereich bewegte und keinen Einfluss auf die Bestimmung des kritischen Fluxes für die hier gefahrenen Filtrationszyklen hatte. Jedoch kann auch hier angenommen werden, wie auch in der Literatur bestätigt, dass es einen kritischen Punkt gibt, ab welchem der Einfluss des TS-Gehaltes stark zunehmen wird. Es lässt sich aus den Beobachtungen der Einlaufphase heraus darauf schließen, dass sich dieser Punkt an der hier betriebenen Pilotanlage um einen Wert von ca. 12 g/L bewegen dürfte. Hier kam es schon bei einem subkritischen Flux von 15 L/m²/h zu merklichen Verblockungen in den Membranzwischenräumen. Unterschiede zwischen den Membranen wurden auch hier nicht festgestellt.

Der Verlauf des TS-Gehaltes ist in Abb. 66 über dem gesamten Betriebszeitraum aufgetragen. Der TS-Gehalt wird durch regelmäßigen Abzug von Überschussschlamm auf dem gewünschten Niveau gehalten.

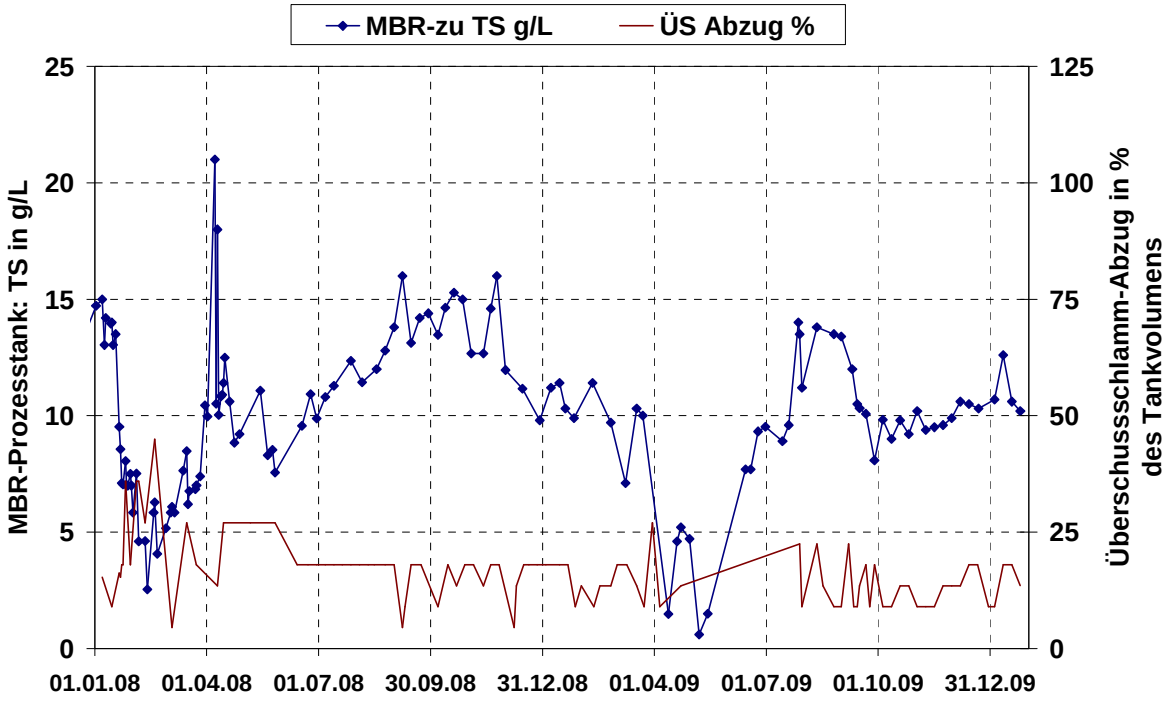


Abb. 66 Verlauf des TS-Gehaltes im MBR Prozesstank über dem Betriebszeitraum

6.4.2.5.6. Sauerstoffgehalt im Reaktor

Während bei einem TS-Gehalt von 6 g/L die Sauerstoffversorgung durch die Feinbelüftung (6 Nm³/m²/h) bei einem Intervall von 6 min Belüftung und 2 min Pause ausreichte, um einen Sauerstoffgehalt zwischen 0,6 und 1,4 mg/L aufrecht zu erhalten, musste bei 10 g/L die Belüftung dauerhaft betrieben werden, um einen Sauerstoffgehalt zwischen 0,5 und 2 mg/L zu erreichen. Ein alleiniger Betrieb der Grobbelüftung von 0,5 Nm³/m²/h reichte nicht aus. Trotz der Dauerbelüftung kam es zur Ausbildung von anoxischen Bereichen im Tank, wodurch auch Denitrifikationsprozesse initiiert wurden.

6.4.2.5.7. Filtratqualität bei hohen Flächenbelastungen

Um den Rückhalt der Membranen bei hohen Flächenbelastungen und damit höherer Belastung zu beurteilen, wurde einmalig die CSB–Konzentration im Ablauf der beiden Ultrafiltrationsmembranen gemessen.

Aus Tab. 18 wird ersichtlich, dass es nicht zu einer Qualitätsminderung des Ablaufes bei einer hohen Flächenbelastung von 35 L/m²/h durch den erhöhten Durchfluss durch die Membranen kam. Alle Werte liegen unter dem Grenzwert von 30 mg/L.

Tab. 18 CSB-Konzentrationen im Ablauf der UPM150 und Huber bei unterschiedlichen Flächenbelastungen

Flächenbelastung (L/m²/h)	UPM150 CSB im Filtrat (mg/L)	Huber CSB im Filtrat (mg/L)
20	27,0	24,6
25	25,5	22,1
35	25,2	22,8

6.4.2.5.8. Filtratqualität im Langzeitbetrieb

Der Zulauf zum MBR unterliegt in Bezug auf den CSB-Gehalt denselben Schwankungen wie der Zulauf der Kläranlage. Der Ablauf der konventionellen Kläranlage weist Werte im Bereich 15-50 mg/L auf und spiegelt letztendlich die Schwankungen im Zulauf wieder. Wie aus den in Abb. 67 dargestellten Daten zu erkennen ist, liegen die CSB-Werte im Ablauf des MBR im Allgemeinen unter den Werten für die konventionelle Kläranlage.

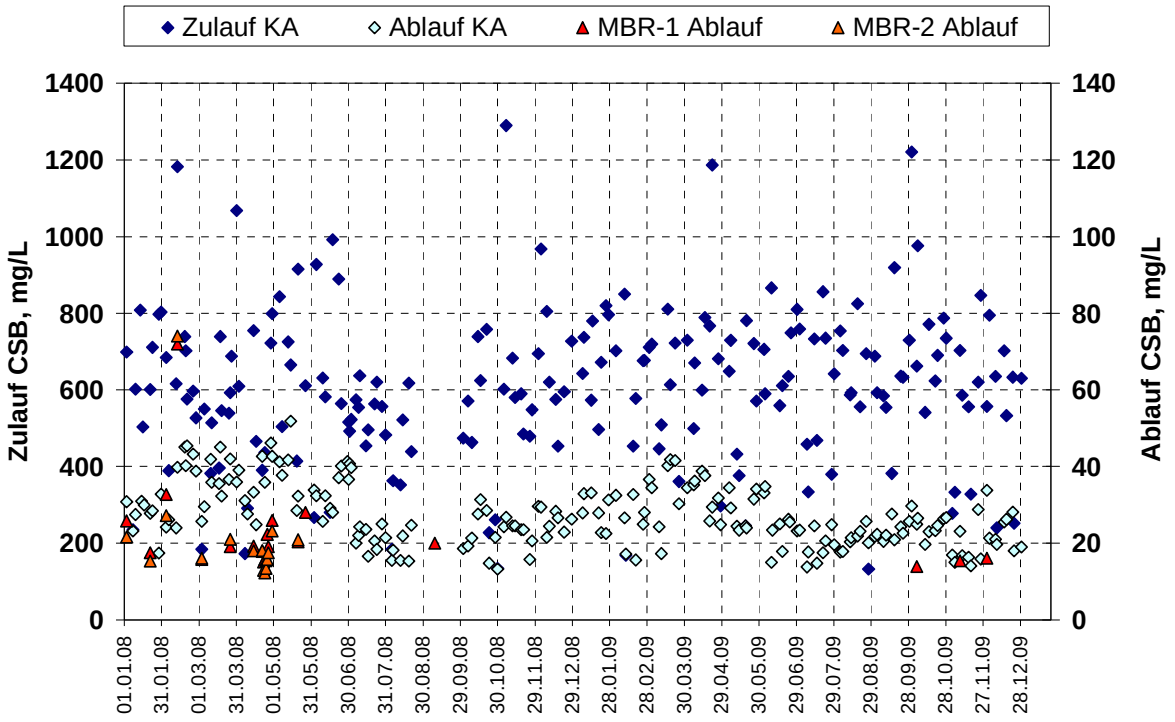


Abb. 67 Zeitliche CSB-Schwankungen im Zu- und Ablauf der Kläranlage (KA) und des MBR

Im laufenden Betrieb des MBR seit April 2008 wurden regelmäßig Messungen zur Filtratqualität durchgeführt. Sporadisch wurde die Trübung im Filtrat gemessen. Dabei wurden stets Werte unter 0,1 FNU gemessen. Die Filtrate wiesen jedoch eine deutliche Färbung auf. Hier traten Werte bis zu 2 m^{-1} auf.

Zur Ermittlung des Rückhalts der Membranen in Bezug auf Partikel in der Größenordnung von Viren wurden die Filtrate mittels Nanopartikelanalyse untersucht. Zum Zeitpunkt der Untersuchungen waren im MBR die UF-Membran (Huber) und die MF-Membran (Sepro) im

Einsatz. Die Ergebnisse sind für den Nanopartikeldurchmesser in Abb. 68 oben und für das Nanopartikelvolumen in ***Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.*** unten dargestellt. Ergänzend ist der bei der Probenahme herrschende TS-Gehalt mit aufgeführt. Das Nanopartikelvolumen berechnet sich aus dem Nanopartikeldurchmesser und der Nanopartikelanzahl unter Annahme kugelförmiger Partikel.

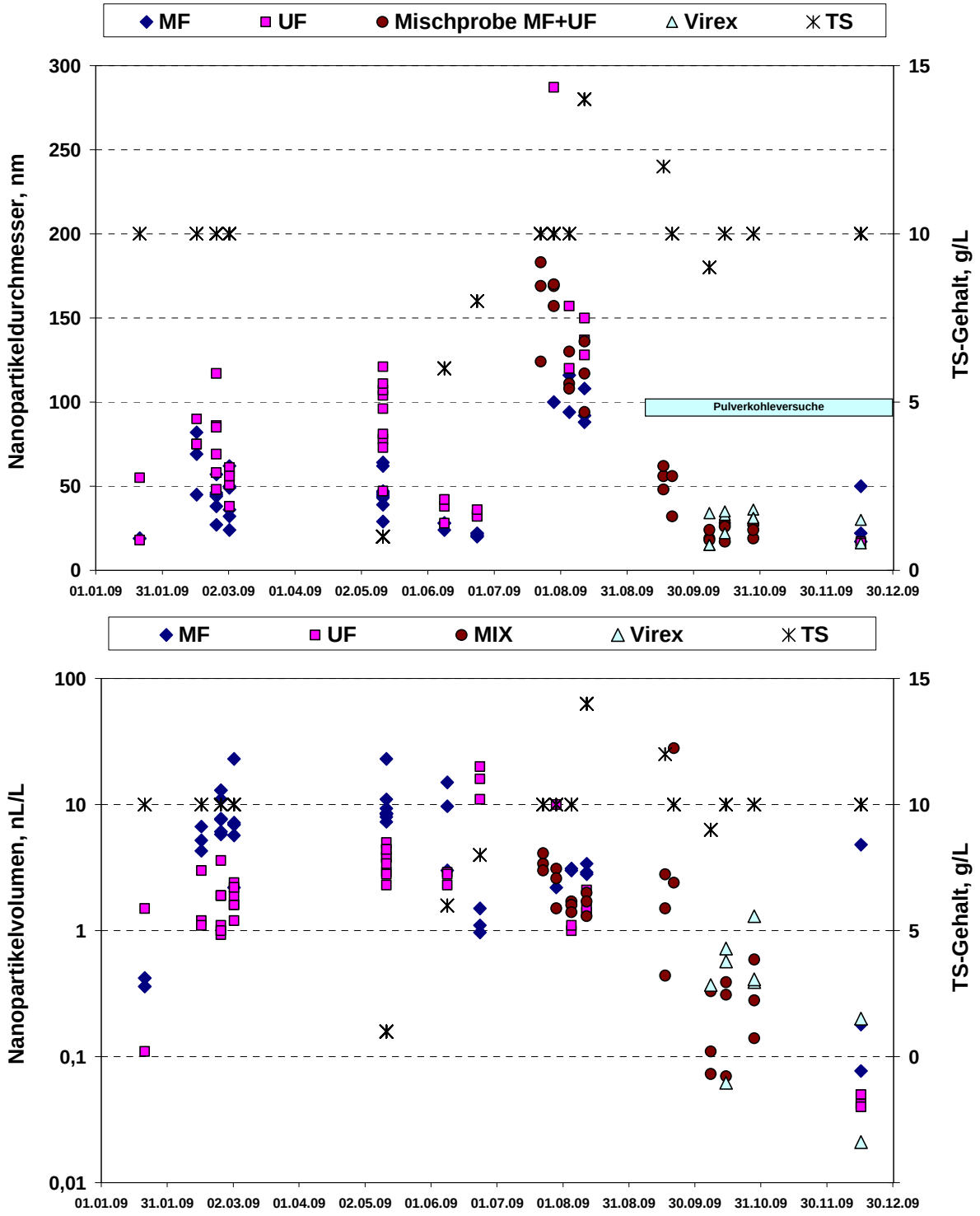


Abb. 68 Zeitliche Veränderung von Nanopartikeldurchmesser (oben) und Nanopartikelvolumen (unten) im Ablauf des MBR (MF; UF; Mischprobe) und einer UF-Membran zur Abtrennung der Pulverkohle (Virex)

In den Filtraten wurden demnach mittlere Nanopartikeldurchmesser im Bereich von 20-180 nm nachgewiesen, wobei die Werte für die Filtrate der MF-Membran im Mittel kleiner waren als für die Filtrate der UF-Membran.

Die Nanopartikelvolumina lagen meist unter 25 nL/L. Werte in der Größenordnung von 10 nL/L wurden im Rahmen eines anderen Forschungsvorhabens in anderen UF-Filtraten gemessen (BMBF, 2009).

Beim Vergleich der Werte der beiden Membrantypen für das Nanopartikelvolumen lässt sich ein Trend zu geringeren Werten bei der UF-Membran erkennen. Bei der MF-Membran sind größere Werte für das Nanopartikelvolumen bedingt durch größere Partikelanzahlen, obwohl kleinere Durchmesser nachgewiesen wurden. Aufgrund der noch geringen Datenbasis lassen sich hier noch keine endgültigen Aussagen festlegen. Weitere Messungen sind vorgesehen.

Ein Einfluss des Transmembrandruckes war aus den Daten nicht abzulesen, obwohl bei höheren Transmembrandrücken kleinere Durchmesser aufgetreten waren als bei geringeren TMP. Der TS-Gehalt war unverändert bei 10 g/L.

Im Zeitraum von Mitte September bis Ende Dezember 2009 wurden Pulverkohleversuche durchgeführt. Auf diese wird in Kapitel 6.2.2.6 näher eingegangen.

6.4.2.5.9. Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf MS2-Phagen

An der halbtechnischen Pilotanlage in der Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen wurde die Rückhaltekapazität in Bezug auf MS2 Phagen an vier Probenahmeterminen überprüft. Für die Probenahmetermine im Mai und September 2008 waren die UF-Membran (P105F) der Firma Huber und die UF-Membran (UPM-150) installiert. Ab November 2008 wurde die Membran UPM-150 gegen eine MF-Membran ausgetauscht.

Zu vier Zeitpunkten wurden Proben vom Kläranlagenzulauf, dem Prozesstank und Filtrate der beiden Membranen genommen und der MS2 Bakteriophage mittels qualitativer und Real-time PCR detektiert. Drei Probenahmetermine wurden durch den Nachweis der Phagen im Kulturverfahren begleitet. Die Ergebnisse sind in Tab. 19 zusammengefasst.

Tab. 19 Ergebnisse der Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf MS2 Phagen (n.b. nicht bestimmt; n.a. nicht auswertbar; NWG Nachweisgrenze [1 pfu/100 mL])

Probenahme-datum	Verfahren [copies bzw. pfu/100mL]	Zulauf	Prozess-	Filtrat UPM 150	Filtrat MF	Filtrat Huber
Mai 2008	Real Time PCR	$4{,}8x10^3$	n.a.	$4{,}8x10^3$	-	$4{,}2x10^3$
	Kulturverfahren	n.a.	$8{,}8x10^5$	< NWG	-	< NWG
September 2008	Real Time PCR	n.b.	$1{,}1x10^3$	$3{,}3x10^1$	-	$6{,}5x10^1$
	Kulturverfahren	n.b.	n.b.	n.b.	-	n.b.
Februar 2009	Real Time PCR	$1{,}3x10^4$	$5{,}6x10^4$	-	$1{,}3x10^1$	$2{,}8x10^1$
	Kulturverfahren	$1{,}4x10^5$	$5{,}1x10^5$	-	< NWG	< NWG
August 2009	Real Time PCR	$2{,}6x10^4$	n.b.	-	$2{,}4x10^1$	n.a.
	Kulturverfahren	$4{,}9x10^4$	n.b.	-	< NWG	< NWG

Folgende Schlussfolgerungen wurden aus den Ergebnissen gezogen:

1. Die Konzentration, welche an MS2 Phagen über den Zulauf eingetragen wird, liegt jeweils in der Größenordnung von 10^4 bis 10^5 pfu/100 mL.
2. Im Prozesstank findet eine Anreicherung von Mikroorganismen statt.
3. Alle drei Membranen besitzen in etwa die gleiche Rückhaltekapazität.
4. Mit Ausnahme der ersten Probenahme (Einlaufzeit) werden die MS2 Bakteriophagen durch die Membranen um zwei bis drei log-Stufen reduziert.
5. In den Filtraten waren beim Kulturverfahren keine Organismen mehr nachweisbar, während über die quantitative PCR stets Konzentrationen zwischen 10^1 und 10^3 copies/100 mL detektierbar waren. Das Kulturverfahren erfasst nur lebende Organismen. Die Vermutung liegt nahe, dass mit der PCR in den Filtraten zum Großteil inaktive Organismen oder sogar freie Nukleinsäuren erfasst werden.

6.4.2.5.10. Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf weitere Organismen

An zwei Probenahmeterminen wurde die Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf die Organismen *E.coli*, Coliforme und *P.aeruginosa* untersucht. Die Ergebnisse sind in den Tab. 20 und Tab. 21 dargestellt.

Tab. 20 Ergebnisse der Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf weitere Organismen; August 2009 (n.a. nicht auswertbar; NWG Nachweisgrenze [1 Keim/100 mL])

Organismus	Verfahren [copies bzw. Keime/ 100 mL]	Zulauf Kläranlage	Filtrat MF	Filtrat UF (Huber)	Ablauf Kläranlage
E.coli	Real Time PCR	$1{,}6x10^5$	$5{,}9x10^1$	$8{,}9x10^1$	$2{,}9x10^3$
	Kulturverfahren	$8{,}8x10^6$	$2{,}5x10^2$	$2{,}9x10^1$	$7{,}6x10^4$
Coliforme	Kulturverfahren	$3{,}4x10^7$	$> 2{,}4x10^3$	$> 2{,}4x10^3$	$5{,}3x10^5$
P. aeruginosa	Real Time PCR	$5{,}8x10^4$	n.a.	n.a.	n.a.
	Kulturverfahren	$1{,}1x10^4$	$2{,}2x10^3$	< NWG	$1{,}1x10^3$

Tab. 21 Ergebnisse der Ermittlung der Rückhaltekapazität des Membranbioreaktors in Bezug auf weitere Organismen mit dem Kulturverfahren; September 2009

Organismus	Zulauf Kläranlage [Keime/100mL]	Filtrat MF [Keime/100mL]	Filtrat UF (Huber) [Keime/100mL]	Ablauf Kläranlage [Keime/100mL]
E.coli	$4{,}5x10^7$	$6{,}6x10^2$	$2{,}0x10^1$	$7{,}3x10^4$
Coliforme	$1{,}1x10^8$	$1{,}6x10^3$	$3{,}2x10^3$	$2{,}0x10^5$
P. aeruginosa	$1{,}5x10^5$	$3{,}0x10^1$	$4{,}3x10^2$	$9{,}3x10^2$

Es zeigte sich zum einen, dass die Rückhaltekapazität beider Membranen wie für den Phagen MS2 in einer ähnlichen Größenordnung liegt. Im Vergleich zum Zulauf werden für *E.coli* zwischen vier und sechs log-Stufen zurückgehalten, bei den Coliformen zwischen zwei und fünf log-Stufen und für *P.aeruginosa* eine bis vier log-Stufen. Allerdings sind von allen Organismen auch in den Filtraten noch Konzentrationen bis 10^3 Keime/100mL für die Coliformen nachweisbar. Im Vergleich zum Kläranlagen-Ablauf liegen aber die Konzentrationen in den Filtraten im Durchschnitt etwa zwei log-Stufen geringer. Ein Unterschied zwischen den Membrantypen UF und MF war nicht eindeutig zu erkennen.

Es kann somit ausgesagt werden, dass der Einsatz des Membranbioreaktors zu einer Frachtverringerung führt, nicht aber zu einer vollständigen Elimination. Der Nachweis von Organismen auf der Filtratseite kann verschiedene Ursachen haben. Wahrscheinlichste Gründe sind in Absprache mit der Fa. Huber Haarrisse an Leitungen/Schläuchen, Versprödung an Dichtungen oder auch eine unsterile Probenahme, bedingt durch den Standort des Membranbioreaktors im Gebläseraum der Kläranlage.

6.4.2.5.11. Auswirkungen des Biofilms

Es wurde getestet, welche Auswirkungen die Bildung eines Biofilms auf den Rückhalt von MS2 Bakteriophagen hat. Dazu wurde ein separater Versuch außerhalb des MNR durchgeführt. Das Membranmodul UPM150 wurde in einem separaten Behälter für kurze Zeit ohne Belüftung betrieben, sodass sich auf der Membranoberfläche Ablagerungen bilden konnten. Bereits nach kurzer Zeit zeigte sich eine Reduktion der Phagen-Konzentration um eine zusätzliche log-Stufe. Ein Dauerbetrieb ohne Belüftung ist jedoch nicht zielführend, da die Bildung eines Biofilms schnell zum Verblocken der Membran führt.

6.4.2.5.12. Elimination von Spurenstoffen

Ein weiterer Aspekt beim Betrieb des MBR war die Elimination von Spurenstoffen. Im Berichtszeitraum wurden in diesem Zusammenhang Probenahmen zur Erfassung der Parametergruppen Pharmazeutische Wirkstoffe (Schmerzmittel), Betablocker, Trialkylphosphate und Röntgenkontrastmittel durchgeführt.

Zur Ermittlung der Spurenstoffentfernung wurden repräsentative Mischproben vom Zulauf des MBR sowie den beiden Abläufen unter Berücksichtigung der hydraulischen Verweilzeit genommen und in Bezug auf die ausgewählten Parametergruppen untersucht. Entsprechende Vergleichsproben vom Zu- und Ablauf der konventionellen Kläranlage erlaubten einen Vergleich des Abbauverhaltens zum MBR.

Die Ergebnisse sind in Tab. 22 aufgeführt.

Tab. 22 Ergebnisse der Beprobungsaktionen (Per1 = UPM150, Per2 = Huber)

Parameter	Einheit	Zu MBR	Per 1	Per 2	Zu MBR	Per 1	Zu MBR	Per 1	Per 2	Zu KA	Ab KA
		14.04.2008	14.04.2008	14.04.2008	17.03.2008	17.03.2008	10.01.2008	10.01.2008	10.01.2008	06.08.2007	06.08.2007
Pharmazeutische Wirkstoffe											
Bezafibrat	ng/L	1600	< 100	< 100	750	< 100	1100	< 100	110	2600	< 200
Carbamazepin	ng/L	920	1200	1300	390	600	680	1100	1200	2000	1900
Clofibrinsäure	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Diazepam	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Diclofenac	ng/L	3400	2800	2200	550	1200	5200	2400	2300	3600	1900
Etofibrat	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Fenofibrat	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Fenofibrinsäure	ng/L	430	< 100	< 100	< 200	< 100	1400	< 100	< 100	690	< 200
Fenoprofen	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Gemfibrozil	ng/L	810	< 100	< 100	< 200	< 100	1400	170	180	370	< 200
Ibuprofen	ng/L	4600	< 100	< 100	3800	< 100	7800	220	300	12000	< 200
Indomethacin	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Ketoprofen	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	280	110	100	< 200	< 200
Naproxen	ng/L	990	< 100	< 100	< 200	< 100	3700	240	250	1500	190
Pentoxifyllin	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	250	< 200
Betablocker/Bronchospasmolytika											
Atenolol	ng/L	< 200	160	< 100	< 200	< 100	380	130	120	450	55
Betaxolol	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Bisoprolol	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Metoprolol	ng/L	960	330	510	530	280	460	750	740	880	530
Pindolol	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Propranolol	ng/L	< 200	< 100	< 100	< 200	< 100	< 200	< 100	< 100	< 200	< 200
Sotalol	ng/L	510	130	250	< 200	280	420	450	410	520	350
Trialkylphosphate											
Triethylphosphat	ng/L				< 130	< 130	< 25	37	29	< 250	< 250
Tri-n-butylphosphat	ng/L				< 130	< 130	< 25	< 25	< 25	1800	< 250
Trikresylphosphat (o-, m- u. p-Isomer)	ng/L				< 130	< 130	< 25	< 25	< 25	910	< 250
Triphenylphosphat	ng/L				< 130	< 130	< 25	< 25	< 25	330	< 250
Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	ng/L				< 250	< 250	450	< 25	< 25	2300	< 250
Tris-(2-chlorethyl)-phosphat	ng/L				< 130	< 130	180	160	160	870	540
Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat	ng/L				230	450	650	580	580	2000	1600

Für die Wirkstoffe Naproxen, Metoprolol und Sotalol scheint im MBR, bezogen auf die Beprobungen im März und April 2008, ein etwas verbesserter Abbau als in der konventionellen Behandlung in der Kläranlage möglich zu sein. Die anderen nachgewiesenen Stoffe zeigen demgegenüber im MBR keinen verbesserten Abbau. Bei der Probenahme am 10.01.08 war die Biomasse im Prozesstank noch nicht adaptiert, so dass im Ablauf des MBR (Per1 und

Per2) noch einige Wirkstoffe nachgewiesen wurden, die bei den späteren Probenahmen (17.03.08 und 14.04.08) nicht mehr aufgetreten sind. Um den Unterschied zwischen den beiden Membranen erklären zu können, ist vorgesehen, wurden weitere Probenahmen im Mai 2008 sowie Oktober 2008 durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 23 zusammengefasst. Das Schlammalter betrug zu diesen Zeitpunkten etwa 30 Tage und entsprach damit dem gewünschten Betriebszustand für diesen Parameter. Ein Vergleich der Werte zeigt, dass die untersuchten Substanzen bei den zwei Probenahmen zum Teil in sehr unterschiedlichen Konzentrationen im Zulauf sowie im Ablauf des MBR nachweisbar sind. Carbamazepin, Diclofenac, Metoprolol, Sotalol und die zwei Tris-(2-chloralkyl)-phosphate werden nicht oder nur gering eliminiert. Einige Schmerzmittel wie Bezafibrat, Fenofibrinsäure, Gemfibrozil, Ibuprofen, Ketoprofen sowie Pentoxifyllin wurden – sofern vorhanden – vergleichsweise gut eliminiert. Gerade diese werden aber auch in der konventionellen Kläranlage gut biologisch abgebaut, wie die vorangegangenen Messungen belegt hatten (vgl. Tab. 22). Die im MBR bereits bei früheren Probenahmen beobachtete bessere Elimination von Naproxen im Vergleich zur konventionellen Kläranlage wird hier nochmals bestätigt. Für Sotalol und Metoprol war demgegenüber keine Verbesserung festzustellen.

Ein deutlicher Vorteil des MBR für die Spurenstoffelimination kann anhand der hier untersuchten Spurenstoffe nicht bescheinigt werden.

Tab. 23 Ergebnisse zur Spurenstoffelimination im MBR

	Ergebnisse vom Oktober 2008					Ergebnisse vom Mai 2008				
Parameter	**Zu MBR**	**Per 1**	**Per 2**	**MBR-Russ**	**MBR-Huber**	**MBR-Russ**	**MBR-Huber**	**Zu MBR**	**Per 1**	**Per 2**
	08.10.2008	09.10.2008	09.10.2008	Elimination	Elimination	Elimination	Elimination	21.05.2008	21.05.2008	21.05.2008
	ng/L	ng/L	ng/L	%	%	%	%	ng/L	ng/L	ng/L
Pharmazeutische Wirkstoffe										
Phenacetin	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Bezafibrat	**3200**	**64**	< 50	**98,00**	**98,44**	**90,74**	**90,74**	**540**	< 50	< 50
Carbamazepin	**1600**	**1500**	**1400**	**6,25**	**12,50**	**11,11**	**11,11**	**1800**	**1600**	**1600**
Clofibrinsäure	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Diazepam	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Diclofenac	**3400**	**2300**	**2200**	**32,35**	**35,29**	**55,88**	**55,88**	**3400**	**1500**	**1500**
Etofibrat	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Fenofibrat	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Fenofibrinsäure	**360**	< 50	< 50	**86,11**	**86,11**	**96,15**	**96,15**	**1300**	< 50	< 50
Fenoprofen	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Gemfibrozil	**1300**	< 50	< 50	**96,15**	**96,15**	**96,67**	**96,67**	**1500**	< 50	< 50
Ibuprofen	**11000**	**150**	**130**	**98,64**	**98,82**	**99,35**	**99,28**	**11000**	**72**	**79**
Indomethacin	< 100	< 50	< 50			**56,15**	**58,46**	**130**	**57**	**54**
Ketoprofen	**270**	< 50	< 50	**81,48**	**81,48**			< 100	< 50	< 50
Naproxen	**530**	< 50	< 50	**90,57**	**90,57**	**95,00**	**95,23**	**1300**	**65**	**62**
Pentoxifyllin	**210**	< 50	< 50	**76,19**	**76,19**			< 100	< 50	< 50
Betablocker/Bronchospasmolytika										
Atenolol	**400**	**71**	**61**	**82,25**	**84,75**	**57,14**	**60,00**	**350**	**150**	**140**
Betaxolol	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Bisoprolol	**120**	< 50	< 50	**58,33**	**58,33**	**75,00**	**75,00**	**200**	**50**	< 50
Metoprolol	**760**	**650**	**590**	**14,47**	**22,37**	**23,64**	**30,00**	**1100**	**840**	**770**
Pindolol	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Propranolol	< 100	< 50	< 50					< 100	< 50	< 50
Sotalol	**380**	**420**	**310**	**-10,53**	**18,42**	**-15,00**	**-20,00**	**400**	**460**	**480**
Trialkylphosphate										
Triethylphosphat	< 250	< 130	< 130					< 130	< 125	< 130
Tri-n-butylphosphat	< 250	< 130	< 130					< 130	< 125	< 130
Trikresylphosphat (o-, m- u. p	< 250	< 130	< 130					< 130	< 125	< 130
Triphenylphosphat	< 250	< 130	< 130			**89,58**	**85,00**	**1200**	< 125	**180**
Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	< 500	< 250	< 250					< 250	< 250	< 130
Tris-(2-chlorethyl)-phosphat	**270**	**500**	**170**	**-85,19**	**37,04**	**10,71**	**7,14**	**140**	< 125	< 130
Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat	**480**	**620**	**670**	**-29,17**	**-39,58**	**57,27**	**55,45**	**1100**	**470**	**490**

6.4.2.5.13. Langzeitbetriebsverhalten

Aufgrund der schwankenden Abwasserzusammensetzung im Zulauf des MBR sowie vereinzelt auftretender betrieblicher Störungen (Zulauf-Pumpe verstopft; Leitung nicht durchgängig, Netzteil defekt, Datenlogger zeichnet nicht auf), zeigt der zeitliche Verlauf der Transmembrandrücke (TMP) für die Membranen deutliche Schwankungen. Spontan ansteigende

Anstiege des TMP konnten durch zeitweise Außerbetriebnahme der Saugpumpen in den meisten Fällen beseitigt werden.

Insbesondere bei der Huber-Membran konnte durch Entspannungsphasen ohne Filtration mit ausschließlicher Belüftung des Membranmoduls eine Verminderung des Differenzdruckes erreicht werden. In einigen Fällen musste allerdings das Modul aus dem Prozesstank gehoben und mit Wasser (Abspritzen) mechanisch gereinigt werden. Während des gesamten Versuchszeitraumes wurden die Membranen auch chemisch gereinigt. Die Membranmodule wurden dabei in einem separaten Behälter in Reinigungslösung getaucht und nach 1 Stunde Einwirkzeit mit reinem Wasser abgespült in wieder installiert. Als Reinigungslösung kam Natronlauge (pH-Wert 11) oder Zitronensäure/HCl (pH-Wert 2) zum Einsatz. Diese Vorgehensweise war geeignet, den TMP auf einen niedrigen Ausgangswert zu bringen.

Der zeitliche Verlauf des TMP, der auf 20℃ normier ten Permeabilität sowie der Temperatur und des TS-Gehaltes ist in Abb. 69 für die Huber-Membran und in Abb. 70 für die UPM150- bzw. Sepro-Membran dargestellt.

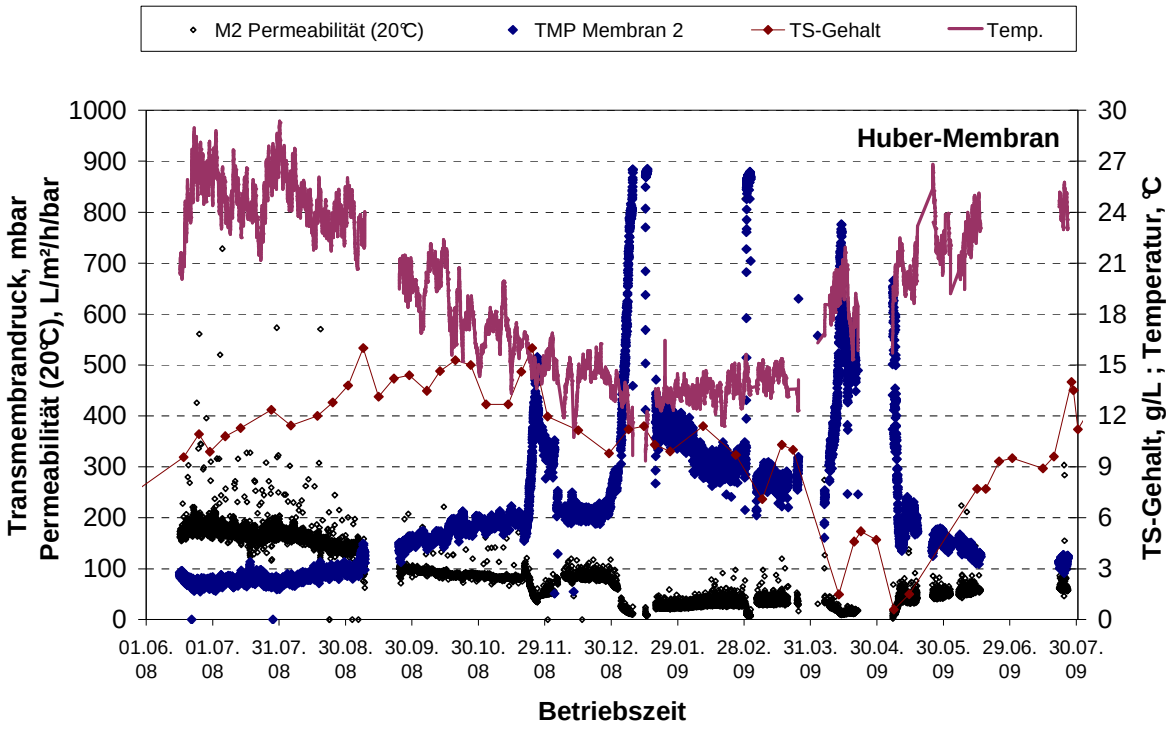


Abb. 69 Zeitlicher Verlauf des TMP und TS sowie der Temperatur für Huber-Membran

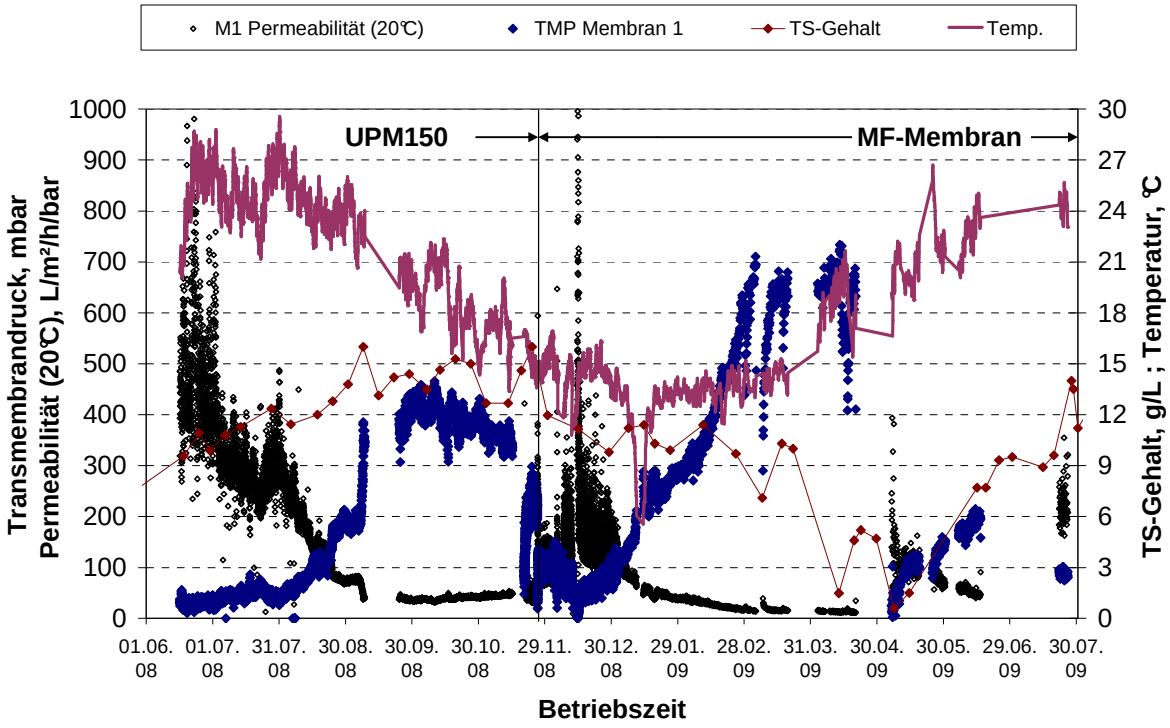


Abb. 70 Zeitlicher Verlauf des TMP und TS sowie der Temperatur für die Membranen UPM150 bzw. Sepro

Im November 2008 wurde die MF-Membran (SeproMFB) eingesetzt (siehe Abb. 71). Im Gegenzug wurde die Membran (UPM150) ausgebaut und gelagert. Die MF-Membran startete mit einem deutlich geringeren TMP als die Hubermembran. Jedoch musste ein stetiger Anstieg des TMP beobachtet werden (Abb. 70).

Abb. 71 Einbau der neuen Sepro-Membran in den Prozesstank

Bei der MF-Membran waren die Entspannungsphasen nicht erfolgreich. Unmittelbar nach der Wiederinbetriebnahme der Membran stieg der TMP stets wieder auf den Ausgangswert an.

Das Langzeitverhalten mit zunehmendem TMP bestätigt das bereits bei den Versuchen am Membranteststand beobachtete Verhalten.

Auf der Grundlage der vorliegenden Ergebnisse bietet die MF-Membran keine betrieblichen Vorteile. Ebenso waren keine signifikanten Unterschiede in der Filtratqualität zu erkennen.

Die Huber-Membran weist im Vergleich mit den anderen Membranen das stabilere Betriebsverhalten auf.

Aus dem Betrieb der Pilotanlage sind folgende Erkenntnisse zusammenzufassen:

- stabiler Betrieb des MBR ist möglich
- Membranen unterscheiden sich nicht im Rückhalt
- MF-Membran weist keine Vorteile im Vergleich zur UF-Membran auf
- Kritische Flächenbelastung < 30 L/m²/h
- Bedarf an Spülluft > 0,5 Nm³/m²/h
- TS < 12 g/L
- Gute Entfernung von CSB
- Nur gering verbesserte Elimination einiger Spurenstoffe im MBR

Es konnte somit ein Partikel abscheidender Schritt getestet werden und damit kritische Parameter bezüglich Belüftung, TS Gehalt und Filtrationszyklus festgelegt werden.

6.4.2.6. Untersuchungen zum Einsatz der Pulverkohle zur Verbesserung der Spurenstoffelimination

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die MBR-Pilotanlage weiter betrieben, um die Kombination mit nachgeschalteter Aktivkohleadsorption zu untersuchen. Im Rahmen einer Diplomarbeit (Decker 2009) wurden die technischen Möglichkeiten der Dosierung von Aktivkohle und Wiederabtrennung nach entsprechender Kontaktzeit im Labormaßstab erprobt und anschließend auf die Pilotanlage übertragen. Systematische Untersuchungen dienten der Ermittlung einer geeigneten Aktivkohlen und der optimalen Betriebsbedingungen, unter denen eine weitergehende Spurenstoffelimination möglich ist.

6.4.2.6.1. Auswahl der Aktivkohle

Zunächst wurden Vorversuche im Labor durchgeführt, um die erforderliche Pulverkohlemenge und die Art und Weise der Dosierung für eine optimale Spurenstoffeliminierung zu ermitteln.

Anstelle der kostenaufwendigen Spurenstoffanalyse erfolgte während der Vorversuche die Messung der gelösten organischen Wasserinhaltsstoffe über den Parameter Färbung (spektraler Absorptionskoeffizient bei 436 nm SAK-436).

Für die Versuche standen zwei verschiedene Pulverkohlen der Firma Donau Carbon GmbH & Co KG zur Verfügung. Die Spezifikationen der Pulverkohlen sind der Tab. 24 zu entnehmen.

Tab. 24 Spezifische Eigenschaften der eingesetzten Pulveraktivkohlen

Donaucarbon GmbH & Co KG	Carbopal AP	Hydraffin P800
Wassergehalt, Gew.%	< 5	< 8
Aschegehalt, Gew.%	-	< 10
pH-Wert	7 – 9	9 – 10
Jodzahl, mg/g	1.250	> 900
BET, m²/g	1.300	Ca. 900
Mahlfeinheit <40 µm, Gew.%	70	Ca. 60
Melassefaktor	0,9 +- 0,2	-
PAK-Entfernung, %	> 90	-

Im Laborversuch wurde die Pulverkohle zum Zeitpunkt t=0 dem MBR-Filtrat zugegeben, gerührt und nach Reaktionszeiten von 0,5 / 1 / 2 / 5 / 10 / 20 / 30 und 60 Minuten abfiltriert und die Färbung photometrisch gemessen. Die Laborversuche wurden mit Pulverkohlezugabemengen von 10 / 20 / 30 und 40 mg/L durchgeführt. Die Messergebnisse sind für die Pulverkohle Carbopal AP in Abb. 72 dargestellt. Daraus ist zu erkennen, dass mit zunehmender Pulverkohlemenge und zunehmender Kontaktzeit die Entfärbung zunimmt.

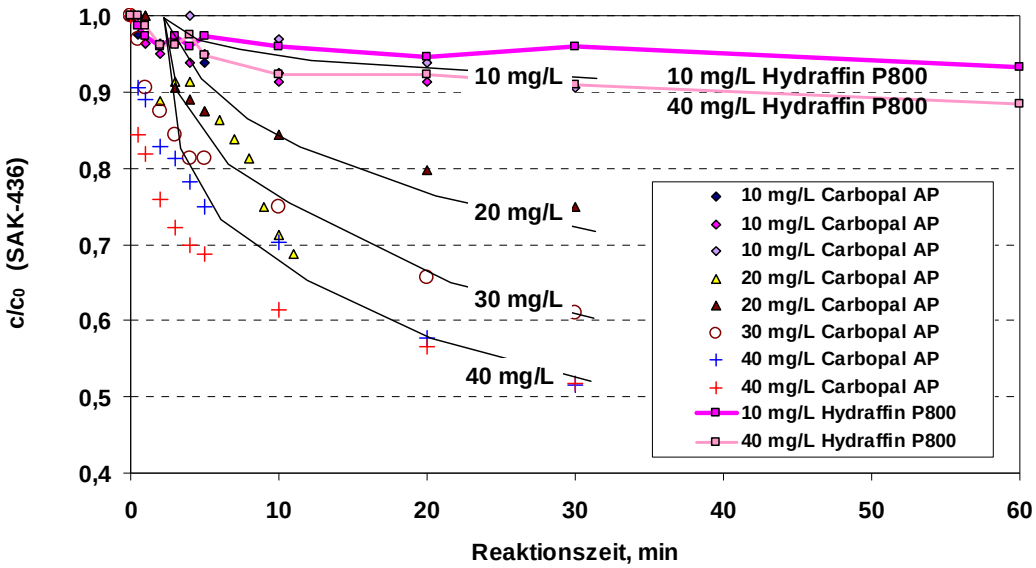


Abb. 72 Elimination der Färbung (SAK-436) beim Einsatz von Pulverkohle

Ein ähnlicher Verlauf ergibt sich für die zweite getestete Pulverkohle (hier nicht dargestellt), wobei allerdings in Bezug auf die Färbung eine geringere Eliminationsleistung festgestellt wurde.

6.4.2.6.2. Versuchsaufbau zur Dosierung der Aktivkohle im Feldversuch

Auf der Grundlage der Laborversuche wurde im halbtechnischen Maßstab Pulverkohle kontinuierlich dosiert, wobei eine Dosierung von 10 mg/L festgelegt wurde, und eine Verweilzeit im Reaktionsbehälter von 30 Minuten eingestellt.

Der Versuchsaufbau ist schematisch in Abb. 73 dargestellt. Eine Auflistung der Komponenten gibt Tab. 25. Abb. 74 zeigt den Aufbau vor Ort.

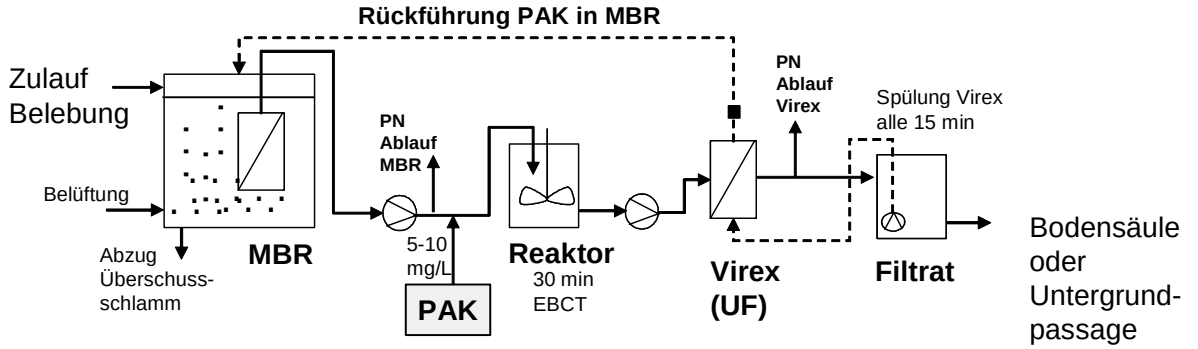


Abb. 73 Schematische Darstellung der Versuchsanordnung zum Einsatz von Pulverkohle bei der Abwasserbehandlung mittels MBR

Tab. 25 Komponenten für den Versuchsaufbau zur Aktivkohlebehandlung

Komponente	Volumen / Leistung	Aufgabe
Vorlagebehälter mit integriertem Rührwerk	100 L	Pulverkohlesuspension (PAK)
Handelsübliche Schlauchpumpe	Förderleistung 0,2 L/h	Dosierung der Aktivkohlesuspension
Reaktor mit extern angebrachtem Rührwerk	60 L	30 min EBCT
Förderpumpe für die UF-Filtereinheit	Förderleistung 30 L/h	Förderung der Suspension aus dem Reaktor über die UF-Filtereinheit
UF-Filtereinheit (Virex)	0,2 m² Membranfläche	Abtrennung der Pulverkohle
Filtrat-Sammelbehälter	60 L	Aufnahme Filtrat nach Aktivkohlebehandlung und Filtration

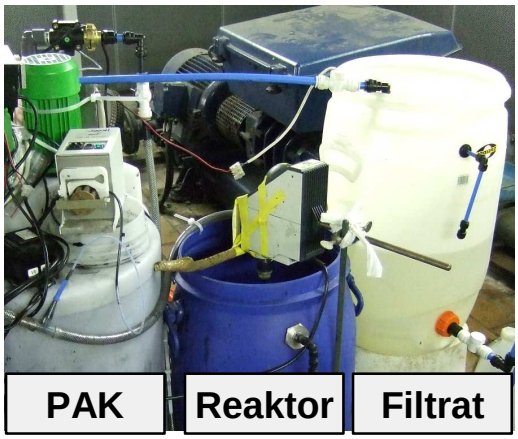


Abb. 74 Versuchsanordnung zum Einsatz von Pulverkohle

Die Pulverkohledosierung erfolgte durch kontinuierliche Zudosierung einer Suspension aus 8 g Pulverkohle pro L destilliertes Wasser. Aufgrund der partikulären Wasserinhaltsstoffe der Kohlesuspension war mit einer Membrandosierpumpe eine störungsfreie Dosierung nicht möglich. Die Zudosierung erfolgte daher über eine handelsübliche Schlauchpumpe, deren Schläuche aufgrund der abrasiven Eigenschaften der Suspension allerdings regelmäßig getauscht werden müssen.

Der MBR wurde während der Versuche zur Pulverkohlebehandlung unter den in Tab. 26 aufgeführten Bedingungen betrieben. Bei der gewünschten Pulverkohlezugabe von 10 mg/L resultierte unter den vorliegenden Randbedingungen eine Zugabe von etwa 10 g Pulverkohle pro Tag.

Tab. 26 Betriebsbedingungen des MBR während der Pulverkohleversuche

Parameter	Dimension
Flächenbelastung	15 L/m²/h
Filtratmenge aus dem MBR	2 x 20 L/h
Filtrations-/Pause-Intervall	2 min / 1 min
Schlammalter	> 25 d
Trockensubstanzgehalt	6 – 10 g/L

6.4.2.6.3. Ergebnisse zur weitergehenden Spurenstoffelimination durch Pulverkohlebehandlung

Zunächst wurde die Spurenstoffelimination durch den Einsatz der Pulverkohle ohne Rückführung in den MBR untersucht.

Nach Einstellung eines stabilen Betriebsablaufs erfolgte die Probenahme für die Spurenstoffanalyse. Dazu wurden zeitgleich Proben aus dem Filtrat des MBR und aus dem Reaktionsbehälter nach der Pulverkohlezugabe (nach 30 Minuten Verweilzeit) genommen, über 0,2 µm Filter filtriert und auf die Spurenstoffe der Arzneimittelgruppe 1 und Röntgenkontrastmittel analysiert.

Da aus den Vorversuchen eine bessere Adsorptionsfähigkeit der Pulverkohle Carbopal zu erwarten war, fanden dafür insgesamt drei Beprobungen an zwei verschiedenen Tagen statt. Bei Einsatz der Pulverkohle Hydraffin wurde zu Vergleichszwecken lediglich eine Probe untersucht.

Der Abb. 75 ist zu entnehmen, dass einige der ausgewählten Substanzen im Filtrat des MBR nicht nachweisbar sind und somit keine Elimination errechnet werden konnte (gelbe Balken). Carbamazepin konnte trotz höherer Zulaufkonzentration 1.800 ng/l mittels Carbopal vollständig entfernt werden (< 10 ng/L), während die Substanz bei Einsatz der Pulverkohle Hydraffin noch nachgewiesen wurde (120 ng/L). Dies galt auch für Diclofenac, Iomeprol und Iopamidol.

Auffallend war, dass sich für das Röntgenkontrastmittel Ioxithalaminsäure nach Einsatz der Pulverkohle Carbopal eine negative Elimination ergab. Es war gegenüber dem Ablauf des MBR mit 170 ng/L nach der Aktivkohlebehandlung in vierfacher Konzentration (810 ng/L) nachgewiesen worden. Hier wirken die Mechanismen der konkurrierenden Adsorption, durch die leichter adsorbierbare Substanzen die schwerer adsorbierbaren Substanzen von den Adsorptionsplätzen der Pulveraktivkohle verdrängen.

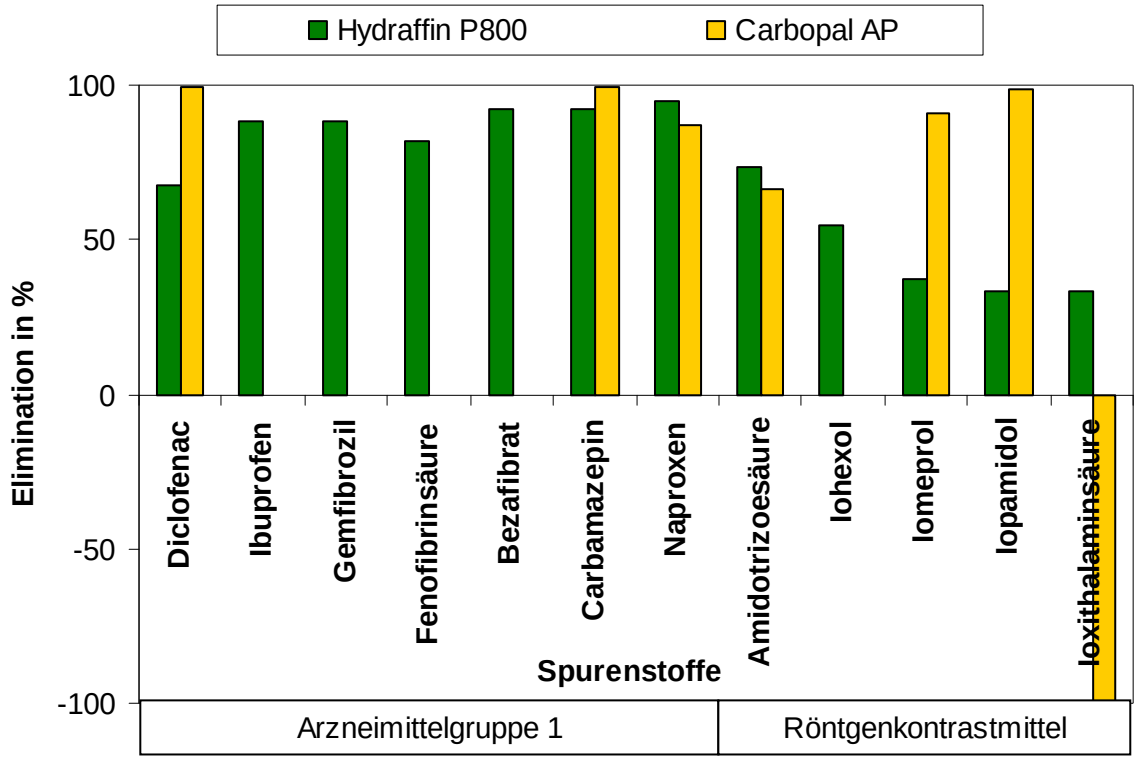


Abb. 75 Gegenüberstellung der Eliminationsraten für die Pulverkohlen Hydraffin und Carbopal

6.4.2.6.4. Rückführung der Pulverkohle in den MBR Prozesstank

Zur besseren Ausnutzung der Adsorptionskapazität der Pulverkohle wurde diese nach der Behandlung des MBR-Filtrats filtrativ abgetrennt und dem MBR Prozesstank zurückgeführt, wie dies in Abb. 73 schematisch dargestellt ist. Nach einer Versuchsdauer von 48 Tagen wurde die Pulverkohledosierung von 10 mg/L auf 5 mg/L vermindert. Während der gesamten

Versuchsdauer wurde regelmäßig die Färbung im MBR-Filtrat und im Ablauf der Pulverkohlebehandlung gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb. 76 dargestellt.

Abgesehen von einzelnen Schwankungen, die technisch bedingt sind (fehlerhafte Dosierung), war in der ersten Phase (10 mg/L) bis zur Betriebszeit von 48 Tagen eine Abnahme der Färbung festzustellen, die durch die Adsorption an PAK verursacht wurde. Nach Halbierung der Pulverkohlemenge stieg die Färbung erwartungsgemäß wieder an.

Im gesamten Versuchszeitraum wurden insgesamt 9 Probenahmen zur Ermittlung der Spurenstoffelimination durchgeführt. Anhand von 5 ausgewählten Substanzen sind die Ergebnisse für die Elimination in Abb. 77 und Abb. 78 dargestellt.

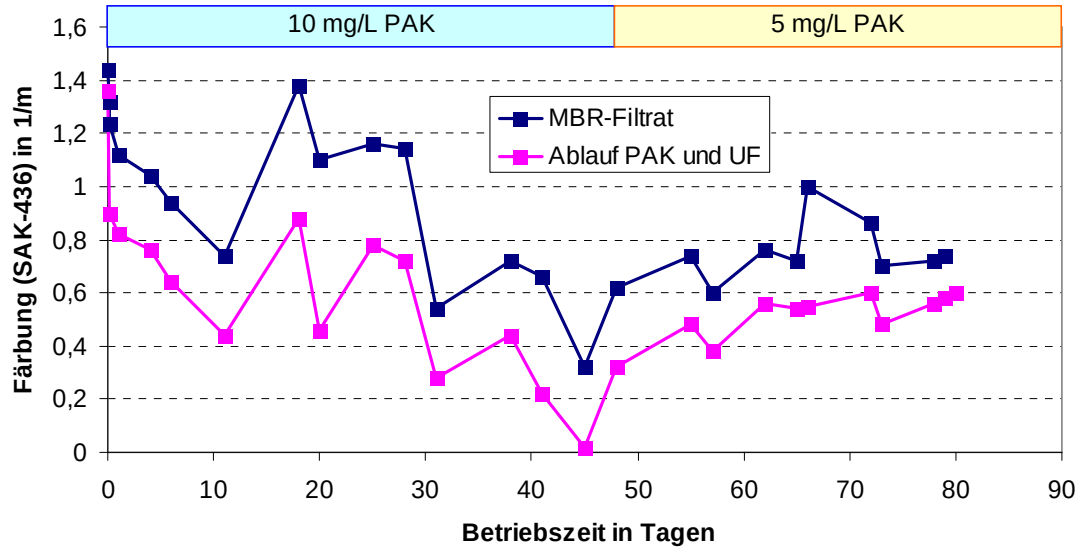


Abb. 76 Verminderung der Färbung im Filtrat des MBR durch den Einsatz von Pulverkohle

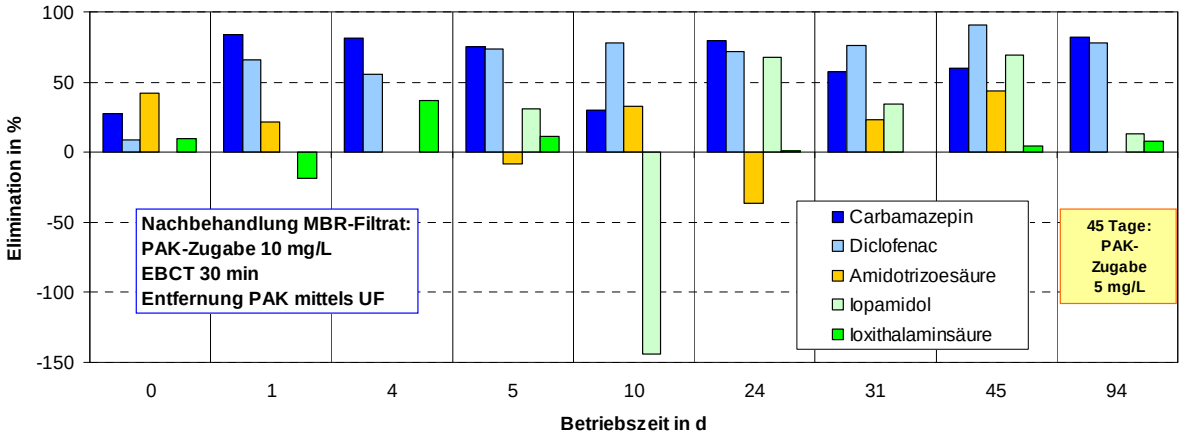


Abb. 77 Elimination der Spurenstoffe durch den Einsatz von Pulverkohle

Daraus ist zu schließen, dass mit zunehmender Pulverkohlerückführung die Elimination der Spurenstoffe zunimmt. Insgesamt nehmen die Konzentrationen der Spurenstoffe im Filtrat des MBR ab. Insbesondere für Carbamazepin und Diclofenac lassen sich die Konzentrationen durch die gewählte Vorgehensweise deutlich vermindern. Für die schwer adsorbierbaren Substanzen wie Amidotrizoesäure sind nur tendenziell geringere Werte nachweisbar.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass durch die dem MBR nachgeschaltete Aktivkohlebehandlung eine deutliche Verbesserung der Spurenstoffentfernung möglich ist. Diese ist allerdings nur mit einem vergleichsweise hohen technischen Aufwand zu erzielen. Eine Optimierung dieser Verfahrensstufe einschließlich einer Wirtschaftlichkeitsbetrachtung ist im Nachfolgeprojekt vorgesehen.

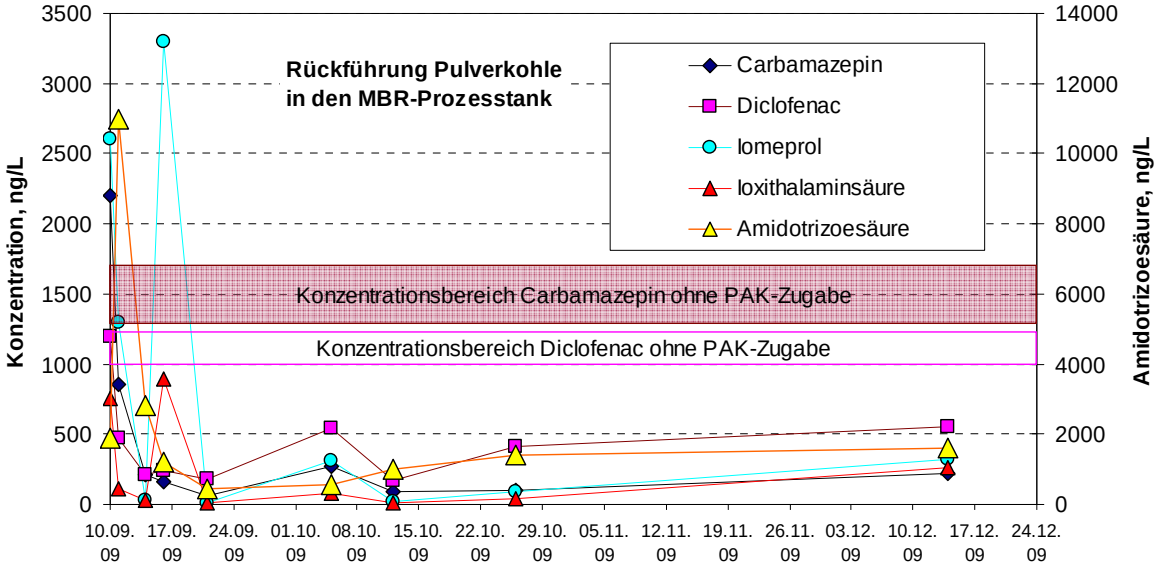


Abb. 78 Veränderung der Konzentration der Spurenstoffe im MBR durch den Einsatz von Pulverkohle

6.4.2.6.5. Auswirkung der Rückführung der Pulverkohle auf den MBR Prozess

Über den Betriebszeitraum während der Pulverkohlezugabe und deren Rückführung in den Prozesstank war eine Zunahme der TMP insbesondere der MF-Membran Sepro zu beobachten, wie dies aus Abb. 79 hervorgeht. Die UF-Membran (Huber) zeigte demgegenüber einen deutlich geringeren Anstieg des TMP, der allerdings auf die abnehmende Temperatur zurückgeführt werden konnte. Die auf 20℃ normierte P ermeabilität blieb für die Huber-Membran konstant, während sie für die MF-Membran von 150 L/m²/h/bar auf 50 L/m²/h/bar abnahm.

Der ursprünglich erhoffte Vorteil der höheren Permeabilität einer MF-Membran gegenüber einer UF-Membran bestätigte sich unter den hier untersuchten Randbedingungen nicht. Die über den gesamten Zeitraum eingesetzte UF-Membran wies unter zum Teil widrigen Randbedingungen stets das günstigere Betriebsverhalten auf.

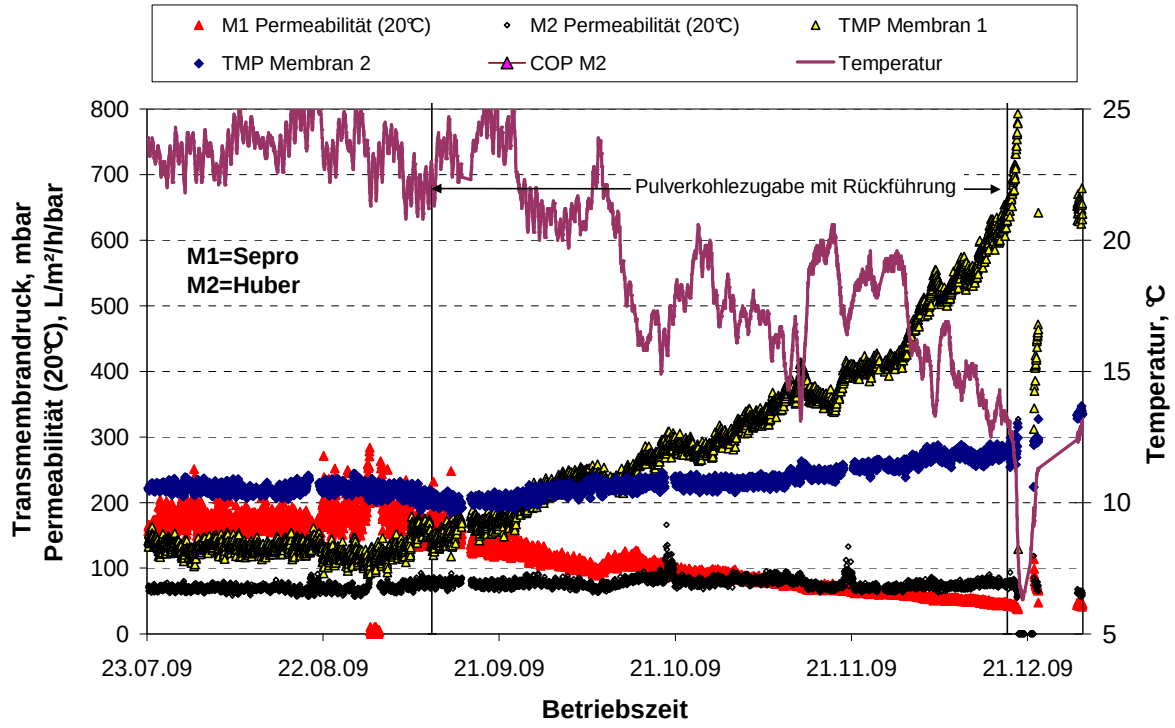


Abb. 79 Auswirkungen der Pulverkohlerückführung auf den Betrieb des MBR

6.4.2.7. Großtechnische Umsetzung

Auf der Basis der im Labormaßstab und den halbtechnischen Feldversuchen erzielten Erkenntnisse wurde von der Fa. Hans HUBER SE, Berching eine Containeranlage aufgebaut, die im späteren Verlauf des Projektes zur Abwasserbehandlung eingesetzt werden soll. Die eingebauten Komponenten sind in der Aufsicht in Abb. 80 dargestellt. Demnach wird das zu behandelnde Abwasser über eine Vorreinigung (Rotamat 09) mechanisch gesiebt und anschließend dem MBR-Prozesstank zugeführt. Dieser ist mit Belüftungseinrichtungen ausgestattet, wodurch ein intermittierender Betrieb zur Nitrifikation und Denitrifikation möglich wird. Der Prozesstank ist in zwei Kammern unterteilt, die miteinander verbunden sind. In die zweite Kammer sind drei Membranmodule installiert, aus denen das Filtrat in den Filtratbehälter gefördert wird. Aus diesem kann für die weitere Behandlung Filtrat entnommen werden. Der Überschussanteil wird verworfen. Die Containeranlage ist mittels Steuerung automatisiert und kann fernüberwacht werden.

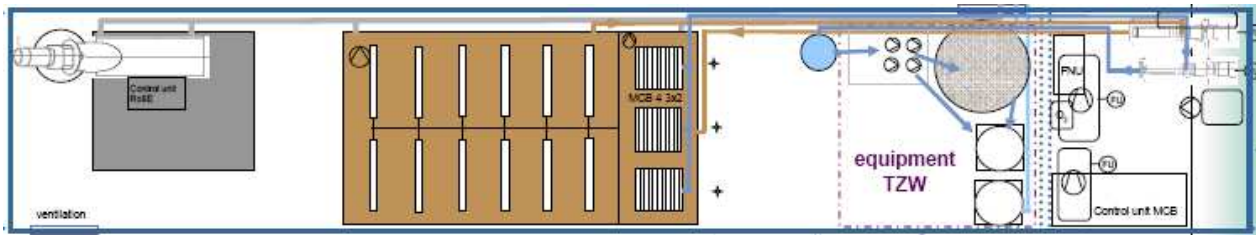


Abb. 80 Schematische Darstellung der Verfahrenskomponenten in der MBR-Containeranlage der Fa. Hans HUBER SE

Die Containeranlage ist auf der Kläranlage Berching in Betrieb genommen worden. Abb. 81 zeigt den neben dem Regenüberlaufbecken aufgestellten Container.

Abb. 81 Ansicht der MBR-Containeranlage der Fa. HUBER SE auf der Kläranlage Berching

Nach dem Betrieb auf der Kläranlage Berching wird der Container zur Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen transportiert (Abb. 82). Dort soll für einen Zeitraum von 6 Monaten der Feldbetrieb erprobt werden, bevor die Anlage dann im Jordantal am Demonstrationsstandort Fuheis (Abb. 83 und Abb. 84) zur Aufstellung und zum Einsatz kommen wird.

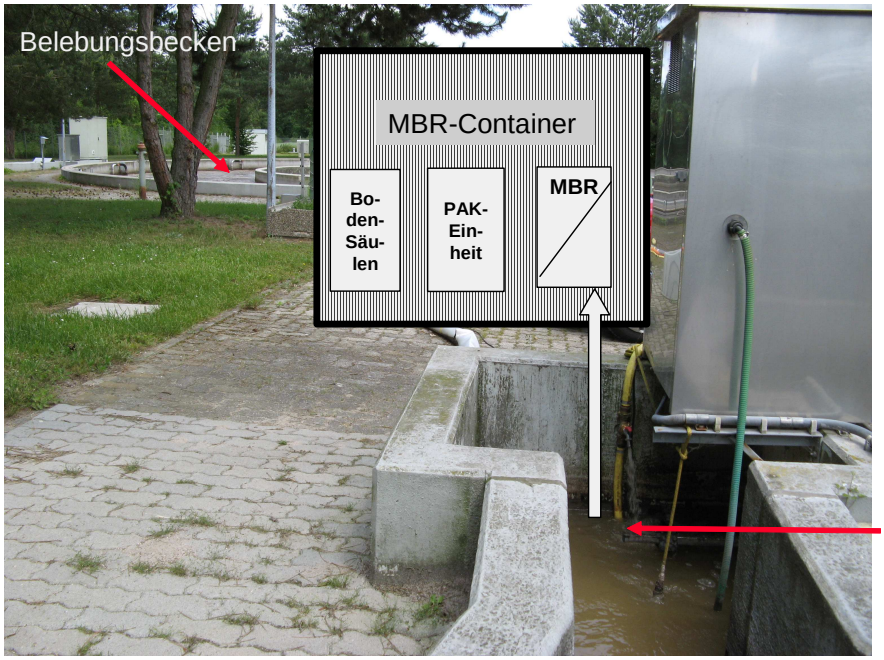


Abb. 82 Standort für MBR-Containeranlage an der Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen

Abb. 83 Standort für MBR-Containeranlage im Projektgebiet

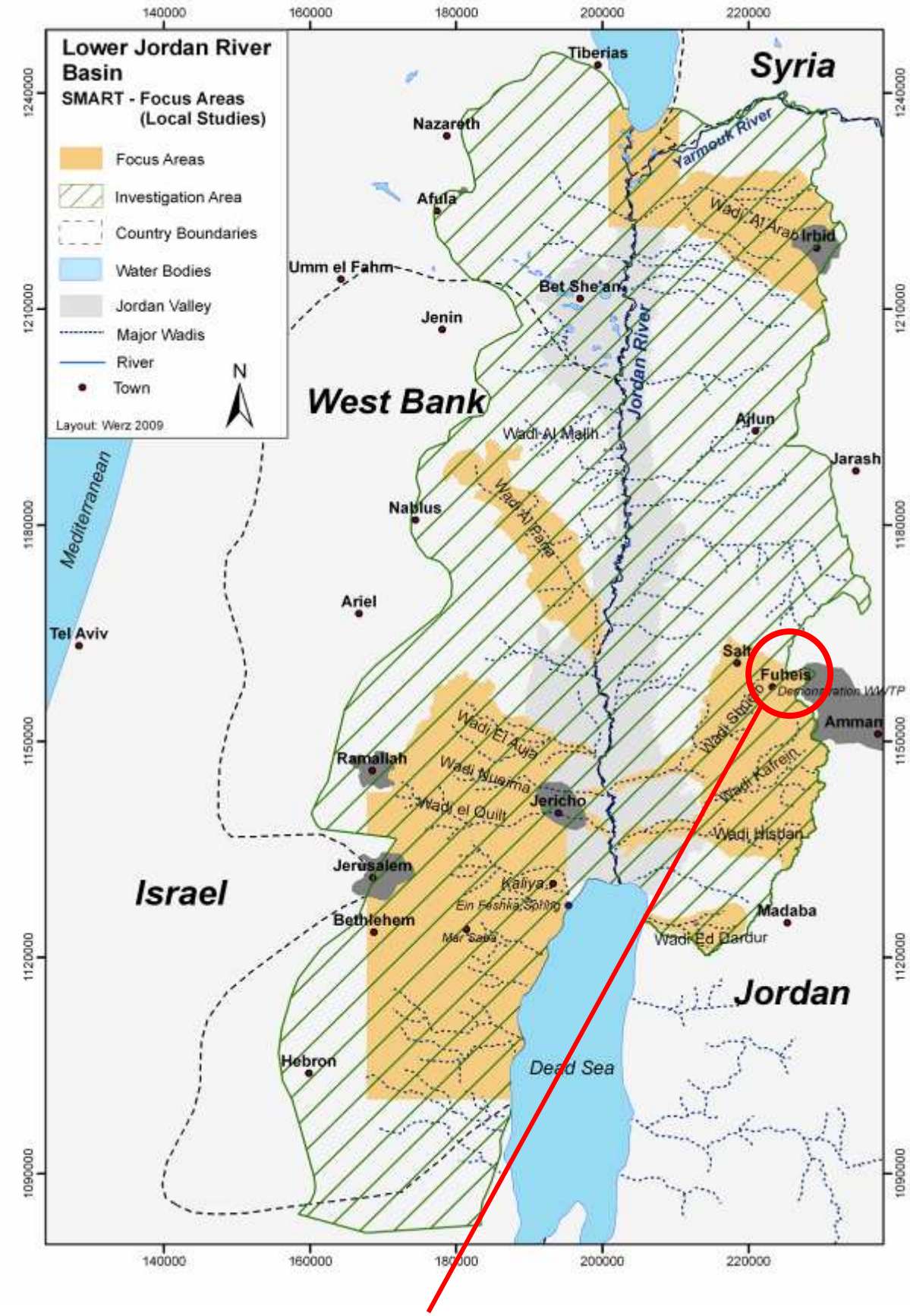


Abb. 84 Projektgebiet mit Standort Fuheis für Demonstrationsanlagen zur Abwasserbehandlung

6.4.3. Zusammenfassung und weiteres Vorgehen

Die Untersuchungen zum Einsatz von Membranbioreaktoren (MBR) zur Behandlung von Abwässern wurden im Rahmen des Projektes in zwei Phasen unterteilt. Ziel der Phase 1 war die Charakterisierung von Membranen, die im Rahmen der halbtechnischen Versuche in der Phase 2 in einem MBR zum Einsatz kommen sollten. In Phase 2 waren Bedingungen zu ermitteln unter denen eine optimale Entfernung organischer Spurenstoffe erreicht werden kann. Während der halbtechnischen Versuche am MBR wurden die Kenngrößen für die Auslegung einer Pilotanlage ermittelt, die im Projektgebiet zum Einsatz kommen soll.

Im Rahmen der Laboruntersuchungen (Phase 1) wurden Membranen verschiedenen Materials und Trennverhaltens bzgl. ihrer Wasserdurchlässigkeit (Permeabilität) und ihres Rückhaltevermögens (Trübstoffe) charakterisiert. Für die ersten halbtechnischen Versuche im Labor und an einer Pilotanlage wurden zwei UF-Membranen ausgesucht und im Vergleich betrieben. Sie unterscheiden sich im Wesentlichen nur durch das Material (Polyethersulfon bzw. Polysulfonamid). Weder in den Laboruntersuchungen noch im Feldversuch waren bzgl. des Betriebsverhaltens und des Rückhaltevermögens Unterschiede erkennbar.

Für den Betrieb eines MBR ist eine möglichst hohe Wasserdurchlässigkeit bei ausreichendem Rückhalt und stabilen Betriebsbedingungen wünschenswert. Daher wurde eine MF-Membran mit höherer Permeabilität gesucht, die sich außerdem zur Herstellung eines Plattenmoduls eignete. Hier war der Vorgang des Verschweißens der Membranen auf die Stützplatten das einschränkende Kriterium. Bei zwei Membrantypen löste sich dabei die aktive Schicht der Membranplatten von der Stützschicht. Schließlich konnte eine MF-Membran gefunden werden, die als MF-Modul im MBR einsetzbar war.

In Phase 2 war das Ziel der ersten Untersuchungen die Ermittlung stabiler Betriebszustände in Bezug auf den Betrieb des MBR (Flächenbelastung, Belüftung, Filtrationsintervalle) und die Belebung (Trockensubstanzgehalt (TS), Schlammalter). Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurde die kritische Flächenbelastung sowie die Mindestbelüftungsmenge unter den vorliegenden Randbedingungen ermittelt. Bei einem TS von 10 g/L und einem Schlammalter von 25 Tagen ergaben sich eine kritische Flächenbelastung von 30 L/m²/h und eine Mindestbelüftungsmenge von 0,5 Nm³/m²/h. Um eine konstante Permeabilität auch bei schwankenden Rohwasserbedingungen aufrecht erhalten zu können wurde die Flächenbelastung auf 15 L/m²/h und die Belüftungsmenge auf 2 Nm³/m²/h eingestellt.

Bzgl. des Rückhalts an Spurenstoffen konnten keine wesentlichen Vorteile gegenüber der konventionellen Kläranlagentechnik nachgewiesen werden. Lediglich einzelne Substanzen wiesen eine verbesserte Elimination auf. In Bezug auf den biologischen Abbau (CSB) und den Trübstoffgehalt weist das Filtrat des MBR deutlich geringere Werte auf als der Ablauf der konventionellen Abwasserbehandlung.

Damit werden diesbezüglich die Anforderungen an die Infiltration in den Untergrund zur Grundwasseranreicherung eingehalten. In den Filtraten sind jedoch noch immer erhöhte Gehalte an schwer biologisch abbaubaren Spurenstoffen wie z.B. Amidotrizoesäure und Carbamazepin enthalten. Für die Nachbehandlung der Filtrate zur weitergehenden Spurenstoffentfernung wurde der Einsatz von Pulverkohle näher untersucht.

Im Labormaßstab wurden zwei verschiedene Pulverkohlen im Hinblick auf die Eliminationsleistung an Spurenstoffen überprüft. Die Pulverkohle mit der höheren Adsorptionskapazität wurde dann im halbtechnischen Maßstab eingesetzt.

Mit einer Pulverkohledosierung von 10 mg/L und einer Kontaktzeit von 30-60 min war eine deutliche Verminderung der Konzentration an Röntgenkontrastmitteln möglich. Carbamazepin konnte vollständig entfernt werden. Die verfahrenstechnische Umsetzung sieht vor, die Pulverkohlesuspension dem Filtrat des MBR zuzudosieren, die Verweilzeit in einem entsprechend bemessenen Rührbehälter sicherzustellen und die Pulverkohle über eine geeignete Filtereinheit wieder abzutrennen und in den MBR Prozesstank zurückzuführen. Mit dieser Vorgehensweise ist eine optimale Ausnutzung der Adsorptionskapazität der Pulverkohle gegeben. Die Pulverkohle reichert sich zunächst im Prozesstank an. Aufgrund des regelmäßigen Abzugs an Überschussschlamm wird ein stationärer Zustand erreicht. Aufgrund der noch vorhandenen Adsorptionskapazität der Pulverkohle im MBR Prozesstank werden auch im Filtrat des MBR zunehmend geringere Gehalte an Spurenstoffen erreicht.

Auf den Betrieb des MBR hat der Einsatz der Pulverkohle insofern Einfluss als dass sich durch die Rückführung der Pulverkohle in den Prozesstank ein Anstieg des Transmembrandruckes für beide Membranen ergab, wobei allerdings der Anstieg bei der MF-Membran deutlich größer war als bei der UF-Membran.

Am Membranbioreaktor in Eggenstein-Leopoldshafen wurde auch die Elimination von MS2 Bakteriophagen als Modellorganismus für Viren untersucht. Alle eingesetzten Membranen weisen eine ähnliche Rückhaltekapazität im Bereich von 2-3 log-Stufen auf. Es findet demnach kein vollständiger Rückhalt statt und geringe Restkonzentrationen um 10^1 Kopien/100mL würden beim Einsatz des Membranbioreaktors mit dem Permeat in Oberflächengewässer eingetragen werden. Hier spielt das Eliminationspotential während einer nachgeschalteten Bodenpassage eine wichtige Rolle (siehe Kapitel 6.5.2).

Über den gesamten Zeitraum der Untersuchungen betrachtet, wies die UF-Membran die stabileren Betriebsbedingungen auf. Sie reagierte auch deutlich weniger empfindlich auf Schwankungen der weiteren Randbedingungen wie TS-Gehalt, Schlammalter, Belüftungsmenge. Im weiteren Verlauf des Projektes wird dieser Membrantyp auch in der Container-Anlage eingesetzt.

6.5. Untersuchungen zur Elimination ausgewählter anthropogener Spurenstoffe und Mikroorganismen

Aus den ersten 2 Probenahmen im Frühjahr und Herbst 2007 wurden die pharmazeutischen Rückstände, endokrin wirksame Xenobiotika (Steroide und Alkylphenole) und Trialkylphosphate als Schwerpunkte identifiziert. Alle 3 Stoffgruppen werden in Kläranlagen nur unvollständig eliminiert, weshalb sie in Oberflächengewässern und teilweise in Grundwässern nachgewiesen wurden. Zur Untersuchung der Abbauprozesse während der Bodenpassage wurden zunächst Säulenversuche durchgeführt, mit denen die Elimination in der ungesättigten Bodenzone nachgestellt werden kann.

Da es Hinweise in der Literatur auf eine verbesserte Elimination unter optimierten Prozessbedingungen, wie z.B. durch ein erhöhtes Schlammalter, gibt, wurden des weiteren Batchversuche mit Abwasser und Belebtschlamm einer kommunalen Kläranlage durchgeführt. Aus den Ergebnissen zum Abbauverhalten einzelner Substanzen leiteten sich weiterhin Abbauversuche mit Einzelsubstanzen unter nitrifzierenden und methanotrophen Bedingungen ab. Bei beiden Organismengruppen, Nitrifzierern und Methanotrophen, ist bereits der Abbau einer Reihe von Schadstoffen (z.B. chlorierte Kohlenstoffverbindungen) nachgewiesen worden (Murrel et al. 2000, Arp et al. 2002). Diese Erkenntnisse und die Tatsache, dass beide Organismengruppen ubiquitär in der Umwelt vorkommen, machen sie zu möglichen Zielgruppen im Hinblick auf das Studium natürlicher biologischer Abbauprozesse von Pharmakarückständen in der Umwelt.

6.5.1. Elimination während der Bodenpassage – Spurenstoffe

Zur Untersuchung der natürlichen Abbauprozesse während der Versickerung im Boden wurden insgesamt 4 Säulen mit homogenisiertem Sediment (TOC 0.04 mg C/g, Korngrößen 0.2–2 mm) bestückt und mit Kläranlagenablauf der Kläranlage Neureut über einen Zeitraum von 13 Monaten beregnet. Zulauf und Ablauf der Säulen wurden insgesamt 5 Mal beprobt und die Konzentration der Spurenstoffe miteinander verglichen. Dabei wurde der Fluss durch die 1,20 m langen Säulen so eingestellt, dass die durchschnittliche Aufenthaltszeit des Wassers in den Säulen bei 6 – 7 Tagen lag. Der Wassergehalt konnte über Tensiometer, die im oberen und unteren Bereich der Säulen angebracht waren, überprüft werden (Abb. 90). Alle zwei Wochen wurde der Zulauf durch neues Wasser aus dem Ablauf der Kläranlage ausgetauscht. Zwei der Säulen dienten als Kontrolle und wurden bei 2°C gekühlt, die anderen 2 Säulen wurden bei 20°C betrieben. Dieses wurde durch Temperaturfühler an den Säulen kontrolliert. Säule 2 und 4 wurden mit dotiertem Abwasser, mit jeweils 5 µg/l der zu untersuchenden Schadstoffe, beregnet (Abb. 85). Ein schematischer Aufbau des Säulenversuchs ist in Abb. 86 dargestellt.

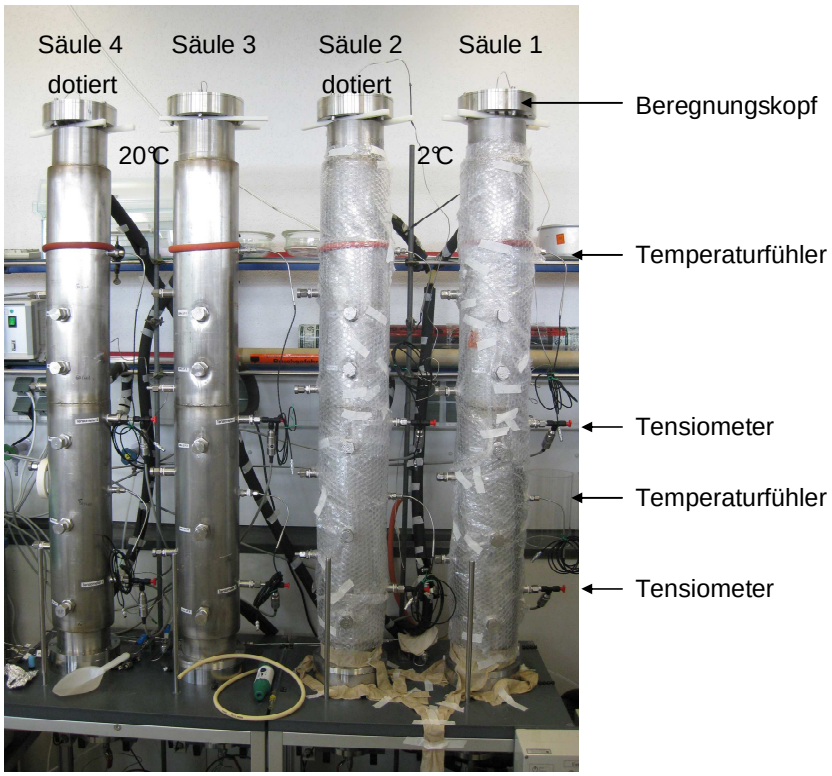


Abb. 85 Säulenversuch: Die Säulen 1 und 2 werden bei 2℃ be trieben, Säulen 3 und 4 bei 20℃

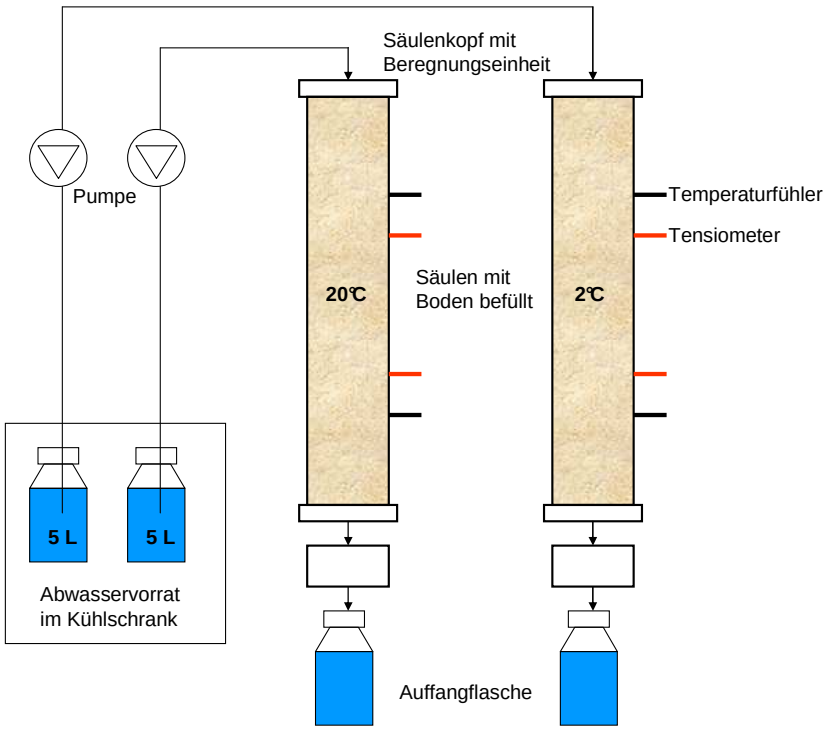


Abb. 86 Versuchsaufbau des Säulenexperimentes

Für den Abbau in den Säulen sind beispielhaft Ergebnisse zu Bezafibrat, Naproxen und Phenazon dargestellt (Abb. 87), sowie auch zu Ibuprofen, Diclofenac und Carbamazepin (Abb. 88). Die Abbildungen zeigen die prozentuale Abnahme gegenüber den jeweiligen Startwerten der einzelnen Substanzen für die Säulen 2 und 4, die mit dotiertem Kläranlagen-

ablauf betrieben wurden, sowie für die Säulen 1 und 3, die mit Kläranlagenablauf ohne Aufdotierung beregnet wurden. Gemessen wurde nach 2, 3 und 5 Wochen, sowie 7 und 13 Monaten Versuchslaufzeit.

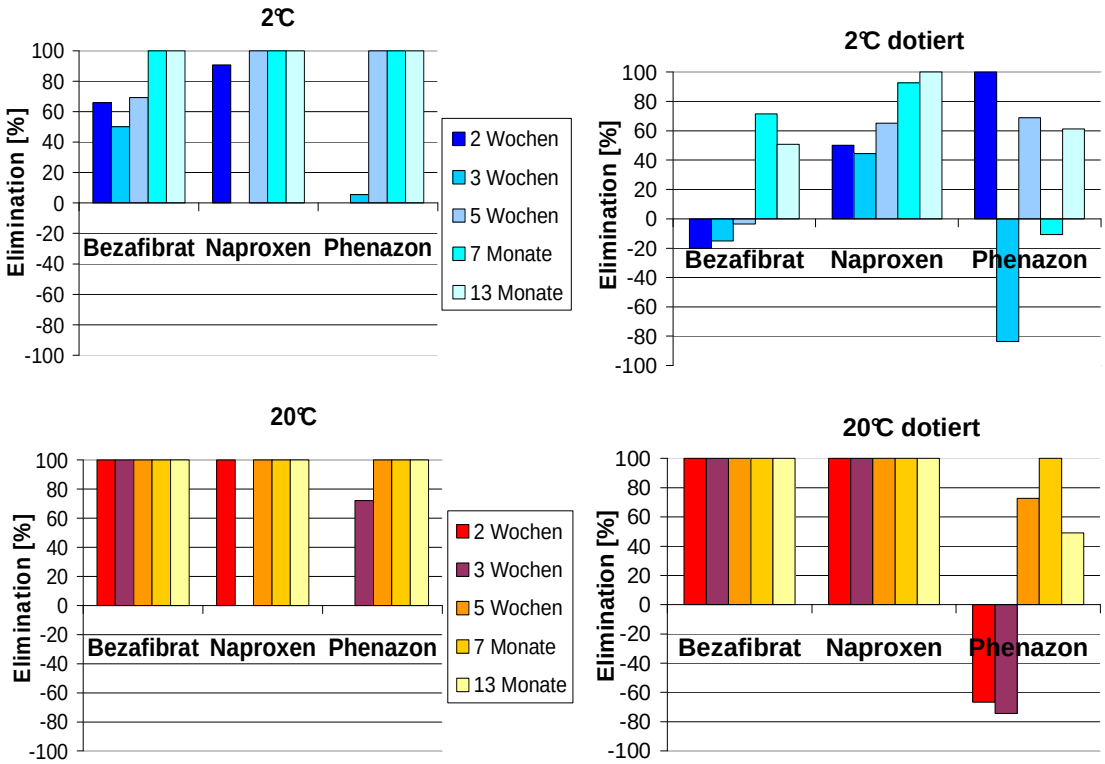


Abb. 87 Elimination von Bezafibrat, Naproxen und Phenazon in allen 4 Säulen zu den 5 verschiedenen Probenahmezeitpunkten (Undotierter Zulauf, 3 Wochen: Probe enthielt kein Naproxen)

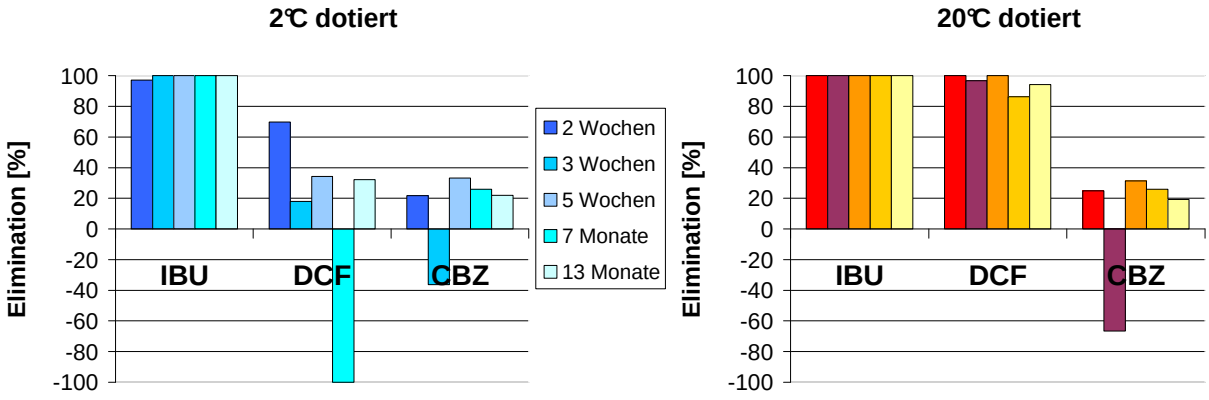


Abb. 88 Elimination von Ibuprofen (IBU), Diclofenac (DCF) und Carbamazepin (CBZ) in den mit dotiertem Zulauf beaufschlagten Säulen zu den 5 Probenahmezeitpunkten

Bei Bezafibrat, Naproxen und Phenazon war die Elimination in den bei 20℃ betriebenen Säulen gegenüber der Elimination in den gekühlten Säulen besser. Allerdings war die Eliminationsleistung bei den Säulen mit undotiertem Zulauf bei 2℃ und 20℃ ähnlich, während sich ein deutlicher Unterschied erst bei den mit dotiertem Abwasser beregneten Säulen heraus stellte: Naproxen und Bezafibrat wurden in keiner der 5 Beprobungen des Ablaufs nach-

gewiesen, also zu 100% eliminiert, während die Elimination in der gekühlten Säule im Versuchsverlauf anzusteigen scheint. Diese Ergebnisse zusammen mit der relativ hohen Eliminationsleistung in der gekühlten, mit undotiertem Zulauf beregneten Säule, deuten auf Adaption der Biomasse und damit auf biologischen Abbau sowohl bei 20℃ also auch bei 2℃ hin. Phenazon, welches wie viele andere Analgetika weit verbreitet in der Umwelt zu finden ist (Ternes et al. 1998), zeigte ebenfalls einen ähnlich guten Rückhalt bei 2℃ und 20℃ ohne Dotierung, allerdings erhebliche Konzentrationsschwankungen in den Säulen mit dotiertem Zulauf. Zum Teil übertraf die Konzentration im Säulenablauf die Zulaufkonzentration erheblich (max. 84%), was als negative Elimination dargestellt ist. Die Verschlechterung der Elimination von Phenazon in den mit dotiertem Zulauf betriebenen Säulen könnte auf Sorptions-/Desorptionsereignisse zurück geführt werden. Eine Studie von Greskowiak et al. (2006) zum Verhalten des Analgetikums bei der künstlichen Grundwasseranreicherung führte eine erhöhte Konzentration in Probenahmebrunnen in den Sommermonaten auf den Mangel von Sauerstoff, hervorgerufen durch erhöhte Temperaturen, zurück. Im Gegensatz dazu zeigen die Ergebnisse dieses Versuches, dass eher Sorptionsereigenisse, als unterschiedliche Redoxverhältnisse für den Durchbruch des Schadstoffes im Säulenablauf verantwortlich sind.

Ibuprofen wurde hingegen in allen Säulen sowohl bei 2℃ als auch bei 20℃ meist komplett eliminiert (97 – 100%), (Abb. 88). Zwischen dem dotierten und undotierten Zulauf gab es keine Unterschiede im Rückhalt, weshalb für Ibuprofen, wie auch für Diclofenac und Carbamazepin nur die Ergebnisse der Säulen mit dotiertem Zulauf wiedergegeben sind. Der Konzentrationsrückgang von Diclofenac in der 20℃ Säule stieg durchschnittlich um knapp 85% gegenüber der 2℃ Säule an. Carbamazepin zeigte einen minimalen Rückgang von durchschnittlich 13% (2℃), bzw. 7% (20℃).

Die Ergebnisse aus den Säulenexperimenten zeigen eine gute Reproduzierbarkeit der Messungen über die Zeit. Somit erhält man z.B. für Ibuprofen, Bezafibrat und Naproxen zu allen fünf Probenahmezeitpunkten für die bei 20℃ betriebenen Säulen vergleichbare Rückhalteraten. Der temperaturabhängige Unterschied in der Konzentrationsabnahme vor allem von Diclofenac und Bezafibrat bei 2℃ und 20℃ deutet auf Abbau durch biologische Aktivität hin. Die Nitratwerte unterstützen diese Vermutung, denn für die Säulen 3 und 4, die bei 20℃ betrieben werden, wurden höhere Nitratwerte gegenüber dem Zulauf festgestellt, als bei den beiden gekühlten Säulen. Die Nitratwerte im Ablauf der Säulen 1 und 2 waren nach der 1. Beprobung um 33% gestiegen, während in den Abläufen 3 und 4 die Nitratwerte um jeweils 76 und 88% gegenüber dem Nitratwert im Zulauf gestiegen waren. Daraus kann auf eine erhöhte Nitrifikation und damit auch auf eine erhöhte biologische Aktivität in den Säulen bei 20℃ geschlossen werden. Allerdings konnte auf Grund der niedrigen Ammoniumkonzentrationen im Zulauf (im Mittel 2 mg/L) und der relativ hohen Bestimmungsgrenze des Ionenchromatographen, der zur Erfassung der Anionen diente, keine eindeutige Nitrifikation für die 4 darauffolgenden Zeiträume der Probenahmen festgestellt werden. Zwar lagen die Nitratwerte im Ablauf der 4 Säulen meist über dem Zulaufwert, allerdings nur um 3 – 4 mg/L, was noch im Bereich der Bestimmungsgrenze des Ionenchromatographen liegt. Weitere Versuche mit Ammonium-dotiertem Abwasser werden helfen, dieser Fragestellung nachzugehen. Im All-

gemeinen kann man aber von einer Umsetzung von Ammonium zu Nitrat ausgehen, da die Ammoniumkonzentration im Ablauf gegenüber dem Zulauf meist unter der Bestimmungsgrenze lag.

Für Diclofenac, Bezafibrat und Naproxen gibt es in der wissenschaftlichen Literatur sowohl Arbeiten in denen Abbau durch biologische Aktivität nachgewiesen wurde (González et al. 2006, Joss et al. 2006, Kimura et al. 2007), als auch Arbeiten, in denen z.B. für Diclofenac kein Abbau festgestellt werden konnte (Quintana et al. 2005, Joss et al. 2006). In den letzten Jahren ist vor allem für Diclofenac in der Literatur häufig ein Zusammenhang zwischen Nitrifikation und dem Konzentrationsrückgang des Analgetikums nachgewiesen worden (Tran et al. 2009, Suarez et al. 2010). Tran et al. zeigten diesen Zusammenhang auch in Untersuchungen zu Carbamazepin, das bislang als persistent und biologisch schlecht abbaubar gilt. Es wird daher interessant sein zu klären, ob dieser Zusammenhang von Ammoniumumsatz und Elimination der Schadstoffe auch in der Bodenpassage besteht.

Für die komplette Elimination von Ibuprofen sowohl bei 2℃ als auch bei 20℃ könnten abiotische Prozesse von Bedeutung sein, wie z.B. Adsorption an Bodenpartikel. Häufig wird von guter Abbaubarkeit in der Literatur berichtet (Zwiener et al. 2000, Smook et al. 2008), allerdings berichten Scheytt et al. (2007) von signifikanter Retardation während ungesättigter Säulenexperimente und einem geringeren biologischen Abbau als erwartet. Geht man vom $\log K_{OW}$-Wert für Ibuprofen (3.5) aus und vergleicht ihn mit denen von Diclofenac und Bezafibrat (4.51, bzw. 4.25), so würde man bei diesen beiden Schadstoffen ein ähnliches Eliminationsverhalten aufgrund von Sorption erwarten. Daraus lässt sich schließen, dass Sorption allein nicht zur vollständigen Elmination von Ibuprofen führte. Vielmehr muss sowohl bei 20℃, als auch bei 2℃ eine biologische Umsetzung s tattgefunden haben.

Neben dem Stickstoffumsatz wurde auch der Umsatz an gelösten organischen Stoffen (DOC) erfasst. Dieser unterschied sich zu den Probenahmezeitpunkten in den 4 Säulen nicht. Der DOC-Gehalt im Ablauf lag im Durchschnitt bei 5 mg/L, während der Gehalt im Zulauf durchschnittlich bei 11 mg/L lag. Es fand also ein DOC-Umsatz von 6 mg/L in der Säule statt. Bei höherer biologischer Aktivität in den bei 20℃ betriebenen Säulen wäre gegenüber den gekühlten Säulen ein größerer Abbau von organischem Material zu erwarten gewesen und damit ein geringerer DOC-Gehalt. Allerdings spielen auch Sorptionsprozesse während der Bodenpassage beim Rückhalt der Organik eine Rolle und geringere Unterschiede im unteren mg - µg/L Bereich können analytisch nicht erfasst werden. Die Ergebnisse zum Organik-Gehalt deuten aber darauf hin, dass alle 4 Säulen biologisch aktiv sind. Ob nun ein Zusammenhang zwischen Organik-Umsatz und Schadstoffabbau besteht, der auf co-metabolische Abbauprozesse hindeuten würde, ist zu klären. Dazu werden allerdings vor allem Mikrokosmenversuche beitragen, in denen die Versuchsbedingungen leichter zu konrollieren sind.

Eine Übersicht zur Elimination der gemessenen Pharmaka und Steroidhormone/Alkylphenole ist in Tab. 27 aufgeführt. Die Tabelle verdeutlicht abermals den verbesserten Rückhalt der meisten Stoffe in der 20℃ warmen Säule gegenüber d er gekühlten Säule und zeigt eine generell gute Eliminationsleistung während der Bodenpassage auf. Die Hormone erwiesen sich dabei als besonders gut eliminierbar.

Tab. 27 Übersicht zur Elimination der in den Säulenversuchen analysierten Substanzen (Elimination: +++ > 90%, ++ 50 – 90%, + 10 – 50%, - < 10%)

		2℃ dotiert	20℃ dotiert			2℃ dotiert	20℃ dotiert
	Estron	+++	+++		Ibuprofen	+++	+++
	17-beta-Estradiol	+++	+++		Pentoxifyllin	+++	+++
Steroide	Estriol	+++	+++	Analgetika	Diclofenac	+	+++
und Alkyl-	4-tert.-Oktylphenol	+++	+++		Naproxen	++	+++
phenole	4-iso-Nonylphenol	+++	+++		Phenazon	+	+
	Bisphenol A	+++	+++				
	17-α-Ethinylestradiol*	+++	+++	Lipid-	Clofibrinsäure	-	-
				senker	Fenofibrinsäure	-	+++
	Atenolol	+++	+++		Bezafibrat	+	+++
Beta-	Metoprolol	++	+++				
blocker	Propranolol	+++	+++	Anti-	Carbamazepin	+	-
	Sotalol	++	+++	epileptika			

* 17-α-Ethinylestradiol wurde nur in den letzen beiden Beprobungen (7 und 13 Monate) erfasst.

Schließlich wurde auch auf Trialkylphosphate getestet. Allerdings erwies sich der Nachweis als schwierig, da die Stoffe, aufgrund ihrer geringen Konzentration im Kläranlagenablauf zudotiert werden mussten - lediglich Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat wurde im Ablauf der Kläranlage, der als Zulauf für die Säulen diente, gefunden. Zum einen waren die entsprechenden Stoffe nur in flüssiger bis zähflüssiger Form zu beziehen, was das Ansetzen von Stammlösungen für die Dosierung im Säulenzulauf erschwerte, zum anderen wiesen die Ergebnisse aus der Analytik mittels HPLC hohe Schwankungen zwischen den einzelnen Proben auf. Trotz einer Anfangskonzentration von 5µg/L lag die Konzentration demnach oft nur knapp über der Nachweisgrenze. Da die Daten zu den Trialkylphosphaten deshalb of als unsicher eingestuft werden mussten, sind sie in diesem Bericht nicht aufgeführt worden, und zukünftig laufende Untersuchungen werden sich auf Pharmaka und endokrine Wirkstoffe konzentrieren.

6.5.2. Elimination während der Bodenpassage – Mikroorganismen

6.5.2.1. MS2-Bakteriophagen

Um die Abreinigung von MS2-Bakteriophagen während der ungesättigten Bodenpassage mit unterschiedlichen Bodentemperaturen (2℃ und 20℃) beurteilen zu können, wurde zwei Säulen des Säulenversuchs (Säulen ohne zusätzliche Dosierung von Spurenstoffen; genaue Beschreibung und Versuchsaufbau siehe Abschnitt 6.5.1) MS2-Bakteriophagen in hoher Konzentration zudosiert.

Die Säulen wurden zu diesem Zeitpunkt bereits 1,5 Jahre betrieben und über den Säulenzulauf (entspricht Kläranlagenablauf der Kläranlage Neureut) kontinuierlich mit einer geringen Konzentration an MS2-Phagen beschickt. Die Bestimmung im Kulturverfahren ergab für den Säulenzulauf eine durchschnittliche Konzentration von $4{,}7 \times 10^4$ pfu/100mL (Mittelwert aus vier Bestimmungen). Hinter den Beregnungseinheiten konnten noch $2{,}3 \times 10^2$ pfu/100mL bzw. $1{,}3 \times 10^2$ pfu/100mL MS2 Phagen nachgewiesen werden. Nach der Säulenpassage konnten nach 1,5 Jahren weder im Ablauf der 2℃-Säule noch im Ablauf der 20℃-Säule MS2-Bakteriophagen detektiert werden. Bei einer kontinuierlichen Beschickung mit einer geringen Phagen-Konzentration reicht demnach die Rückhaltekapazität beider Säulen aus.

Um die Rückhaltekapazität auch bei hohen Phagenkonzentrationen beurteilen zu können, wurde den Säulen Phagen in einer Konzentration von $4{,}5x10^{11}$pfu/mL zudosiert. Je 19 Mal 1 mL Phagen-Suspension wurde direkt auf den Boden nach der Beregnungseinheit aufgegeben (wobei das Muster des Beregnungskopfes nachgebildet wurde), da sich gezeigt hatte, dass bereits auf der Strecke zwischen Vorratstank und Beregnungseinheit eine Reduktion der Phagenkonzentration um ca. 2 log-Stufen stattfindet. Alle 2 Wochen wurden beim Wechsel des Zulaufs erneut Phagen dosiert und die Konzentration an MS2-Bakteriophagen im Säulenzulauf (Kläranlagenablauf ohne Berücksichtigung der zudosierten Phagen) und den beiden Säulenablaufen sowohl im Kulturverfahren als auch durch PCR im über einen Zeitraum von 110 Tagen bestimmt. Die Ablaufproben konnten aufgrund der langsamen Fließgeschwindigkeit nur als Mischproben über durchschnittlich 7-8 Tage gesammelt werden. Insgesamt wurde 11 Mal zudosiert.

Unter Berücksichtigung der im Kläranlagenablauf (= Säulenzulauf) vorhandenen Konzentration an Phagen und der Verdünnung durch das Porenwasser in den Säulen ergibt sich eine durchschnittliche Phagenkonzentration von $1{,}46x10^{8}$ pfu/mL in der Säule bei 2℃ und $5{,}97x10^{7}$ pfu/mL in der 20℃-Säule. Die Verweildauer in der Säule betrug 6-7 Tage.

Sowohl im Kulturverfahren als auch in der PCR zeigte sich, dass auch nach einer Versuchsdauer von 110 Tagen im Ablauf der Säule mit 20℃ keine Phagen nachgewiesen werden konnten. Dagegen brechen die Phagen in der 2℃-Säule bereits direkt in der ersten Woche nach Zudosierung durch. Abb. 89 zeigt das Ergebnis der qualitativen PCR für die beiden Säulenabläufe.

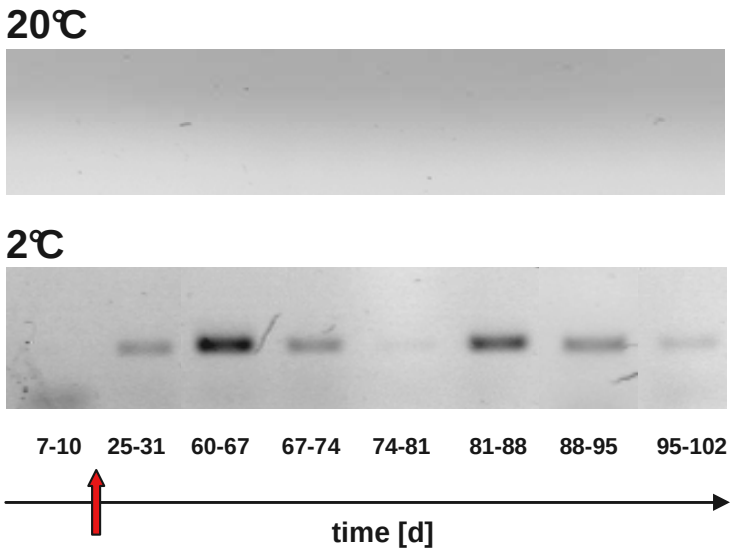


Abb. 89 Ergebnis der qualitativen PCR für die Säulenabläufe bei 2℃ und 20℃ für MS2-Bakteriophagen (der rote Pfeil kennzeichnet den Start der Zudosierung)

Vor Zudosierung (Tag 7-10) wurden keine Phagen in beiden Säulenabläufen nachgewiesen, nach Zudosierung erhält man für den Ablauf der 2℃-Säule ein positives Signal. Bis Versuchsende wurden zu jedem Probenahmetermin Phagen nachgewiesen, wenngleich die

Konzentration abnehmend ist (Abb. 90). Zu Versuchsbeginn finden sich im Säulenablauf 1,24x10^4 pfu/mL, gegen Versuchsende nur noch 1,47x10^2 pfu/mL, dies entspricht einer Gesamtreduktion um sechs log-Stufen. Im Ablauf der 20℃ zeigte sich bis zum Ende keine Bande, es findet demnach eine vollständige Elimination von MS2-Phagen um 8 log-Stufen statt (Abb. 90).

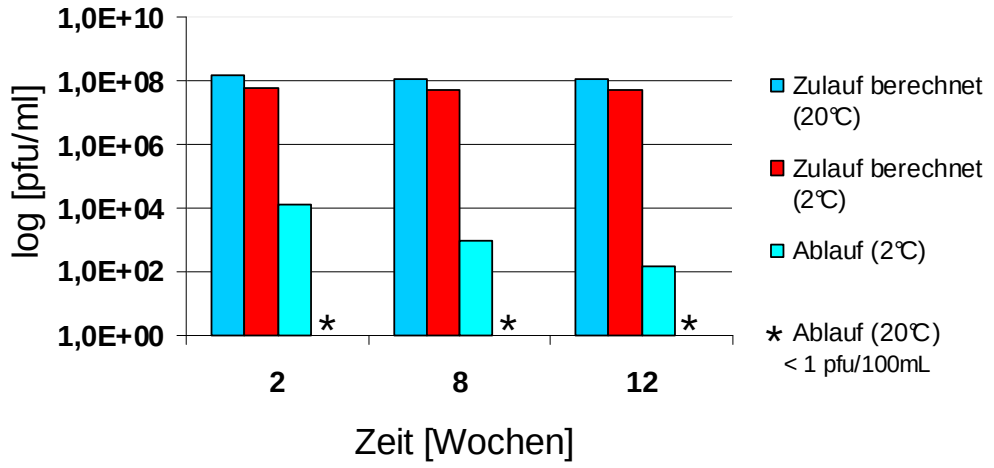


Abb. 90 Darstellung des Rückhalts von MS2-Bakteriophagen während des Säulenversuchs

In Tab. 28 sind die Ergebnisse des Säulenversuchs für PCR und Kulturverfahren zusammengefasst.

Tab. 28 Zusammenfassung der Ergebnisse des Säulenversuchs mit Dosierung von MS2 Bakteriophagen für PCR und Kulturverfahren (n.b. nicht bestimmt; C_T Threshold Cycle)

	Probenahme-intervall [d]	Aufkonzentriertes Volumen [mL]	Qualitative PCR ( ) sehr schwache Bande	Real Time PCR [copies/100mL]	Kulturverfahren [pfu/100mL]
nach Beregnungskopf 1	1-4	700	-	< C_T	$2{,}3 \times 10^3$
nach Beregnungskopf 3	1-4	700	-	< C_T	$1{,}3 \times 10^2$
Zulauf (Vorratsgefäß)	0	750	+	< C_T	$5{,}6 \times 10^4$
	25	510	+	< 10^1	$2{,}0 \times 10^5$
	67	650	+	$1{,}8 \times 10^2$	$5{,}3 \times 10^4$
	81	900	+	$1{,}2 \times 10^2$	n.b.
	95	500	+	$1{,}6 \times 10^2$	$7{,}7 \times 10^4$
Zudotierung					$4{,}5 \times 10^{11}$
Ablauf 2℃-Säule	7-10	1000	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	25-31	920	+	< 10^1	$1{,}8 \times 10^5$
	31-39	1100	(+)	< C_T	$2{,}3 \times 10^6$
	60-67	1000	+	$2{,}2 \times 10^2$	n.b.
	67-74	1000	+	$3{,}4 \times 10^2$	$8{,}1 \times 10^4$
	74-81	1000	+	$2{,}4 \times 10^1$	$1{,}14 \times 10^5$
	81-88	1000	+	< 10^1	n.b.
	88-95	1000	+	n.b.	n.b.
	95-102	900	+	$3{,}6 \times 10^2$	$2{,}1 \times 10^4$
	102-110	1000	(+)	< 10^1	$8{,}4 \times 10^3$
Ablauf 20℃-Säule	0-7	1000	-	n.b.	n.b.
	7-10	1000	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	25-31	680	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	31-39	810	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	60-67	1000	-	n.b.	n.b.
	67-74	900	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	74-81	1000	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	81-88	1000	-	n.b.	n.b.
	88-95	1000	-	n.b.	n.b.
	95-102	1000	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL
	102-110	1000	-	< C_T	< 1 pfu/100 mL

Wurden im Kulturverfahren Phagen nachgewiesen (Abb. 91), so war auch eine Bande sichtbar, wurden keine Phagen detektiert, sah man keine Bande. Die Ergebnisse der Real Time PCR und des Kulturverfahrens weichen allerdings teilweise erheblich voneinander ab. Es ist zu vermuten, dass sowohl die langen Standzeiten zum Sammeln der Probe zu einem Konzentrationsverlust geführt haben als auch die komplexe Matrix (diverse Abwasserinhaltsstoffe, Bodenmaterial, vermutlich hohe Huminstoffkonzentration) einen teils erheblichen Einfluss auf die Detektion von MS2 Bakteriophagen haben.

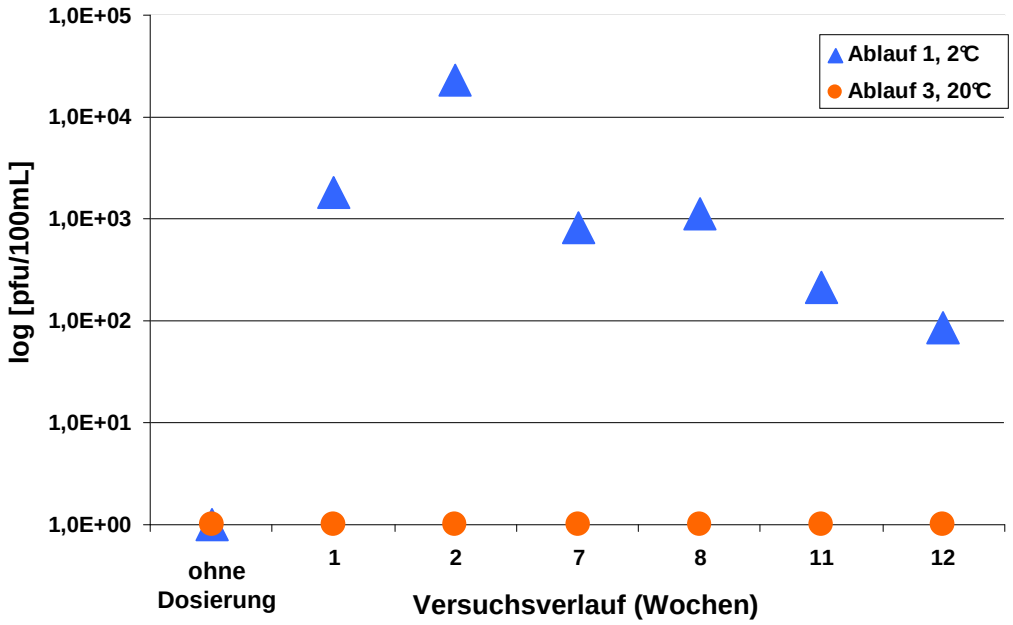


Abb. 91 Verlauf des MS2-Bakteriophagen im Säulenversuch (Kulturverfahren)

Temperatur gilt als wichtiger Einflussfaktor bei der Vireninaktivierung während der Bodenpassage und Schijven & Hassanizadeh (2000) konnten bereits zuvor zeigen, dass die Virenelimination signifikant mit der Temperatur ansteigt. Der Phage MS2 wird bei höheren Temperaturen schneller inaktiviert, zeigt aber bei Temperaturen unter 7℃ nur eine geringe Inaktivierungsrate. Auch Gordon & Toze (2003) beschreiben, dass die Temperatur neben anderen Parametern wie dem O_2-Gehalt oder der Versorgung mit Nährstoffen indirekt die Viruselimination beeinflusst, indem sie die Aktivität der Mikroflora steuert. Eine vollständige Elimination von MS2-Phagen wurde unter aeroben Bedingungen bei 28℃, aber nicht bei 4℃ beobachtet.

Die vorliegenden Ergebnisse des Säulenversuchs bestätigen diese Beobachtung, auch wenn bedacht wird, dass die Säule bei 20℃ betrieben wur de. Auch Sobsey et al. (1995) konnten einen größeren Rückhalt für MS2-Phagen bei 25℃ im Vergleich zu 5℃ feststellen. Sie vermuteten thermische Inaktivierung, Adsorption and antivirale mikrobielle Aktivität als haupsächliche Eliminationsprozesse.

Zahlreiche Publikationen beschreiben eine komplexe Beziehung zwischen Phagen und ihren Wirtsorganismen, die als Räuber-Beute-Beziehung angesehen werden kann (Wolf et al. 2004, Chibani-Chennoufi 2004). Die Anwesenheit diverser Mikroorganismen führt zu einer Reduktion der Viruskonzentration. Zu den mikrobiellen Antagonisten zählen Protozoen, Pilze

sowie Bakterien, die Virus-zerstörende Metabolite produzieren oder Viren als Nährstoffquelle nutzen (Grabow 2001).

6.5.2.2. *E.coli*, Coliforme und Gesamtkeimzahl

Neben MS2-Bakteriophagen wurde auch der Verlauf weiterer Organismen während des Säulenversuchs betrachtet. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte durch Kulturverfahren.

Abb. 92 zeigt eine Zusammenstellung der Ergebnisse, wobei die Gesamtkeimzahl während des gesamten Versuchsverlaufs sowohl im Zulauf als auch in beiden Abläufen um 10^4 Zellen/mL schwankt. *E.coli* und Coliforme finden sich nur im Zulauf um 10^5 Zellen/100 mL, in den Abläufen sind beide nicht nachweisbar.

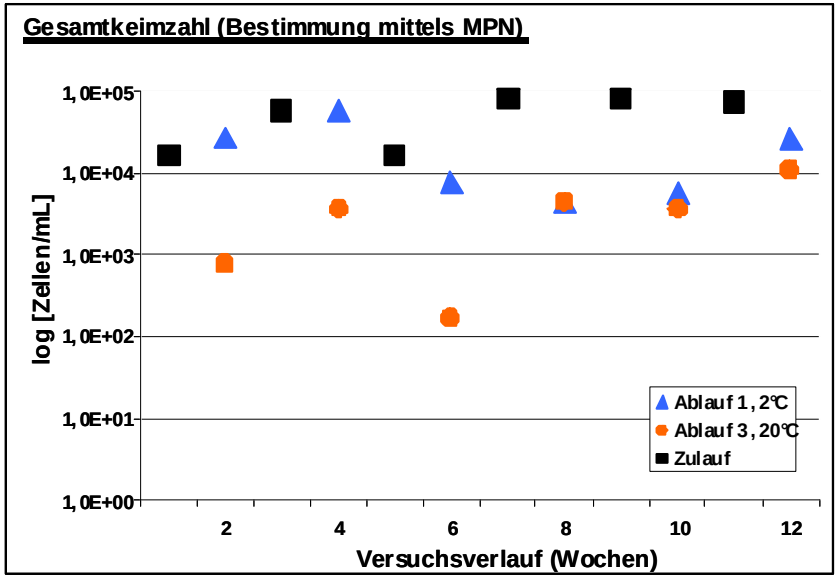
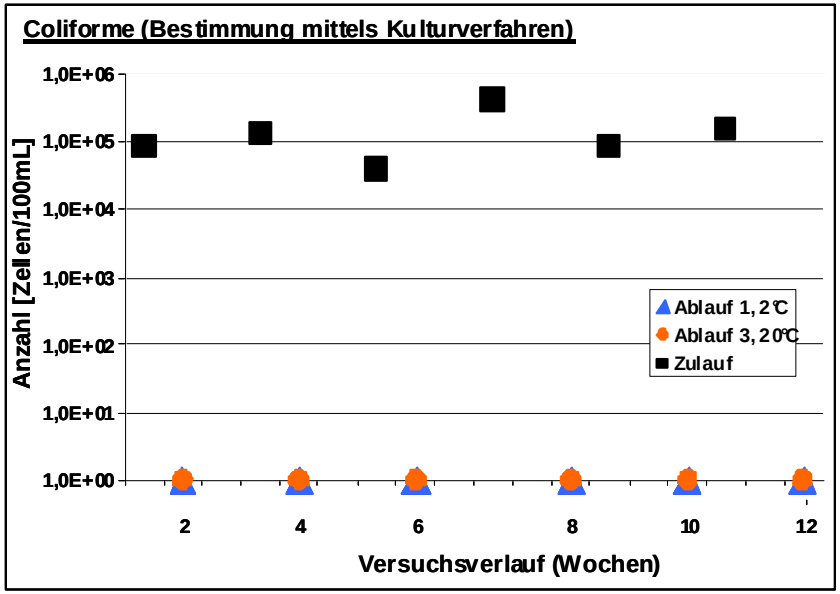
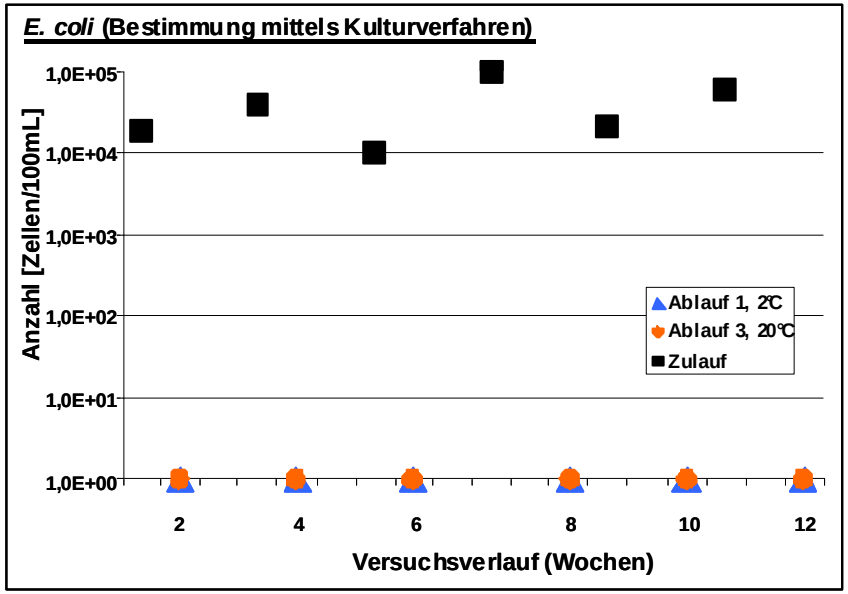


Abb. 92 Darstellung des Verlaufs von Coliformen, *E.coli* und der Gesamtkeimzahl im Säulenversuch





6.5.3. Zusammenfassung der Säulenversuche

Die Untersuchungen an den seit knapp 2 Jahren laufenden Bodensäulen haben für viele Pharmaka und endokrine Wirkstoffe eine hohe Eliminationsleistung aufgezeigt. Sorptions-/Desorptionsprozesse sowie biologische Aktivität führen gemeinsam zu einem Konzentrationsrückgang im Säulenablauf gegenüber dem Säulenzulauf. Für einige Stoffe (z.B. Diclofenac, Bezafibrat) besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen Elimination und Temperatur, der auf biologischen Umsatz der Schadstoffe schließen lässt. Der Rückgang anderer Pharmaka hingegen scheint eher unter dem Einfluss von Sorptions-/Desorptionsprozessen zu stehen (z.B. Phenazon) während für Carbamazepin kein nennenswerter Rückhalt gemessen wurde. Ibuprofen wiederum scheint sowohl bei 2°C als auch bei 20℃ durch biologische Aktivität umsetzbar. Welche einzelnen Prozesse beim Umsatz dieser Schadstoffe eine Rolle spielen, hat sich bereits über den Ammoniumumsatz und die Verwertung der im Säulenzulauf enthaltenen Organik angedeutet (Nitrifikation, co-metabolische Abbauprozesse) und wird Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Anhand der Säulensysteme wurde auch die Abreinigung von MS2-Bakteriophagen während der ungesättigten Bodenpassage mit unterschiedlichen Bodentemperaturen (2℃ und 20℃) untersucht. Es zeigte sich, dass die Temperatur einen erheblichen Einfluss auf die Elimination von MS2-Phagen während der Bodenpassage hat. In der 20℃ Säule brechen auch nach einer Versuchsdauer von 110 Tagen keine Phagen durch, was einer Abreinigung von acht log-Stufen entspricht. In der 2℃ Säule erfolgt nur eine teilweise Elimination auf eine Konzentration im Säulenablauf von ca. $2x10^2$ pfu/100mL. Dass die Virenelimination bei hohen Temperaturen vollständig ist, konnten zuvor bereits andere Arbeitsgruppen zeigen (Schijven & Hassanizadeh 2000, Gordon & Toze 2003; Sobsey et al. 1995). Vermutlich ist bei der Virenelimination während der Säulenpassage das Zusammenspiel diverser Parameter wie thermische Inaktivierung, Adsorption, aber auch die Räuber-Beute-Beziehung zwischen Phagen und Wirtsorganismen ausschlaggebend.

6.5.4. Mikrokosmenversuche zum Abbau von Pharmaka

Zum besseren Prozessverständnis des Schadstoffabbaus in der Umwelt, wurden Mikrokosmenversuche mit Nitrifzierern, Methanotrophen und Belebtschlamm als jeweiliges Inokulum angesetzt. Über die Zugabe von Ammonium oder Methan als Energie-, bzw. Energie- und Kohlenstoffquelle wurde auf co-metabolischen Abbau getestet, während beim Test auf produktiven Abbau kein Substrat außer dem Schadstoff im Ansatz enthalten war. Es wurden sowohl Versuche mit Einzelsubstanzen, wie auch im Substanzgemisch durchgeführt um so den eventuellen Einfluss von Wechselwirkungen zwischen den Schadstoffen auf deren Abbauverhalten zu berücksichtigen. Für die Ansätze mit Substanzgemisch wurde außerdem in umweltrelevanten Konzentrationen (µg/L) gearbeitet und der Nachweis erfolgte über HPLC-MS/MS. Die Konzentration der einzelnen Schadstoffe lag im mg/L-Bereich und wurde mit einem Photometer gemessen. Über Ionenchromatographie und Gaschromatographie wurde der Stickstoffumsatz bilanziert, bzw. der Nachweis des Methanverbrauchs erbracht.

6.5.4.1. Abbauversuche mit Belebtschlamm als Inokulum

Zulauf und Ablauf der kommunalen Kläranlage Eggenstein-Leopoldshafen wurden mit Belebtschlamm beimpft und in 5L Batchflaschen über einen Zeitraum von 3 Monaten bei Raumtemperatur inkubiert. Für die aktiven Ansätze wurde mit jeweils 2 Parallelen gearbeitet. Als Kontrolle diente jeweils ein Ansatz, der bei 4℃ gekühlt wurde. Alle Ansätze wurden im Dunkeln aufbewahrt. 2-5 µg/L jeder untersuchten Substanz wurden den Ansätzen als Startwerte zugegeben. Durch Vergleich Zulauf und Ablauf sollte der Einfluss der im Zulauf zusätzlich vorhandenen organischen Stoffe auf die Elimination der Schadstoffe untersucht werden. Dabei waren 2 Szenarien denkbar: 1. Geringere Elimination der Schadstoffe im Zulauf durch Konkurrenz mit anderen organischen Substanzen; 2. Höhere Elimination im Zulauf auf Grund co-metabolischer Abbauprozesse. Abgebildet sind im Folgenden die Ergebnisse der Probenahme nach 3 und 12 Wochen für Diclofenac, Ibuprofen, Bezafibrat und Naproxen (Abb. 94), sowie eine Übersicht über die Elimination weiterer untersuchter Stoffe für den gesamten Versuchszeitraum (Tab. 29).

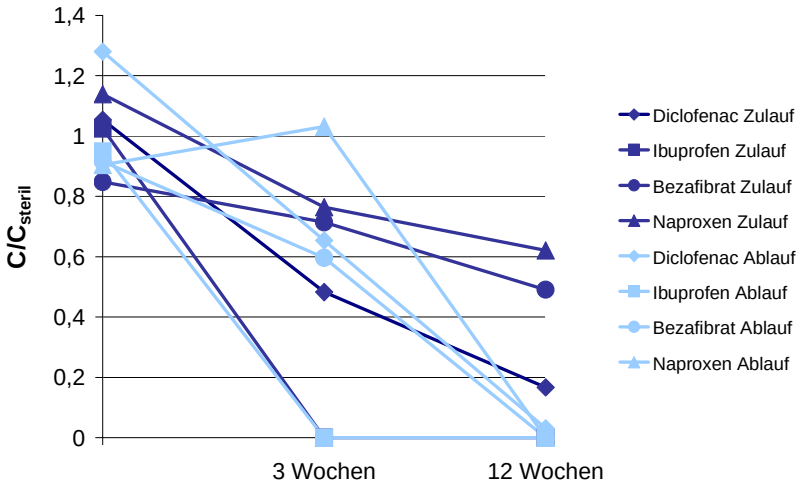


Abb. 93 Rückgang ausgewählter Pharmaka nach 3 und 12 Wochen im Batchreaktor mit geklärtem und ungeklärtem Abwasser. Die dargestellten Werte sind jeweils Mittelwerte der zwei Parallelansätze.

Für die Analgetika Diclofenac und Naproxen sowie für den Lipidsenker Bezafibrat zeigten sich insgesamt für die Batchansätze mit Ablauf der Kläranlage bessere Eliminationsraten gegenüber den Ansätzen mit Kläranlagenzulauf. Ibuprofen, ebenfalls ein Analgetikum, wurde unter beiden Versuchsbedingungen bereits innerhalb der ersten 3 Wochen vollständig abgebaut. Die Ergebnisse stellen die Konzentration in den aktiven Ansätzen gegenüber der Kontrolle dar und deuten damit auf Elimination durch biologischen Abbau hin. Ein langsamerer Abbau der Schadstoffe in ungeklärtem Abwasser lässt Konkurrenz mit anderen, schneller umzusetzenden organischen Stoffen vermuten. Darauf deutet auch die Abnahme des DOC um mehr als 50% hin (von 46 mg/L auf 20mg/L). Im Vergleich dazu war der DOC in Ansätzen mit geklärtem Abwasser stabil und variierte zwischen 7-8 mg/L. Auch Urase & Kikuta (2005) fanden für Diclofenac eine höhere Elimination im Belebtschlamm, wenn der Organik-Gehalt gering war. Dagegen spricht die Untersuchung von Tran et al. (2009), bei der mit zunehmender Acetat-Konzentration im Medium auch die Konzentration von DCF zurückging. Allerdings handelte es sich um speziell angereicherte nitrifizierende Belebtschlammkulturen.

Nitrifikation wurde in beiden Ansätzen, mit Kläranlagenzulauf sowie mit Kläranlagenablauf, beobachtet. Daraus lässt sich ableiten, dass die Zusammensetzung der Belebtschlammpopulation einen nicht zu unterschätzenden Einfluss auf den Abbau von Schadstoffen hat.

Zu den untersuchten Spurenstoffen gehörten auch die Röntgenkontrastmittel Iomeprol, Iopromid und Amidotrizoesäure, bei denen kein Abbau festgestellt werden konnte (Tab.29). Gleiches zeigte sich für das Antiepileptikum Carbamazepin.

Tab. 29 Zusammenfassung der Elimination der untersuchten Stoffe während des dreimonatigen Batchversuches (+ entspricht einem Konzentrationsrückgang > 10%, - bedeutet kein Konzentrationsrückgang)

Spurenstoff	Zulauf	Ablauf	Spurenstoff	Zulauf	Ablauf
Gemfibrozil	+	+	Iomeprol	-	-
Fenofibrinsäure	-	+	Iopromid	-	-
Clofibrinsäure	-	-	Estron	+	+
Carbamazepin	-	-	17-beta-Estradiol	+	+
Pentoxifyllin	-	+	Estriol	+	+
Atenolol	+	-	Bisphenol A	+	+
Metoprolol	+	-	Triethylphosphat	+	-
Phenazon	-	-	Tri-n-butylphosphat	+	+
Propranolol	-	-	Triphenylphosphat	+	+
Sotalol	-	-	Tris-(2-chlorethyl)-phosphat	-	-
Amidotrizoesäure	-	-	Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat	-	-

Endokrin wirksame Stoffe wie das natürliche Hormon Estron oder das Xenobiotikum Bisphenol A zeigten alle eine 100%ige Elimination nach 3 Wochen. Die Trialkylphosphate wiesen unterschiedliche Abbauraten zwischen 0 und 59% (Tri-n-butylphosphat) auf.

Tab. 30 gibt eine Übersicht über die in den Batch- und Säulenversuchen erhaltenen Ergebnisse zur Elimination der ausgewählten Pharmaka zusammen mit Ergebnissen aus der Literatur.

Tab. 30 Vergleich der in den Laborversuchen festgestellten Elimination mit Ergebnissen aus anderen Arbeiten für die untersuchten Pharmaka

Substanz	Elimination in Laborversuchen*		Elimination in der Literatur	
	Batch (Kläranlagenablauf)	Säule (20℃, dotiert)	Ja	Nein
Bezafibrat	+ + +	+ + +	a, c	/
Carbamazepin	-	+	k	b, g
Naproxen	+ + +	+ + +	c, e	/
Ibuprofen	+ + +	+ + +	a, b, f	/
Diclofenac	+ + +	+ + +	d, g, h	a, c

* - keine Elimination, + Elimination < 50%, +++ Elimination > 90%; a: Joss et al. 2006, b: Zwiener et al. 2000, c: Quintana et al. 2005, d: González et al. 2006, e: Kimura et al. 2007, f: Smook et al. 2008, g: Tran et al. 2009,h: Suarez et al. 2010

Die Ergebnisse aus dem Mikrokosmenversuchen und den Säulenversuchen decken sich bei den meisten Stoffen. Für Bezafibrat, Naproxen und Ibuprofen ist auch in der Literatur eine gute Abbaubarkeit, bzw. Elimination während der Abwasserbehandlung, beschrieben. Für Diclofenac und Carbamazepin hingegen werden unterschiedliche Angaben im Hinblick auf deren Eliminationsverhalten gemacht. Dies macht deutlich, dass die Prozesse, die zur Abnahme dieser Substanzen in verschiedenen Behandlungsverfahren führen, noch nicht geklärt sind und weiterer Forschungsbedarf besteht. Einer dieser Prozesse, die es zu untersuchen gilt, ist die Nitrifikation. Es geht um den Zusammenhang von Stickstoff verwertenden Organismen und der gleichzeitigen Umsetzung von Schadstoffen.

Um herauszufinden, welche Rolle die Nitrifikation bei der Umsetzung der einzelnen Schadstoffe im Ansatz mit Belebtschlamm spielt, wurden Batchansätze mit Belebtschlamm als Inokulum und jeweils einem Schadstoff angesetzt. Ammonium wurde dabei erst nach einem Monat Versuchszeit zudosiert, um so auch einen möglichen produktiven Abbau vom cometabolischen Abbau unter nitrifizierenden Bedingungen unterscheiden zu können. Die Abnahme des Schadstoffes wurde dabei über die Absorption im UV-Wellenlängenbereich mit einem Photometer gemessen.

Abb. 94 zeigt die Abnahme des Peaks von Diclofenac (DCF) bei 275nm, die erst nach der Dosierung von Ammonium und mit dem Einsetzen der Nitrifikation (ab Tag 60) beobachtet wurde.

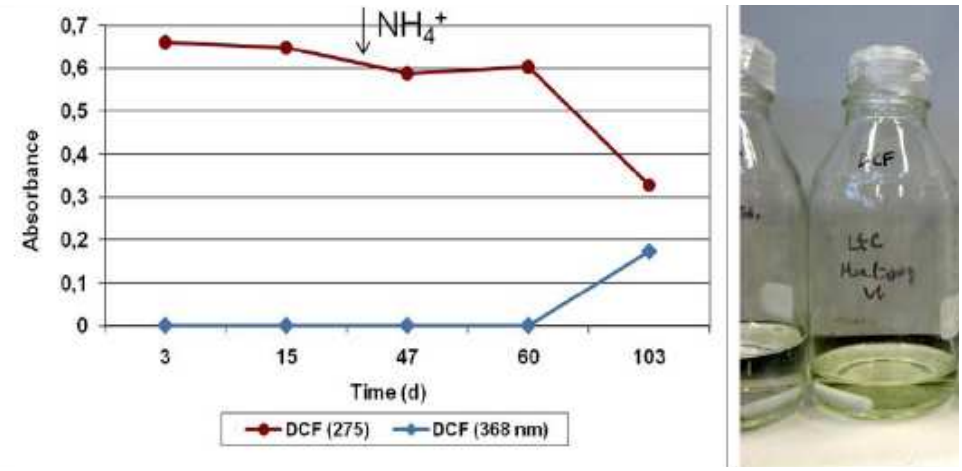


Abb. 94 Abnahme der Diclofenac-Konzentration in Belebtschlammkultur, gemessen über die Absorption bei 275 nm, und Verfärbung des Ansatzes nach Auftreten des neuen Peaks bei 368 nm

Die Abnahme des Peaks bei 275nm korrelierte mit dem Auftreten eines neuen Peaks bei 368nm und einer Farbveränderung des Ansatzes von farblos durchsichtig hin zu einer gelblichen Verfärbung (Abb. 94). Dieser Peak lässt auf die Entstehung eines Metaboliten schließen, der von den nitrifizierenden Bakterien bei der co-metabolischen Umsetzung von DCF gebildet wurde. Die Literatur beschreibt verschiedene Metabolite von DCF bei der mikrobiellen Umsetzung (Webster et al. 1998, Gröning et al. 2007), jedoch sind die Vorraussetzungen und Mechanismen, die zu den verschiedenen Abbauprodukten bis hin zur Mineralisation führen, nicht geklärt. Zurzeit wird deshalb an der Reproduzierbarkeit der hier dargestellten Ergebnisse gearbeitet um im weiteren Verlauf auch Metabolite mit entprechender Messtechnik (HPLC) bestimmen zu können.

Auch Carbamazepin (CBZ), welches kürzlich in einem Artikel zum Abbau unter nitrifizierenden Bedingungen erwähnt wurde (Tran et al. 2009), zeigte eine Abnahme unter den oben erläuterten Bedingungen. Die Abnahme des Peaks bei 284nm wurde allerdings erst mit steigender Nitratbildung gegenüber der Nitritbildung beobachtet (Abb. 95, Tag 94 und 117). Die Abnahme von CBZ erbrachte keinen weiteren neuen Peak und es bleibt zu klären, ob es sich um Mineralisation handelt oder einzelne Metabolite entstehen, deren Konzentration nicht ausreicht um mit dem UV-Photometer nachgewiesen zu werden.

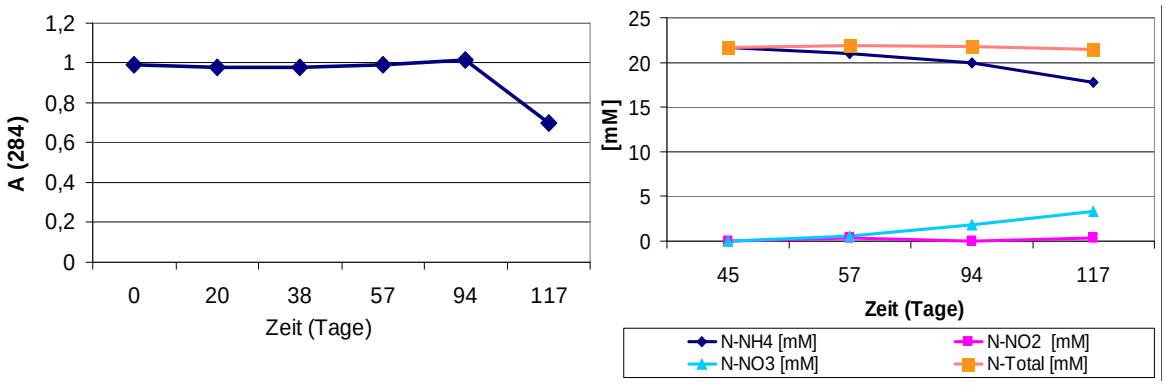


Abb. 95 Abbau Carbamazepin in Belebtschlammkultur unter nitrifizierenden Bedingungen (rechte Abbildung)

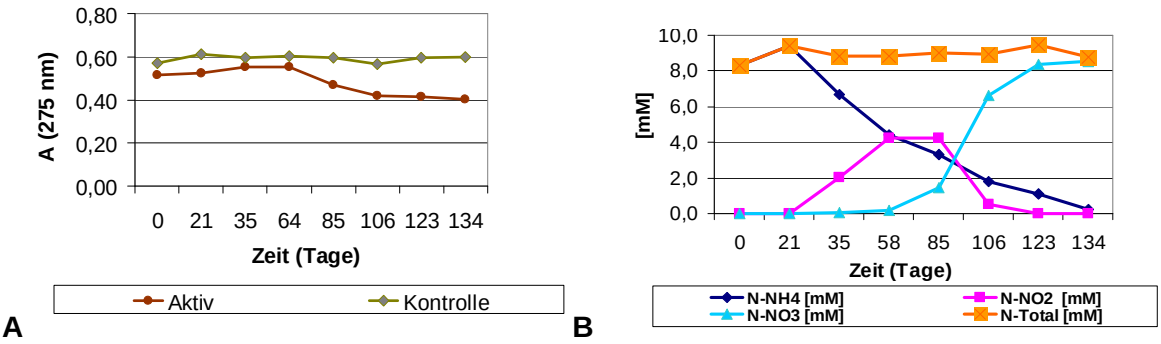
Im Vergleich mit Tran et al. (2009), die einen Konzentrationsrückgang von 30-40% für CBZ beschrieben, ist die Abnahme von CBZ in den hier dargestellten Ergebnissen mit 37% vergleichbar und verglichen mit anderen Quellen in der Literatur überraschend, da das Antiepileptikum sich in Versuchen bisher als sehr stabil erwiesen hat (z.B. Clara et al. 2005a, Scheytt et al. 2006, Wick et al. 2009). Auch dieses Ergebnis bedarf deshalb weiterer Untersuchungen. Im Hinblick auf die Rolle der Ammoniumoxidierer und Nitritoxidierer ergeben sich für beide Stoffe, DCF und CBZ, interessante Untersuchungsansätze. Somit werden Versuche mit Nitrit oder Ammonium als Stickstoffquelle Auskunft über die unterschiedlichen Anteile dieser beiden Organismengruppen am Umsatz der Schadstoffe geben.

6.5.4.2. Abbauversuche unter methanotrophen Bedingungen

Weder Carbamazepin, noch Diclofenac zeigten unter methanotrophen Bedingungen eine Peakverkleinerung. Auch ein produktiver Umsatz durch Methanotrophe unter Ausschluss des Kohlenstoffliferanten Methan ergab für keinen der getesteten Schadstoffe eine Elimination.

6.5.4.3. Abbauversuche unter nitrifizierenden Bedingungen

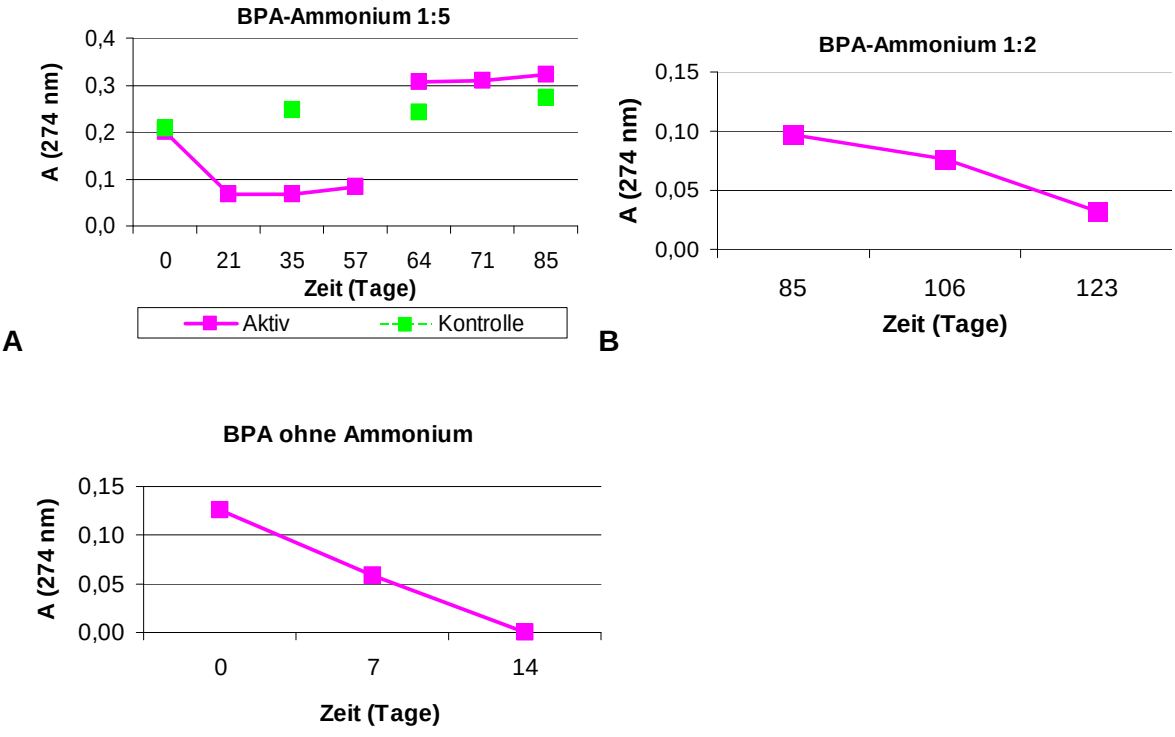
Der Abbau von Diclofenac und Bisphenol A (BPA) wurde unter nitrifizierenden Bedingungen mit einer an Nitrifizierern angereicherten Kultur als Inokulum untersucht. Abb. 96 A zeigt die Abnahme der DCF-Konzentration im Ansatz mit Ammonium gegenüber einer konstanten Konzentration im Kontrollansatz ohne Substrat. Die Abnahme des Peaks überschnitt sich dabei zeitlich mit dem Anstieg der Nitratbildung (Abb. 96, B). Im Gegensatz zu dem mit Belebtschlamm angeimpften Ansatz wurde diesmal kein Metabolit gebildet (vgl. Abb. 94). Vermutlich gehen von der jeweiligen mikrobiellen Zusammensetzung auch jeweils unterschiedliche Transformationsprozesse aus, die verschiedene Metabolite in unterschiedlichen Konzentrationen entstehen lassen.



A B

Abb. 96 Abnahme der Konzentration von Diclofenac (A) in einer mit Nitrifizierern angereicherten Kultur unter nitrifizierenden Bedingungen (Abbildung B), sowie ohne Ammonium (Kontrolle in A)

Die Konzentration von Bisphenol A wurde unter verschiedenen Ammoniumkonzentrationen getestet, da bei einem Ammonium-BPA-Verhältnis von 1:5 kein Konzentrationsrückgang nachgewiesen werden konnte (Abb. 97, A). Nach Auffüllen des Ansatzes aus Abbildung 98 A mit neuem Medium ergab sich ein Ammonium-BPA-Verhältnis von 1:2, bei dem eine teilweise Elimination des Schadstoffes festgestellt wurde (Abb. 97, B). Schließlich wurde der Ansatz auch nach Verbrauch des Substrates verfolgt und nach erneuter Zugabe von BPA wurde dieses vollständig eliminiert (Abb. 97, C).



A B C

Abb. 97 Abbau Bisphenol A (BPA) unter nitrifizierenden Bedingungen in einer mit Nitrifizierern angereicherten Kultur und unterschiedlichen Ammoniumkonzentrationen (A, B, C), sowie einer Kontrolle ohne Ammonium (A)

Der Vergleich mit der Konzentration von BPA in der Kontrolle, die sich während des gesamten Versuchszeitraumes nicht veränderte, zeigt, dass Ammonium in geringerer Konzentration

vorhanden sein muss um einen Umsatz von BPA zu bewirken. Dies könnte auf die Bedeutung des Substrats bei der Aktivierung der Ammoniummonooxygenase (AMO) zurückzuführen sein (Arp et al. 2001). In den aktiven Ansätzen konnte diese Aktivierung statt finden, während sie im Kontrollansatz nicht möglich gewesen war. Ein vollständiger Umsatz selbst ohne Ammonium wäre dann möglich, da bereits zuvor genügend Enzyme mobilisiert wurden. Eine erhöhte Konzentration von Ammonium würde wiederum zu Konkurrenz mit dem Schadstoffabbau führen, wie auch in einer Studie von Roh et al. (2009) beobachtet.

Auch Tran et al. (2009) kamen in ihren Versuchen zum Abbau von Diclofenac und Carbamazepin unter nitrifizierenden Bedingungen zu dem Schluss, dass eine Aktivierung durch Ammonium die Aktivität der AMO und damit die Abbaurate des Schadstoffs steigert. Dabei erhöhten sie allerdings die Ammoniumkonzentration bis eine Steigerung der Elimination nicht mehr messbar war.

Gegen diese Interpretation spricht allerdings die Abnahme der DCF Konzentration erst bei Einsetzen der Nitratbildung. Ob die AMO der Ammoniumoxidierer oder die Nitritoxidier für einen Schadstoffumsatz verantwortlich sind wird Gegenstand weiterer Mikrokosmenversuche mit unterschiedlichen Nährstoffangeboten (Ammonium / Nitrit) sein.

6.5.4.4. Abbauversuche mit einem Substanzgemisch und verschiedenen Inokuli

Basierend auf den Ergebnissen der Einzelstoff-Ansätze wurden Mikrokosmenversuche mit Stoffgemischen der Klassen Röntgenkontrastmittel, Betablocker, Analgetika, Steroidhormone, Alkylphenole und dem Antiepileptikum Carbamazepin durchgeführt, die auch schon in den Versuchen mit Kläranlagenzulauf und –ablauf untersucht wurden (siehe Abb. 93 und Tab. 29). Dabei galt das Interesse einerseits Diclofenac, Bisphenol A und Carbamazepin, die schon in den Einzelstoff-Untersuchungen interessante Ergebnisse lieferten. Andererseits konnten mittels HPLC-MS/MS Nachweis auch weitere Stoffe untersucht werden, die mit dem Photometer nicht nachzuweisen waren. Vor allem bei Steroidhormonen und dem Röntgenkontrastmittel befanden sich die Peaks oft am äußersten Rand des UV-Spektrums und überschnitten sich mit anderen Peaks, generiert durch medieneigene Bestandteile, wie z.B. das Nitrat.

Tab. 31 zeigt eine Übersicht zur Elimination einiger untersuchter Stoffe in den Ansätzen mit Nitrifzierern, Methanotrophen und Belebtschlamm als Inokulum. Die verwendeten Inokuli stammten jeweils aus den Einzelversuchen und waren bereits an das jeweilige Medium angepasst. Für den Ansatz mit Belebtschlamm wurde eine neue Probe aus dem Belebungsbecken einer Kläranlage als Inokulum verwendet. Der Belebtschlammansatz wurde ohne Substratzugabe auf produktiven Abbau hin verfolgt.

Die Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure und Iopromide zeigten unter methanotrophen Bedingungen einen Konzentrationsrückgang von 62% und 45 % über den dreimonatigen Versuchszeitraum hinweg. Bisher ist zum co-metabolischen Abbau von Pharmaka unter methanotrophen Bedingungen aus der Literatur nichts bekannt. Methanotrophe Prozesse spielen in Böden eine weit verbreitete Rolle (Hanson & Hanson 1996). Da z.B. Amidotrizoesäure als Tracer für Abwassereinfluss diskutiert wird (Wolf et al. 2009), könnte es von Interesse sein den Abbau dieser Stoffe unter methanotrophen Bedingungen weiterhin zu verfolgen. So

wiesen Haiß und Kümmerer (2006) bereits einen Metabolit des Röntgenkontrastmittels unter aeroben Bedingungen in Belebtschlamm nach und Schulz et al. (2008) wiesen Transformationsprodukte des Röntgenkontrastmittels Iopromide unter aeroben Bedingungen in Batchversuchen und Uferfiltrat nach.

Tab. 31 Elimination der Schadstoffe im Gemisch in den Ansätzen mit Nitrifzierern, Methanotrophen und Belebtschlamm als jeweiliges Inokulum

Gruppe	**Schadstoff**	**Nitrifizierer**		**Methanotrophe**		**Belebt-schlamm**
		+ NH_4^+	-NH_4^+	+ CH_4	- CH_4	
Röntgenkontrastmittel	Amidotrizoesäure	-	-	+-	-	-
	Iopromide	-	-	+-	-	-
Lipidsenker	Bezafibrat	-	-	+-	+-	++
Antiepileptikum	Carbamazepin	-	-	+-	-	+-
Schmerzmittel	Diclofenac	+-	+-	-	-	-
	Ibuprofen	+-	+-	-	-	++
Steroide und Alkylphenole	Estron	++	++	-	++	++
	Estriol	++	++	++	++	++
	17-β-Estradiol	++	++	++	++	++
	17-α-Ethinylestradiol	+-	+-	-	-	+-
	4-ter-Octylphenol	++	-	-	-	++
	4-iso-Nonylphenol	++	++	-	-	++
	Bisphenol A	++	++	-	++	++

++ komplette Elimination, +- teilweise Elimination und – keine Elimination.

Bezafibrat zeigte einen tendenziellen Konzentrationsrückgang unter co-metabolischen, wie auch produktiven Bedingungen in den Ansätzen mit Methanotrophen. In Belebtschlamm wurde es vollständig eliminiert. Die Ergebnisse lassen insgesamt auf einen von Substrat unabhängigen produktiven Abbau des Lipidsenkers schließen. Nitrifikation und der Abbau durch Nitrifizierer scheinen dabei nicht die vordergründigen Eliminationsprozesse zu sein.

Carbamazepin erwies sich abermals als schlecht eliminierbar. Auch unter bisher nicht untersuchten methanotrophen Bedingungen ergab sich nur ein geringer Rückgang (11%), der allerdings auch im mit Belebtschlamm angeimpften Ansatz beobachtet wurde (14%) und als marginal zu betrachten ist.

Die Schmerzmittel Diclofenac und Ibuprofen erwiesen sich als relativ persistent in den Ansätzen mit Nitrifzierern und Methanotrophen. Im Ansatz mit Belebtschlamm hätte man, verglichen mit den früheren Belebtschlammversuchen (Abb. 93) eine Abnahme der DCF Kon-

zentration erwartet. Allerdings enthielt dieser Ansatz kein Ammonium und eine 41 %ige Abnahme unter nitrifizierenden Bedingungen lässt darauf schließen, dass diese Organismengruppe auch in den Belebtschlammversuchen mit Ammonium für die Elimination von DCF verantwortlich war. Die Anreicherung von Nitrifizierern war allerdings in diesem Ansatz gegenüber dem früheren Belebtschlammansatz aufgrund des Ammoniummangels beschränkt, was zur Stabilität von DCF über den Versuchszeitraum hinweg geführt haben könnte. Ibuprofen wurde jedoch vollständig in Belebtschlamm eliminiert. Daraus ergibt sich ein wahrscheinlich produktiver Abbau von Ibuprofen durch heterotrophe Organismen des Belebtschlamms. Sowohl bei unterschiedlich hohen Organikgehalten als auch unterschiedlicher Ammoniumverfügbarkeit (vgl. Abb. 93 und Tab. 31) wurde das Schmerzmittel in den Ansätzen mit Belebtschlamm vollständig eliminiert. Ein rein co-metabolischer Abbauprozess durch Nitrifzierer kann somit ausgeschlossen werden.

Die meisten der hier untersuchten Steroide und Alkylphenole konnten sowohl in Belebtschlamm als auch im Konsortium mit Nitrifizierern vollständig eliminiert werden, was für einen produktiven Abbauweg spricht. Auch aus den früheren Belebtschlammversuchen ergab sich eine vollständige Elimination für diese Schadstoffgruppe (vgl. Tab. 29). 4-tert.-Octylphenol zeigte allerdings keinen Abbau ohne Ammonium als Substrat, obwohl es vollständig im Ansatz mit Belebtschlamm, der ebenfalls kein Substrat enthielt, eliminiert wurde. Auch 17-α-Ethinylestradiol erwies sich als persistent und konnte lediglich in den Ansätzen mit Belebtschlamm, bzw. Nitrifzieren, teilweise eliminiert werden. In den Ansätzen mit Methanotrophen wurden die natürlichen Hormone Estriol und 17-ß-Estradiol vollständig eliminiert. In den Ansätzen ohne Methan wurden außerdem das Alkylphenol BPA und Estron eliminiert. Ternes et al. (1999) beschrieben bereits die Umwandlung von 17-ß-Estradiol zu Estron als einen Teilschritt beim Abbau dieses Hormons. Die Ergebnisse aus diesen Versuchen deuten auf einen produktiven Abbau des Metaboliten Estron hin, der unter co-metabolischen Bedingungen gehemmt ist, wobei die Umwandlung von 17-ß-Estradiol ebenfalls produktiv abläuft, jedoch nicht in Konkurrenz zum Methanumsatz steht. Ein vollständiger Abbau von 17-ß-Estradiol durch Methanotrophe scheint demnach nur unter produktiven Bedingungen und Ausschluss von Methan möglich. Gleiches deutet auch die komplette Elimination von BPA ohne Methan an. Da kein Abbau unter methanotrophen Bedingungen stattfand, ergibt sich auch für das Alkylphenol die Möglichkeit eines produktiven Abbaus durch Methanotrophe.

6.5.5. Zusammenfassung der Mikrokosmenversuche

Die Ergebnisse zum Abbauverhalten von Diclofenac, Naproxen und Bezafibrat deuten sowohl in den Batch-Experimenten mit Belebtschlamm und einem Mix aus Schadstoffen wie auch in den Säulenversuchen auf einen positiven Zusammenhang zwischen Konzentrationsabnahme und biologischer Aktivität hin. Einzelansätze mit Diclofenac, sowie Einzelansätze mit Bisphenol A und Carbamazepin, welches sich bis dato als persistent erwiesen hatte, deuteten weiterhin einen Zusammenhang zwischen dem Umsatz von Ammonium durch Nitrifzierer und dem Konzentrationsrückgang der Schadstoffe an. Weitere Mikrokosmenversuchen sollen helfen diesen Zusammenhang zu bestätigen und die Beteiligung verschiedener Orga-

nismengruppen (Ammoniumoxidierer, Nitritoxidierer, Heterotrophe) am Abbauprozess einzuordnen.

Im Mix mit anderen Schadstoffen zeigten die Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure und Iopromide unter methanotrophen Bedingungen einen deutlichen Konzentrationsrückgang, während 17-ß-Estradiol nur unter produktiven Bedingungen vollständig von methanotrophen Organismen eliminiert wurde. Für die Röntgenkontrastmittel ergeben sich aus den hier dargestellten Ergebnissen neue Erkenntnisse bezüglich ihrer Persistenz in der Umwelt. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass unter bestimmten Vorraussetzungen einige Vertreter dieser Stoffgruppe zumindest teilweise eliminiert werden können.

6.6. Capacity Building

Im November 2008 fand die Schulung eines Kollegen aus dem Jordantal statt. Eng. Abd Al-razaq Aburahma von der Birzeit University (West Bank) kam für zwei Wochen an das TZW, um sich mit den entwickelten Methoden zum PCR-Nachweis von Viren und den Versuchseinrichtungen vertraut zu machen. Dabei wurden ihm die theoretischen Grundlagen der Molekularbiologie erläutert und er erlernte die Anreicherungsmethodik für Bakterien und Viren aus verschiedenartigen Wasserproben. Darüberhinaus bekam er die Extraktion von RNA und DNA gezeigt, die cDNA Synthese und den qualitativen, wie auch quantitativen Nachweis von Viren über die PCR-Methode (polymerase-chain-reaction). Über die Installation einer Membran am Pilotteststand in Eggenstein-Leopoldshafen bekam Herr Aburahma außerdem Einblick in die Prinzipien der Membranbehandlung von Abwasser.

Auf Grund der Stabilitätsversuche durch Frau Zawadsky (siehe 6.2.7) und der guten Zusammenarbeit mit Herrn Aburahma wird es zukünftig die Möglichkeit geben, bereits vor Ort (Palästina) aufkonzentrierte Proben nach Deutschland zu verschicken, um sie am TZW analysieren zu lassen.

Des Weiteren fand im Dezember 2009 eine Schulung auf dem Gelände der Firma Huber zum Betrieb der gemeinsam entwickelten Containerpilotanlage statt. Eingewiesen wurden Frau Natalie Schmidt, die den Abbau von Pharmaka und die Elimination von pathogenen Mikroorganismen innerhalb ihrer Doktorarbeit an der Pilotanlage untersuchen wird, sowie Herr Eyad Zraiquat von der Al-Balqa Universität in Jordanien, dem die Betreuung der Anlage bei Inbetriebnahme vor Ort auf dem Testfeld Fuheis obliegt.

Schließlich wurden der Projektverlauf und die Ergebnisse den anderen Projektteilnehmern regelmäßig während der mehrmals im Jahr stattfindenden Meetings des übergeordneten Verbundprojektes SMART in Form von Vorträgen und Postern vorgestellt.

6.7. Abschließende Betrachtungen und weitere Vorgehensweise

Die Probenahmekampagnen zu organischen Spurenstoffen in der Modellregion Jordantal ergaben ein ähnliches Bild wie Untersuchungen in den USA und Europa. Pharmazeutische Rückstände (z.B. Analgetica, Betablocker, Lipidsenker), sowie Trialkylphosphate, Steroidhormone und die für ihre hormonelle Wirkung bekannten Alkylphenole wurden alle in ähnlichen Konzentrationen in Abwasser-, Oberflächen- und teilweise Grundwasserproben gefunden. Hingegen wurden z.B. kaum Antibiotika und keine Pflanzenschutzmittel nachgewiesen. Das sich daraus ergebende Stoffspektrum bestimmte die folgenden Laborversuche zur Elimination dieser Substanzen im Membranfiltrationsverfahren und während der Bodenpassage. Außerdem wurden Mikrokosmenversuche mit Stoffgemischen und Einzelsubstanzen durchgeführt um unter gut konrollierbaren Bedingungen ein Prozessverständnis für den Abbau verschiedener Substanzen zu erhalten. Des Weiteren zeigten molekularbiologische Analysen dass einige Grund- und Oberflächenwasser im Untersuchungsgebiet mit Viren belastet waren. Daraufhin sind auch Untersuchungen zum Rückhalt von Viren/Phagen durchgeführt worden.

Aus den Mikrokosmenversuchen mit Einzelsubstanzen kristallisierten sich bereits einige Stoffe als potentielle Zielsubstanzen für zukünftige Untersuchungen heraus (z.B. Diclofenac, Bisphenol A, Carbamazepin), da sie unter bestimmten Vorraussetzungen ein gutes Abbauverhalten zeigen, bzw. eine Steigerung des Abbaus durch die Optimierung der Versuchsbedingungen möglich erscheint. Die Ergebnisse aus den Mikrokosmenversuchen werden in der 2. Projektphase zunehmend Anwendung für die Einstellung der Betriebsbedingungen für die Säulenversuche finden. Diese haben zunächst eine gute Elimination für viele der untersuchten Spurenstoffe gezeigt. Allerdings fand z.B. bei dem Antiepileptikum Carbamazepin kein Konzentrationsrückgang während der Bodenpassage statt. Die Anregung nitrifizierender Bedingungen, unter denen sich im Mikrokosmenversuch ein Rückgang von Carbamazepin andeutete, erscheint erfolgversprechend. Zusätzlich zu den Säulenversuchen werden auch Versuche speziell zum Transportverhalten einzelner Substanzen in Versickerungswannen durchgeführt, um das Verständnis für abiotische und biotische Eliminationsprozesse auch unter verschiedenen äußeren Temperaturbedingungen (Klimakammer) zu erweitern.

Für die Elimination der MS2-Phagen, als Modellorganismus für humanpathogene Viren, konnte in der 20℃ Säule ein hoher Rückhalt erzielt werden. Da die Bodentemperaturen im Jordantal weitaus höher liegen als in Mitteleuropa, erscheint die Elimination von Viren über die Bodenpassage als aussichtsreich. Eine vorangestellte Reinigung durch Membranfiltration würde sich zusätzlich als positiv erweisen.

Eine Kombination aus biologischer Reinigung, Membranfiltration und anschließender Bodenpassage, wird als nächster Schritt insgesamt zu einer verbesserten Eliminationsleistung führen. Auch der Einsatz von Pulveraktivkohle hat bereits gezeigt, dass auch die Röntgenkontrastmittel in erhöhtem Maße eliminiert werden. Für Carbamazepin wurde eine vollständige Elimination erreicht. Um die Kombination beider Verfahren durchzuführen, wurde nach Abstimmung unter den Projektpartnern und Einigung auf einen Standort im Untersuchungsgebiet (vgl. 6.3.5) eine MBR-Containeranlage auf der Kläranlage (KA) Berching durch Fa. Huber in Betrieb genommen. Eine Schulung der Projektpartner fand bereits im Dezember 2009

statt, sodass nun erste Untersuchungen zum Betrieb der Anlage mit Aktivkohle und/oder anschließender Bodenpassage in dafür vorgesehenen Säulen anstehen. Da das Steuerzentrum des Containers auch mit Datenfernübertragung ausgestattet ist, werden im Herbst 2010, mit der Aufstellung der Anlage auf der KA Eggenstein-Leopoldshafen bei Karlsruhe, erste externe Untersuchungen stattfinden.

Die Erfahrungen aus dem Containerbetrieb dienen schließlich der Entwicklung eines Konzepts für die Grundwasseranreicherung vor Ort. Es wird deshalb ein wesentlicher Gesichtspunkt der 2. Projektphase sein, die Prozesse während der Bodenpassage (eventuell erhöhte Nitrifikation, Organikgehalt bei co-metabolischem Abbau) zu optimieren um so die höchst mögliche Reinigungsleistung für organische Spurenstoffe zu erreichen.

7. Referenzen

Abbaszadegan, M., Huber, M.S., Gerba, C.P., Pepper, I.L. (1993): Detection of enteroviruses in groundwater with the polymerase chain reaction. Applied and Environmental Microbiology 59 (5): 1318-1324.

Araujo, R.M., Puig, A., Lasobras, J., Lucena, F., Jofre, J. (1997): Phages of enteric bacteria in fresh water with different levels of faecal pollution. Journal Applied Microbiology 82: 281-286.

Arp, D.J., Yeager, C.M., Hyman, M.R. (2001): Molecular and cellular fundamentals of aerobic cometabolism of trichloroethylene. Biodegradation 12: 81-103.

Arp, D.J., Sayavedra-Soto, L.A., Hommes, N.G. (2002): Molecular biology and biochemistry of ammonia oxidation by Nitrosomonas europaea. Archives of Microbiology 178: 250-255.

Asano, T. & Cotruvo,J.A. (2004): Groundwater recharge with reclaimed municipal wastewater: health and regulatory considerations. Water Research 38, 1941-1951.

Bataineh, M., Nolte, J, Kuhlmann, B., Zullei-Seibert, N., Borges, M., Grote, M., (2006): Degradation behavior of selected pharmaceuticals and their main metabolites in model systems for slow sand filtration. Current Pharmaceutical Analysis, 2/3, 313-322.

Block, J. C. & Schwartzbrod, L. (1989): Detection and Identification of Viruses in Water Systems. New York, VCH Publishers Incorporated.

Block, S. S. (2001): Disinfection, sterilization, and preservation, Fifth edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA

Bosch, A. (1998): Human enteric viruses in the water environment: a minireview. International Microbiology 1: 191-196.

Botzenhart, K. (2000): Viren als Erreger wasserbedingter Infektionen. Vortrag gehalten an der 32. Arbeitstagung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittelhygiene, Zürich, 18. November 1999. Mitt. Lebensm. Hyg. 91: 26-43.

Botzenhart, K. (2003): Viren im Trinkwasser. In: Umweltvirologie. Walter, R. (Hrsg.). S. 57-84.

Botzenhart, K. (2007): Viren im Trinkwasser. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 3: 296-301.

Brackmann, B. (2006): Elimination von Viren aus Oberflächenwasser bei der Sandpassage. Umweltmedizinischer Informationsdienst 1: 13-15.

Bullard, D.R. & Bowater, R.P. (2006): Direct comparision of nick-joining activity of the nucleic acid ligases from bacteriophage T4. Biochemical Journal 398: 135-144.

Bulmer, M. (1989): Codon usage and secondary structure of MS2-phage RNA. Nucleic Acid Research 17 (5): 1839 - 1843.

Butot, S., Putallaz, T., Croquet, C., Lamothe, G., Meyer, R., Joosten, H., Sánchez, G. (2007): Attachment of enteric viruses to bottles. Applied and Environmental Microbiology 73 (16): 5104-5110.

Chibani-Chennoufi, S., Bruttin, A., Dillmann, M.-L., Brüssow, H. (2004): Phage-Host Interaction: an Ecological Perspective. Journal of Bacteriology 186 (12): 3677-3686.

Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N. (2004): Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. Water Research 38: 947-954.

Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., Kroiss, H. (2005a): Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a

membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. Water Research 39 (19): 4797-4807.

Clara, M., Kreuzinger, N., Strenn, B., Gans, O., Kroiss, H. (2005b): The solids retention time - a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. Water Research 39: 97-106.

Close, M.E. (1993): Assessment of pesticide contamination of groundwater in New Zealand. II. Results of groundwater sampling. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 27, 267-273.

Close, M.E., Rosen, M.R. (2001): 1998/99 national survey of pesticides in groundwater using GCMS and ELISA. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 35, 205-219.

Contreras-Coll, N., Lucena, F., Mooijman, K., Havelaar, A., Pierzo, V., Boque, M., Gawler, A., Höller, C., Lambiri, M., Mirolo, G., Moreno, B., Niemi, M., Sommer, R., Valentin, B., Wiedenmann, A., Young, V. and Jofre, J. (2002): Occurrence and levels of indicator bacteriophages in bathing waters throughout Europe. Water Research 36: 4963-4974.

Czajka, C.P., Londry, K.L. (2006): Anaerobic biotransformation of estrogens. The Science of the Total Environment 367: 932–941

Debska, J., Kot-Wasik, A., Namiesnik, J. (2004): Fate and analysis of pharmaceutical residues in the aquatic environment. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 34/1, 51-67.

Decker, C. (2009): Weitergehende Spurenstoffelimination durch Verfahrenskombination von Membranbioreaktor und Aktivkohleadsorption bei der kommunalen Abwasserreinigung. Diplomarbeit Hochschule Karlsruhe – Technik und Wirtschaft.

Dillon, P., Pavelic, P.,Toze, S., Rinck-Pfeiffer, S., Martin, R., Knapton, A., Pidsley, D. (2006): Role of aquifer storage in water reuse. Desalination, 188/1-3, 123-134.

Domagalski, J. L., Dubrovsky, N.M. (1992): Pesticide-residues in ground water of the San-Joaquin Valley, California. Journal of Hydrology, 130, 299-338.

Draft Guidelines for Drinking-water Quality Management for New Zealand (2005): 2nd Edition, Chapter 7: Virological compliance. Ministry of Health, Wellington, New Zealand.

Dreier, J., Störmer, M., Kleesiek, K. (2005): Use of bacteriophage MS2 as an internal control in viral reverse transcription-PCR assays. Journal of Clinical Microbiology 43: 4551-4557.

Drewes, J.E, Fox, P., Jekel, M. (2001): Occurrence of iodinated x-ray contrast media in domestic effluents and their fate during indirect potable reuse. Journal of Environmental Sciences and Health A36 (9): 1633-1645.

Drewes, J.E., Heberer, T., Reddersen, K. (2002): Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse. Water Science and Technology, 46/3, 73-80.

Duran, A.E., Muniesa, M., Mendez, X., Valero, F., Lucena, F. and Jofre, J. (2002): Removal and inactivation of indicator bacteriophages in fresh waters. Journal Applied Microbiology 92: 338-347.

EEA (2007): Climate change and water adaption issues. Technical report No 2/2007. European Environment Agency, Copenhagen.

EPHC (Environment Protection and Heritage Council, Australia) (2008): Australian guidelines for water recycling: augmentation of drinking water supplies. ISBN 192117319 X.

Europäische Union (2006): Richtlinie 2006/118/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 12. Dezember 2006 zum Schutz des Grundwassers vor Verschmutzung und Verschlechterung

Ferrari, B., Paxéus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., Garric, J. (2003): Ecotoxidological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. Ecotoxicology and Environmental Safety 55: 359-370.

Fleischer, J. (1997): Untersuchungen zur Belastung von Rohwässern mit enteropathogenen Viren und deren Verhalten bei der Trinkwasseraufbereitung. Abschlussbericht zum DVGW-Projekt 11/97, 83 Seiten.

Fleischer, J. und Hambsch, B. (2007): Enteropathogene Viren in Rohwässern (Oberflächenwässern) und in der Wasseraufbereitung. energie | wasser-praxis, 4: 34-40.

Fong, T.-T. & Lipp, E.K. (2005): Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools. Applied and Environmental Microbiology 69(2): 357-371.

Genthe, B., Idema, G.K., Kfir, R., Grabow, W.O.K. (1991): Detection of rotavirus in South African waters: A comparison of a cytoimmunolabelling technique with commercially available immunoassays. Water Science and Technology, 24: 241-244.

González, S., Müller, J., Petrovic, M., Barceló, D., Knepper, T.P. (2006): Biodegradation studies of selected priority acidic pesticides and diclofenac in different bioreactors. Environmental Pollution 144: 926-932.

Gordon, C. & Toze, S. (2003): Influence of groundwater characteristics on the survival of enteric viruses. J. Appl. Microbiol. 95:536–544.

Grabow, W. O. K. (2001): Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. Water SA 27(2): 251-268.

Greskowiak, J., Prommer, H., Masmann, G., Nützmann, G. (2006): Modeling seasonal redox dynamics and the corresponding fate of the pharmaceutical residue phenazone during artificial recharge of groundwater. Environmental Science and Technology 40: 6615-6621.

Gröning, J., Held, C., Garten, C., Claußnitzer, U., Kaschabek, S.R., Schlömann, M. (2007): Transformation of diclofenac by the ingigenous microflora of river sediments and identification of a major intermediate. Chemosphere 69: 509-516.

Haiß, A. & Kümmerer, K. (2006) Biodegradability of the x-ray contrast compound diatrizoic acid, identification of aerobic degradation products and effects against sewage sludge micro-organisms. Chemosphere 62: 294-302.

Hanson, R.S. & Hanson, T.E. (1996): Methanotrophic bacteria. Microbiological Reviews 60 (2): 439-471.

Haramoto, E., Katayama, H., Oguma, K., Ohgaki, S. (2005): Application of cation-coated filter method to detection noroviruses, enteroviruses, adenoviruses and torque teno viruses in the Tamagawa river in Japan. Applied Environmantal Microbiology 71 (5): 2403-2411.

Havelaar, A. H., Furuse, K., Hageboom, W.M. (1986): Bacteriophages and indicator bacteria in human and animal faeces. Journal Applied Bacteriology 60: 252-262.

Heberer, T., Reddersen, K., Mechlinski, A. (2002): From municipal sewage to drinking water: fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas. Water Science and Technology, 46/3, 81-88.

Heistad, A., Scott, T., Skaarer, A.M., Seidu, R., Hanssen, J.F., Stenström, T.A. (2009): Virus removal by unsaturated wastewater filtration: effects of biofilm accumulation and hydrophobicity. Water Science and Technology 60 (2): 399-407.

Hirano, M., Ishibashi, N., Matsumura, Y., Nagao, N., Watanabe, N., Watanabe, A., Onikura, K., Kishi, K., Arizono, K. (2004): Acute toxicity responses of two crustaceans, *Americamysis bahia* and *Daphnia magna*, to endocrine disrupters. Journal of Health Sciences 50: 97-100.

Hölting, B. (1996): Hydrogeologie. 5. Aufl.: 231-32, Enke: Stuttgart.

Hurst, C.J. (1989): Fate of viruses during wastewater sludge treatment processes. CRC Critical Review in Environmental Control 18: 317-343.

Ivanov, V., Jun-Wei Lim, J., Stabnikova, O., Yew-Hoong Gin, K. (2010): Biodegradation of estrogens by facultative anaerobic iron-reducing bacteria. Process Biochemistry 45: 284-287.

Jofre, J., Bosch, A., Lucena, F., Girones, R., Tartera, C. (1986): Evaluation of Bacteroides fragilis bacteriophages as indicators of the viraological quality of water. Water Science Technology 18: 167-173.

Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C.S., Ternes, T.A., Thomsen, A., Siegrist, H. (2006): Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme. Water Research 40: 1686-1696.

Jucker, B.A., Harms, H., Hug, S.J. and Zehnder, A.B. (1997): Adsorption of bacterial surface polysaccharides on mineral oxides is mediated by hydrogen bonds. Colloids and Surfaces B. 9: 331-343.

Katayama, H., Shimasaki, A., Ohgaki, S. (2002): Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from costal seawater. Applied and Environmental Microbiology 68 (3): 1033-1039.

Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y. (2007): Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors. Environmental Science and Technology 41: 3708-3714.

Kipopoulou, A.M., Zouboulis, A., Samara, C., Kouimtzis, T. (2004): The fate of lindane in the conventional activated sludge treatment process. Chemosphere, 55, 81-91.

Klopp, R., (1999): Kommunales Abwasser und seine Behandlung. Frimmel, F.H. (Hrsg.), Wasser und Gewässer (1999). Spektrum Akad. Verl., Berlin Heidelberg. ISBN 3-8274-0177-1

Kocwa-Haluch, R. (2001): Waterborne enteroviruses as a hazard for human health. Polish J. Environmental Studies, 10: 485-487.

Kolpin, D.W., Barbash, J.E., Gilliom, R.J. (1998): Occurrence of pesticides in shallow groundwater of the United States: Initial results from the National Water-Quality Assessment Program. Environmental Science & Technology, 32, 558-566.

Koopmans, M., Duizer, E. (2004): Foodborne viruses: an emerging problem. International Journal of Food Microbiology 90: 23-41.

Kopecka, H., Dubrou, S., Prevot, J., Marechal, J., López-Pila, J.M. (1993): Detection of naturally occurring enteroviruses in waters by reverse transcription, polymerase chain reaction, and hybridization. Applied and Environmental Microbiology 71 (5): 2403-2411.

Kreißel, K. (2008): Untersuchungen zu den Einsatzmöglichkeiten von zwei verschiedenen Membranen zur Abwasserbehandlung mittels Membranbioreaktor unter Berücksichtigung der Entfernung ausgewählter Spurenstoffe. Diplomarbeit, University of Karlsruhe.

Krueger, S., Kuzmanovic, D.A., Elashvili, I., Wick, C., O`Connell, C. (2003): Bacteriophage MS2: molecular weight and spatial distribution of the protein and RNA components by small-angle neutron scattering and virus counting. Structure 11: 1339 - 1348.

Kwak, H.I., Bae, M.O., Lee, M.H., Lee, Y.S., Lee, B.J., Kang, K.S., Chae, C.H., Sung, H.J., Shin, J.S., Kim, J.H., Mar, W.C., Sheen, Y.Y., Cho, M.H. (2001): Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). Environmental Toxicology and Chemistry 20:787-795.

Lai, K.M., Johnson, K.L., Scrimshaw, M.D., Lester, D.J.N. (2000): Binding of Waterborne Steroid Estrogens to Solid Phases in River and Estuarine Systems. Environmental Science and Technology 34: 3890-3894.

Le-Clech, P., Jefferson, B., Judd, S.J. (2003): Impact of aeration, solids concentration and membrane characteristics on the hydraulic performance of membrane bioreactor. Journal of Membrane Science 218: 117-129.

Leclerc, H., Edberg, S., Pierzo, V., Delattre, J.M. (2000): Bacteriophages as indicators of enteric viruses and public health risk in groundwaters. A review. Journal of Applied Microbiology 88: 5-21.

Lee S.H., Kim S.J. (2002): Detection of infectious enteroviruses and adenoviruses in tap water in urban areas in Korea. Water Research 36(1): 248-256.

Legrand, M.F., Costentin, E., Bruchet, A. (1991): Occurrence of 38 pesticides in various French surface and ground waters. Environmental Technology, 12, 985-996.

Leisinger, M., Metzler, A. (1997): Use of silicea as a carrier to recover and prepare water-borne enteritic viruses for detection by RT-PCR. Zentralblatt Hygiene 200: 283-296.

Lewis, G. D. (2005): Chapter 7. Virological Compliance. New Zealand Drinking Water Standards. Wellington.

Lewis, G.D., Austin, F.J., Loutit, M.W., Sharples, K. (1986): Enterovirus removal from sewage – the effectiveness of four different treatment plants. Water research 20: 1291-1297.

Lipp, P. (2004): Behandlung mikrobiell belasteter Wässer – Membranfiltration. In: Qualitätssicherung in der Wasseraufbereitung. Band 25, Hrsg. DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), ISSN 1434-5765.

Lipp, P., Hetzer, B., Wagner, T., Köster, R., Königer, F., Schuhmann, R., Müller, U., Baldauf, G. (2009): Charakterisierung des Foulingpotenzials von Rohwasser und Maßnahmen zur gezielten Minimierung des Foulings bei der Trinkwassergewinnung mittels Niederdruck-Membranfiltration (FOULMEM). Abschlussbericht des durch BMBF (02WT0644 und 02WT0645) und DVGW (W 4/02/05) geförderten Vorhabens.

Lodder, W.J., Vinjé, J., van der Heide, R., de Roda Husman, A.M., Leenen, E.J.T.M. and Koopmans, M.P.G. (1999): Molecular detection of norwalk-like caliciviruses in sewage. Applied Environmental Microbiology 65: 5624–5627.

Lodder, W.J., de Roda Husman, A.M. (2005): Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in the Netherlands**.** Applied and Environmental Microbiology 71 (3): 1453-1461.

Lucena, F., Mendez, X., Moron, A., Calderon, E., Campos, C., Guerrero, A., Cardenas, M., Gantzer, C., Schwartzbrod, L., Skraber, S. and Jofre, J. (2003): Occurrence and densities of bacteriophages proposed as indicators and bacterial indicators in river waters from Europe and South America. Journal Applied Microbiology 94: 808-815.

Lukasik, J., Scott, T.M., Andryshak, D., Farrah, S.R. (2000): Influence of salts on virus adsorption to microporous filters. Applied and Environmental Microbiology 66 (7): 2914-2920.

Marklund, A., Andersson, B., Haglund, P. (2005): Organophosphorus flame retardants and plasticizers in Swedish sewage treatment plants. Environmental Science & Technology, 39/19, 7423-7429.

Metzger, J.W., Möhle E. (2001): Flammschutzmittel in Oberflächengewässern, Grundwässern und Abwässern – Eintragspfade und Gehalte. Forschungsbericht, Förderkennzeichen BWB 99012, FZKA-BWPLUS.

Mitchell, R. & Gu, J.-D. (2009): Environmental Microbiology, Second edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

Morinigo, M. A., Wheeler, D., Berry, C., Jones, C., Munoz, M.A., Cornax, R., Borrego, J.J. (1992): Evaluation of different bacteriophage groups as faecal indicators in contaminated natural waters in southern England. Water Res. 26: 267-271.

Muiain-Mujika, I., Girones, R., Tofiño-Quesada, G., Calvo, M., Lucena, F. (2002): Depuration dynamics of viruses in shellfish. International Journal of Food Microbiology 77: 125-133.

Murrel, J.C., Gilbert, B., McDonald, I.R. (2000): Molecular biology and regulation of methane monooxygenase. Archieves of Microbiology 173: 325-332.

O´Connell, K.P., Bucher, J.R., Anderson, P.E., Cao, C.J., Khan, A.S., Gostomski, M.V., Valdes, J.J. (2006): Real-time fluorogenic reverse transcription-PCR assays for detection of bacteriophage MS2. Applied and Environmental Microbiology 72 (1): 478-483.

Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Bachmann, J., Oetken, M., Lutz, I., Kloas, W., Ternes, A.T. (2006): Bisphenol A induces Superfeminization in the Ramshorn Snail *Marisa cornuarietis* (Gastropoda: Prosobranchia) at environmentally relevant concentrations. Environmental Health Perspectives 114 (1): 127 – 133.

Owen, S.F., Giltrow, E., Huggett, D.B., Hutchinson, T.H., Saye, J., Winter, M.J., Sumpter, J.P. (2007): Comparative physiology, pharmacology and toxicology of β-blockers: Mammals versus fish. Aquatic Toxicology 82: 145–162.

Parashar, U. D., Bresee, J. S., Gentsch, J. R. and Glass, R. I. (1998): Rotavirus. Emerging Infectious Diseases, 4(4): 561-570.

Pina, S., Puig, M., Lucena, F., Jofre, J., Girones, R. (1998): Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. Applied and Environmental Microbiology, 64 (9): 3376-3382.

Pöschko, A. (2008): Long-term effects of treated/blende wastewater used for irrigation in agriculture on groundwater and soils in the Jordan Valley area, Jordan. Diplomarbeit, Universität Karlsruhe.

Postle, J.K., Rheineck, B.D., Allen, P.E., Baldock, J.O., Cook, C.J., Zogbaum, R., Vandenbrook, J.P. (2004): Chloroacetanilide herbicide metabolites in Wisconsin groundwater: 2001 survey results. Environmental Science & Technology, 38, 5339-5343.

Puig, M., Jofre, J., Lucena, F., Allard, A., Wadell, G., Girones, R. (1994): Detection of adenoviruses and enteroviruses in polluted waters by nested PCR amplification. Applied and Environmental Microbiology 60 (8): 2963-2970.

Quintana, J.B., Weiss, S., Reemtsma, T. (2005): Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. Water Research 39: 2654-2664.

Radjenovic, J., Petrovic, M., Barcelo, D. (2007): Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 387/4, 1365-1377.

Raldúa, D., André, M., and Babin, P.J. (2008): Clofibrate and gemfibrozil induce an embryonic malabsorption syndrome in zebrafish. Toxicology and Applied Pharmacology 228: 301-314.

Reim, P. (Ed., 1999): Roche molecular biochemicals Lab FAQS – find a quick solution. Roche, Mannheim, ISBN 3-88630-245-8.

Robert-Koch-Institut, Statistisches Bundesamt (2005): Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Gesundheit in Deutschland. Robert-Koch-Institut, Berlin.

Roh, H., Subramanya, N., Zhao, F., Yu, C-P., Sandt, J., Chu, K.-H. (2009): Biodegradation potential of wastewater micropollutants by ammonia-oxidizing bacteria. Chemosphere 77: 1084-1089.

Rosenberger, S., Laabs, C., Lesjean, B., Gnirss, R., Amy, G., Jekel, M.M., Schrotter, J.-C. (2006): Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. Water Research 40: 710-720.

Sacher, F., Lange, F.Th., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I. (2001): Pharmaceuticals in Groundwaters – Analytical Methods and Results of a Monitoring Program in Baden-Württemberg, Germany. Journal of Chromatography A, 938/1-2, 199-210.

Sarmah, A.K. & Northcott, G.L. (2008): Laboratory degradation studies of four endocrine disruptors in two environmental media. Environmental Toxicology and Chemistry 27: 819-827.

Scheytt, T.J., Mersmann, P., Heberer, T. (2006): Mobility of pharmaceuticals carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, and propyphenazone in miscible-displacement experiments. Journal of Contaminant Hydrology 83: 53-69.

Scheytt, T.J., Mersmann, P., Rejman-Rasinski, E., These, A. (2007): Tracing pharmaceuticals in the unsaturated zone. Journal of Soils and Sediments 7 (2): 75-84.

Schijven, J. F. & Hassanizadeh, S. M. (2000): Removal of Viruses by Soil Passage: Overview of Modeling, Processes, and Parameters. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 30 (1): 49-127.

Schulz, M. Löffler, D., Wagner, M., Ternes, A.T. (2008): Transformation of the X-ray contrast medium Iopromide in soil and biological wastewater treatment. Environmental Science and Technology 42: 7207–7217.

Skraber, S., Gantzer, C., Maul, A. and Schwartzbrod, L. (2002): Fates of bacteriophages and bacterial indicators in the Moselle river (France). Water Research 36: 3629-3637.

Smook, T.M., Zho, H., Zytner, R.G. (2008): Removal of ibuprofen from wastewater: comparing biodegradation in conventional, membrane bioreactor, and biological nutrient removal treatment systems. Water Science & Technology 57 (1): 1-8.

Sobsey, M. D., Hall, R. M., Hazard, R. L. (1995): Comparative reductions of hepatitis A virus, enteroviruses and coliphage MS2 in miniature soil columns. Water Science and Technology, 31:203–209.

Spliid, N. H., Koppen, B. (1998): Occurrence of pesticides in Danish shallow ground water. Chemosphere, 37, 1307-1316.

Stieber, M., Harrar, C., Tiehm, A. (2007): Schutzfunktion der ungesättigten Bodenzone für die Ressource Grundwasser — Elimination von Pflanzenschutzmitteln und hygienisch relevanten Mikroorganismen unter Feldbedingungen und Testsysteme zur Prognose —. In "TZW-Schriftenreihe Band 31: Pflanzenschutzmittel in Böden, Grund- und Oberflächenwasser - Vorkommen, Abbau und Zulassung“, ISSN 1434-5765.

Stumpe, B. & Marschner, B. (2009): Factors controlling the biodegradation of 17b-estradiol, estrone and 17a-ethinylestradiol in different natural soils. Chemosphere 74: 556–562.

Suarez, S., Lema, J.M., Omil, F. (2010): Removal of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) under nitrifying and denitrifying conditions. Water Research 44: 3214-3224.

Tani, N., Dohi, Y., Kurumatani, N., und Yonemasu, K. (1995): Seasonal Distribution of Adenoviruses, Enteroviruses and Reoviruses in Urban River Water. Microbiology and Immunology, 39 (8): 577-580

Technologiezentrum Wasser & Hans HUBER SE (2006): IWRM, Israel (ISR), Jordanien (JOR), Palästina (PLA): Entwicklung innovativer Verfahren zur Behandlung von Abwasser mit Membranbioreaktoren und Anforderungen zur Grundwasseranreicherung im Jordantal, Vorhabensbeschreibung für ein F&E-Projekt unter Föderung des BMBF.

Ternes, T. A., Kreckel, P. Mueller, J. (1999): Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants — II. Aerobic batch experiments with activated sludge. The Science of the Total Environment 225 (1-2): 91-99.

Ternes, T.A. (1998): Occurrence of drugs in german sewage treatment plants and rivers. Water Research 32 (11): 3245-3260.

Ternes, T.A., Joss, A. (2006): Human pharmaceuticals, hormones and fragrances – The challenge of micropollutants in urban water management. IWA Publishing, London, ISBN 1843390930.

Tiehm, A., Kraßnitzer, S., Kreißel, K., Zawadsky, C., Witte, M., Schell, H., Sacher, F., Lipp, P., Stieber, M. (2008): IWRM, Israel (ISR), Jordanien (JOR), Palästina (PLA): Entwicklung innovativer Verfahren zur Behandlung von Abwasser mit Membranbioreaktoren und Anforderungen zur Grundwasseranreicherung im Jordantal, Teilprojekt 1, Zwischenbericht.

Tiehm, A., Kraßnitzer, S., Kreißel, K., Zawadsky, C., Witte, M., Schell, H., Sacher, F., Lipp, P., Stieber, M. (2009): IWRM, Israel (ISR), Jordanien (JOR), Palästina (PLA): Entwicklung innovativer Verfahren zur Behandlung von Abwasser mit Membranbioreaktoren und Anforderungen zur Grundwasseranreicherung im Jordantal, Teilprojekt 1, Zwischenbericht.

Tran, N. H., Urase, T. and Kusakabe, O. (2009): The characteristics of enriched nitrifier culture in the degradation of selected pharmaceutically active compounds. Journal of Hazardous Materials 171: 1051-1057.

Tsai, Y.-L., Tran, B., Sangermano, L.R., Palmer, C.J. (1994): Detection of poliovirus, hepatitis A virus, and rotavirus from sewage and ocean water by triplex reverse transcriptase PCR. Applied and Environmental Microbiology 60 (7): 2400-2407.

U.S. Environmental Protection Agency (1992): Manual on guidelines for water reuse. EPA/625/R-92/004. Center for Environmental Reservation Information, Cincinnati, Ohio.

Umweltbundesamt (2009): Grenzwerte, Leitwerte, Orientierungswerte, Maßnahmenwerte – Definitionen und Festlegung mit Beispielen aus dem UBA. http://www.umweltdaten.de/wasser/themen/trinkwassertoxikologie/grenzwerte_leitwerte.pdf.

Urase, T. & Kikuta, T. (2005): Seperate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. Water Research 39: 1289-1300.

Van der Berg, H., Lodder, W., van der Poel, W., Vennema, H., de Road Husman, A.M. (2005): Genetic diversity of noroviruses in raw and treated sewage water. Research Microbiology 156: 532-40.

Vaughn, J. M., Chen, Y.-S., Thomas, M. Z. (1986): Inactivation of human and simian rotaviruses by chlorine. Applied and Environmental Microbiology 51(2): 391-394.

Villena, C., El-Senousy, W.M., Abad, F.X., Pintó, R.M., Bosch, A. (2003): Group A rotavirus in sewage samples from Barcelona and Cairo: emergence of unusual genotypes. Applied and Environmental Microbiology 69 (7): 3919-3923.

Vos, J.G., Dybing, E., Greim, H.A., Ladefoged, O., Lambre, C., Tarzona, J.V. Brandt, I., Vethaak, A.D. (2000): Health effects of endocrine disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. Critical Reviews on Toxicology 30: 71-133.

Walls, D., Smith, P.G., Mansell, M.G. (1996): Pesticides in groundwater in Britain. International Journal of Environmental Health Research, 6, 55-62.

Water Environment Federation (1994): Safety and health in wastewater systems. Manual of Practice SM-1. weltdaten.de/wasser/themen/trinkwassertoxikologie/grenzwerte

Webster, R., Pacey, M., Winchester, T., Johnson, P., Jezequel, S. (1998): Microbial oxidative metabolism of diclofenac: production of 4¢-hydroxydiclofenac using Epiccocum nigrum IMI354292. Applied Microbiology and Biotechnology 49: 371-376.

Wettstein, F.E., (2004): Auftreten und Verhalten von Nonylphenoxyessigsäure und weiteren Nonylphenolverbindungen in der Abwasserreinigung. Dissertation, ETH Zürich.

Wick, A., Finka, G., Joss, A., Siegrist, H., Ternes, T.A. (2009): Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. Water Research 43: 1060-1074.

Wintgens, T.¸ Gallenkernper ,M., Melin, T. (2004): Removal of endocrine disrupting compounds with membrane processes in wastewater treatment and reuse. Water Science and Technology, 50/5, 1-8

Wintgens, T., Salehi, F., Hochstrat, R., Melin, T. (2008): Emerging contaminants and treatment options in water recycling for indirect potable use. Water Science and Technology, 57/1, 99-107.

Wolf, A., Zheng, T. L., Witzel, K.-P., Jost, G. (2004): Impact of initial phage/host ratio and nutrient addition on coexistence in a phage-host system. Aquatic Microbial Ecology 35: 131-139.

Wolf, L., Pöschko, A., Zemann, M., Wertz, H., Sawarieh, A., Seder, N., Stieber, M., Sacher, F., Tiehm, A. (2009): Understanding occurrence of xenobiotics in closed river basins – examples from the Jordan Valley. In: Proceedings of International Conf. on Xenobiotics in the Urban Water Cycle, 11th – 13th March 2009, Cyprus: 6 pages.

Xu, W., McDonough, M.C., Erdman, D.D. (2000): Species-specific identification of human adenoviruses by a multiplex PCR assay. Journal of Clinical Microbiology 38 (11): 4114-4120.

Ying, G.G., Kookana, R.S. (2003): Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment. Environmental Science & Technology 37: 1256-1260.

Ying, G.G., Kookana, R.S., Dillon, P. (2003): Sorption and degradation of selected five endocrine-disrupting chemicals in aquifer material. Water Research 37: 3785–3791.

Ying, G.G., Toze, S., Hanna, J., Yu, X.Y., Dillon, P.J., Kookana, R.S. (2008): Decay of endocrine-disrupting chemicals in aerobic and anoxic groundwater. Water Research 42: 1133-1141.

You, Y., Vance, G.F., Sparks, D.L., Zhuang, J., Jin, Y. (2003): Sorption of MS2 bacteriophage to layered double hydroxides: effects of reaction time, pH, and competing anions. J. Environ. Qual. 32: 2046-2053.

Yu, Z.Q. & Huang, W.L. (2005): Competitive sorption between 17α-ethinylestradiol and naphthalene/phenanthrene by sediments. Environmental Science and Technology 39: 4878-4885.

Zwiener, C., Glauner, T., Frimmel, F.H. (2000): Biodegradation of pharmaceutical residues investigated by SPE-GC/ITD-MS and on-line derivatization. Journal of High Resolution Chromatography 23: 474-478.

8. Erfolgte/geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Publikationen

Lipp, P., Kreißel, K., Meuler, S., Bischof, F., Tiehm, A. (2009): Influencing parameters for the operation of an MBR with respect to the removal of persistent organic pollutants. Desalination and Water Treatment – Science and Engineering 6: 102-107.

Lipp, P., Tiehm, A., Meuler, S., Wittland, C. (2010): Einflussfaktoren auf die weitergehende Spurenstoffentfernung bei der Abwasserbehandlung durch Membranbioreaktoren. Wasserwirtschaft Wassertechnik wwt-SPECIAL (5): 14-18.

Tiehm, A., Schmidt, N., Stieber, M. Sacher, F., Wolf, L. Hoetzl, H. (2010): Biodegradation of pharmaceutical compounds and their occurrence in the Jordan Valley. Water Resources Management. In press, DOI 10.1007/s11269-010-9678-9.

Konferenzbeiträge

Lipp, P., Stieber, M., Meuler, S., Bischof, F., Tiehm, A. (2007): Überblicksvortrag zum Stand der Arbeiten im BMBF-Forschungsvorhaben 02WM0803. SMART, 2nd Scientific Coordination Meeting, 24.10.-28.10.2007, Amman, Jordan.

Lipp, P., Stieber, M., Meuler, S., Bischof, F., Tiehm, A. (2007): Development of innovative processes for waste water treatment by MBR with respect to the removal of persistent organic pollutants. *In*: 6th IWA Specialist Conference on Wastewater Reclamation and Reuse for Sustainability, 9-12 Oct. 2007, Antwerp (Belgium): 4 pages (Proceedings CD)

Lipp, P., Groß, H., Tiehm, A. (2010): Improved elimination of organic micropollutants by a process combination of membrane bioreactor (MBR) and powdered activated carbon (PAC). Desalination and Water Treatment – Science and Engineering (submitted), presentation at MDIW 2010, Trondheim.

Lipp, P., Groß H., Paris, S., Bischof, F., Wittland, C., Tiehm, A. (2010): Comparison of MF and UF in a process combination of membrane bioreactor (MBR) and powdered activated carbon (PAC) for the removal of persistent organic pollutants. Conference on Integrated Water Resources Management (IWRM), 24.-25. November 2010, Karlsruhe (Germany): accepted for poster presentation.

Schmidt, N. (2009): Elimination of anthropogenic organic trace compounds and pathogenic microorganisms during soil passage – Ground water recharge in the Jordan valley area. SMART PhD Meeting, 30.03 – 04.04.2008, Karlsruhe, (Germany).

Schmidt, N., Zawadsky, C., Tiehm, A. (2010): Soil column studies on the removal of pharmaceutical residues and microorganisms. International Symposium on Managed Aquifer Recharge (ISMAR7), 9. – 13. October 2010, Abu Dhabi (United Arabian Emirates): 7 pages (submitted).

Schmidt, N., García-Mata, V., Tiehm, A. (2010): Batch and soil column studies on the removal of Bisphenol A, Carbamazepine and Diclofenac. Conference on Integrated Water Resources Management (IWRM), 24.-25. November 2010, Karlsruhe (Germany): accepted for poster presentation.

Tiehm, A., Stieber, M., Meuler, S., Bischof, F., Lipp, P. (2007): Überblicksvortrag zum Stand der Arbeiten im BMBF-Forschungsvorhaben 02WM0803. SMART, 1st Scientific Coordination Meeting, 28.03.-01.04.2007, Amman, Jordan.

Tiehm, A., Stieber, M., Meuler, S., Bischof, F., Lipp, P. (2008): Überblicksvortrag zum Stand der Arbeiten im BMBF-Forschungsvorhaben 02WM0803. SMART, 3rd Scientific Coordination Meeting, 24.06.-29.06.2008, Aqaba, Jordan.

Tiehm, A., Stieber, M., Schmidt, N., Meuler, S., Bischof, F., Lipp, P. (2008): Überblicksvortrag zum Stand der Arbeiten im BMBF-Forschungsvorhaben 02WM0803. SMART, 4th Scientific Coordination Meeting, 24.11-27.11.2008, Amman, Jordan.

Tiehm, A., Lipp, P., Schmidt, N., Stieber, M., Sacher, F., Meuler, S., Paris, S., Bischof, F. (2008): Elimination of emerging pollutants in membrane bioreactors (MBR) and soil-aquifer-treatment (SAT). In: Symposium Booklet Int. Symp. "Coupling sustainable sanitation & groundwater protection", 14 - 17 Oct 2008, BGR Hannover (Germany), 37.

Tiehm, A., Zawadsky, C., Stieber, M., Hambsch, B. (2008): Development of molecular biological tools to monitor virus elimination in waste water reuse. In: Symposium Booklet Int. Symp. "Coupling sustainable sanitation & groundwater protection", 14 - 17 Oct 2008, BGR Hannover (Germany), 40 – 41.

Tiehm, A., Schmidt, N., Stieber, M., Sacher, F., Wolf, L., Hoetzl, H. (2009): Occurrence and Biodegradability of Emerging Pollutants in the Jordan Valley. European Water Resources Association (EWRA), 7th International Conference, 25 - 27 June 2009, Limassol (Cyprus): 7 pages (In Conference Proceedings)

Tiehm, A., Schmidt, N., Zawadsky, C., Seder, N., Ghanem, M., Wolf, L., Hoetzl, H. (2010): Water Quality and Aquifer Recharge: Studies on Emerging Pollutants and Viruses in the Jordan Valley. Conference on Integrated Water Resources Management (IWRM), 24.-25. November 2010, Karlsruhe (Germany): accepted for oral presentation.

Wolf, L., Pöschko, A., Zemann, M., Werz, H., Sawarieh, A., Seder, N., Stieber, M., Sacher, F., Tiehm, A. (2009): Understanding occurrence of xenobiotics in closed river basins, examples from the Jordan Valley. International Conference on Xenobiotics in the Urban Water Cycle (XENOWAC), 11.-13. März 2009, Zypern.

Zawadsky, C., Stieber, M., Hambsch, B., Tiehm, A. (2007): Development of molecular biological tools to monitor virus elimination in waste water reuse. *In*: 6th IWA Specialist Conference on Wastewater Reclamation and Reuse for Sustainability, 9-12 Oct. 2007, Antwerp (Belgium): 4 pages (Proceedings CD)

Zawadsky, C. und Tiehm, A. (2009): PCR-detection of viruses in waste water and surface water of the Jordan valley. Proceedings "15th International Symposium on Health-Related Water Microbiology", 31. Mai – 5. Juni 2009, Naxos Island, Greece.

Zawadsky, C., Schmidt, N., Tiehm, A. (2010): PCR-detection of viruses in water samples of the Jordan valley and removal during soil passage. Conference on Integrated Water Resources Management (IWRM), 24.-25. November 2010, Karlsruhe (Germany): accepted for Poster presentation.

Diplomarbeiten

Decker, C. (2009): Weitergehende Spurenstoffelimination durch Verfahrenskombination von Membranbioreaktor und Aktivkohleadsorpiton bei der kommunalen Abwasserreinigung. Diplomarbeit Universität Karlsruhe.

Garcia-Mata, V. (2010): Aerobic microbial degradation of anthropogenic emerging pollutants. Internationales Hochschulinstitut Zittau.

Kreißel, K. (2008): Untersuchungen zu den Einsatzmöglichkeiten von zwei verschiedenen Membranen zur Abwasserbehandlung mittels Membranbioreaktor unter Berücksichtigung der Entfernung ausgewählter Spurenstoffe. Diplomarbeit Universität Karlsruhe.