

DWA-Themen

Anthropogene Spurenstoffe, Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen im Wasserkreislauf – Relevanz, Monitoring und Eliminierung –

Januar 2017



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



DWA-Themen

**Anthropogene Spurenstoffe, Krankheitserreger
und Antibiotikaresistenzen im Wasserkreislauf
– Relevanz, Monitoring und Eliminierung –**

Januar 2017



Die Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V. (DWA) setzt sich intensiv für die Entwicklung einer sicheren und nachhaltigen Wasser- und Abfallwirtschaft ein. Als politisch und wirtschaftlich unabhängige Organisation arbeitet sie fachlich auf den Gebieten Wasserwirtschaft, Abwasser, Abfall und Bodenschutz.

In Europa ist die DWA die mitgliederstärkste Vereinigung auf diesem Gebiet und nimmt durch ihre fachliche Kompetenz bezüglich Regelsetzung, Bildung und Information sowohl der Fachleute als auch der Öffentlichkeit eine besondere Stellung ein. Die rund 14 000 Mitglieder repräsentieren die Fachleute und Führungskräfte aus Kommunen, Hochschulen, Ingenieurbüros, Behörden und Unternehmen.

Impressum

Herausgeber und Vertrieb:

DWA Deutsche Vereinigung für
Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V.
Theodor-Heuss-Allee 17
53773 Hennef, Deutschland
Tel.: +49 2242 872-333
Fax: +49 2242 872-100
E-Mail: info@dwa.de
Internet: www.dwa.de

Satz:

DWA

Druck:

Druckhaus Köthen GmbH & Co KG

Gedruckt auf 100 % Recyclingpapier

© DWA Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V., Hennef 2017

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieser Publikation darf ohne schriftliche Genehmigung des Herausgebers in irgendeiner Form – durch Fotokopie, Digitalisierung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen werden.

Vorwort

Das im Rahmen des BMBF-Förderschwerpunktes „Nachhaltiges Wassermanagement – NaWaM“ geförderte Forschungsprojekt „Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken durch neue Schadstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf – TransRisk“ (s. TERNES & THALER 2012, THALER 2014), das im April 2015 nach einer Laufzeit von 3,5 Jahren zum Abschluss kam, lieferte die wesentliche Grundlage für diesen DWA-Themenband.

Die Qualität unserer Wasserressourcen ist in zunehmendem Maße durch die große Anzahl an Chemikalien aus Haushalt, Industrie und Landwirtschaft gefährdet. Der Nachweis von Pharmazeutika, Körperpflegemitteln und Pestiziden in gereinigtem Abwasser zeigt deutlich, dass heutige Kläranlagentechnologien unzureichend sind, um diese Stoffe aus dem Abwasser zu entfernen. TransRisk widmete sich der Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken, die von anthropogenen Spurenstoffen, deren Transformationsprodukten (TP) sowie von Krankheitserregern im Wasserkreislauf ausgehen. Ein wesentliches Ziel bestand darin, analytische Methoden zur Bestimmung ausgewählter chemischer, ökotoxikologischer und mikrobiologischer Parameter zu entwickeln und zu etablieren, die eine nachhaltige multidisziplinäre Bewertung der weitergehenden Abwasserreinigungstechniken und der aufnehmenden Gewässer erlauben. Als Modellregionen zum Monitoring von kommunalen Kläranlagen, der Fließgewässer, Grundwasser und Trinkwasser dienten das Donauried und das Hessische Ried. Zur Entfernung von anthropogenen Spurenstoffen und Krankheitserregern wurden verschiedene Verfahren und Verfahrenskombinationen kommunaler Kläranlagen erprobt. Neben dem konventionellen Belebungsverfahren mit nachgeschalteter Ozonung und anschließender Filtrationsstufe (Aktivkohle- und Biofilter) richtete sich das Augenmerk auch auf Membranbioreaktoren (MBR) in Kombination mit einer Ozonung. Schließlich mündeten die Untersuchungen in der Entwicklung eines multidisziplinären Bewertungskonzeptes für die weitergehende Abwasserreinigung. Ergänzt wurden diese Studien durch die Entwicklung eines Bildungskonzeptes für das Betriebspersonal von Abwasserbehandlungsanlagen, durch ein Schülerprojekt in der Modellregion Donauried und durch sozial-empirische Erhebungen zum Wissensstand der Bevölkerung zu der Thematik, die jedoch nicht Gegenstand dieses Themenbandes sind. Die zuletzt genannten Erhebungen mündeten in ein Zielgruppenmodell, das die Effizienz künftiger Kommunikationsmaßnahmen steigern soll (s. SUNDERER et al. 2013).

Das in TransRisk entwickelte und in den Modellregionen erprobte chemische, ökotoxikologische und mikrobiologische Monitoringkonzept kann zur Planung und zum Ausbau kommunaler Kläranlagen verwendet werden. Der Fokus lag hierbei vor allem auf der Aufklärung der Transformation von ausgewählten Arzneimitteln (z. B. Antivirenmitteln, Antiepileptika, Urikostatika) in der biologischen Abwasserbehandlung und der erweiterten Abwasserreinigung mittels Ozonung. Wie durch diese Untersuchungen gezeigt werden konnte, führt der Abbau der ausgewählten Arzneistoffe in Kontakt mit Klärschlamm lediglich zu einer Umwandlung in eine Reihe von relativ stabilen Transformationsprodukten. Diese können zwar oftmals in einer nachgeschalteten Ozonung eliminiert werden, bilden jedoch dabei in vielen Fällen neue TPs. Der Nachweis von anthropogenen Spurenstoffen, deren Transformationsprodukten, ökotoxikologischen Wirkungen sowie von Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzen erlaubt eine umfassende multidisziplinäre Charakterisierung der Wasserqualität. Die in TransRisk optimierte Verfahrenskombination „Ozonung – Filtration mit granulierter Aktivkohle“ führte zu einer weitergehenden Eliminierung der untersuchten Spurenstoffe und auch deren TPs. Es konnte gezeigt werden, dass eine alleinige Ozonung ohne Nachbehandlung und die Rückführung von ozontem Abwasser in einen MBR für die Elimination von ökotoxikologischen Effekten und die Entfernung oxidativer TPs ungeeignet sind. Auch eine Nachbehandlung des ozonten Wassers mit den Biofiltern brachte nicht den gewünschten Erfolg, da sowohl die verbliebenen anthropogenen Spurenstoffe als auch die ökotoxikologischen Effekte nicht eliminiert werden konnten.

Auf Basis der neu gewonnenen Erkenntnisse wurde ein multidisziplinäres Konzept zur Bewertung von Abwasserreinigungstechniken entwickelt. Dieses Konzept berücksichtigt neben der Elimination von Spurenstoffen auch die Bildung von TPs in den biologischen und chemischen Prozessen, eine Reihe an ökotoxikologischen Parametern wie die Zytotoxizität und die Mutagenität sowie die Reduktion der Abundanzen von Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzgenen.

Verfasser

Der Themenband wurde von den Projektpartnern des BMBF-Projektes TransRisk (s. Vorwort) erarbeitet.

Folgende Projektpartner haben an TransRisk mitgewirkt:

TERNES, Thomas	Prof. Dr. rer. nat., Koblenz (Projektkoordinator)
ABBAS, Aennes	Frankfurt
ALEXANDER, Johannes	Karlsruhe
BOLLMANN, Anna	Langenau
COORS, Anja	Dr. rer. nat., Flörsheim/Main
CORNEL, Peter	Prof. Dr.-Ing., Darmstadt
DURMAZ, Vedat	Berlin
FUNKE, Jan	Koblenz
GEIBEN, Sven	Prof. Dr.-Ing., Berlin
GÖTZ, Konrad	Dr., Frankfurt
KNOPP, Gregor	Darmstadt
LÜTKE EVERSLOH, Christian	Koblenz
KRAUß, Ulrike	Dresden
MÜCKTER, Harald	Dr. med. Dr. rer. nat., München
NIETHAMMER, Manuela	Prof. Dr., Dresden
PRASSE, Carsten	Dr. rer. nat., Berkeley, USA
SCHNEIDER, Ilona	Frankfurt
SCHWARTZ, Thomas	Prof. Dr. rer. nat., Karlsruhe
SEITZ, Wolfram	Dr., Langenau
SCHULTE-OEHLMANN, Ulrike	Dr. rer. nat., Frankfurt
OEHLMANN, Jörg	Prof. Dr. rer. nat., Frankfurt
THALER, Sabine	Hennef
SCHLÜTER-VORBERG, Lisa	Flörsheim/Main
WEBER, Marcus	Dr., Berlin
WIELAND, Arne	Herford
SZEWZYK, Ulrich	Prof. Dr. rer. nat., Berlin

Projektbetreuerin in der DWA-Bundesgeschäftsstelle:

THALER, Sabine	Hennef Stabsstelle Forschung und Innovation
----------------	--

Inhalt

Vorwort	3
Verfasser	4
Bilderverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	9
1 Einleitung	10
2 Abkürzungen, Begriffe, Taxonomische Namen, Stoffe	11
2.1 Abkürzungen.....	11
2.2 Begriffe	15
2.3 Taxonomische Namen	20
2.4 Stoffe.....	21
3 Verbreitung und Wirkung von anthropogenen Spurenstoffen, Antibiotikaresistenzen und Krankheitserregern in der aquatischen Umwelt	24
3.1 Untersuchte Regionen	24
3.1.1 Modellregion Donauried	24
3.1.2 Modellregion Hessisches Ried	27
3.2 Verbreitung von anthropogenen Spurenstoffen und toxischen Wirkpotenzialen im aquatischen Ökosystem	27
3.2.1 Chemisches Monitoring.....	27
3.2.2 Ökotoxikologisches Monitoring	29
3.3 Aufklärung des Abbauverhaltens organischer Spurenstoffe.....	30
3.3.1 Beispiel Allopurinol/Oxypurinol.....	31
3.3.2 Beispiel Carbamazepin, Oxcarbazepin und deren Humanmetaboliten	33
3.3.3 Beispiel Antivirenmittel	38
3.3.4 Beispiel Biozide	41
3.4 Nachweis von resistenten Bakterien und Krankheitserregern im Abwasser und aquatischen Ökosystem.....	42
3.4.1 Klinisches und kommunales Abwasser	43
3.4.2 Oberflächengewässer, Regenüberlaufbecken und Grundwässer	45
4 Strategien zum Monitoring von Einzugsgebieten	47
4.1 Non-Target-Screening zur Identifizierung neuer Schadstoffe	47
4.2 Durch Non-Target-Screening identifizierte umweltrelevante Arzneistoffe	49
4.3 Triphenylphosphonium-Verbindungen: neue durch Non-Target-Screening identifizierte umweltrelevante Verbindungen.....	51
4.4 Nachweis toxikologisch relevanter Spurenstoffe	54
4.4.1 In vitro-Testverfahren.....	54
4.4.2 In vivo-Testverfahren.....	55
4.5 Nachweis von mikrobiologischen Belastungen und Antibiotikaresistenzen.....	56
5 Strategien zur Risikocharakterisierung von Abwasserreinigungstechnologien	57
5.1 Verfahrenskombinationen für die zielgerichtete Entfernung von Spurenstoffen und Transformationsprodukten	57
5.1.1 Konventionelle Belebung, Ozonung und Filtration (Behandlungssystem 1)	57

5.1.2	Membranbioreaktor und Ozonung (Behandlungssystem 2)	58
5.2	Bewertung der Leistungsfähigkeit von Abwasserreinigungsverfahren zur zielgerichteten Spurenstoffelimination auf Basis chemisch-analytischer und mikrobiologischer Befunde	59
5.2.1	Leistungsfähigkeit der konventionellen Abwasserreinigung und der nachgeschalteten Ozonung	60
5.2.2	Leistungsfähigkeit der Ozonung nachgeschalteter Verfahrensstufen	61
5.2.3	Leistungsfähigkeit der in ein biologisches Abwasserreinigungssystem integrierten Ozonung	63
5.2.4	Zusammenfassende Schlussfolgerungen zur Leistungsfähigkeit zielgerichteter Verfahren der Spurenstoff- und Bakterienelimination auf Basis chemisch-analytischer und mikrobiologischer Untersuchungen	64
5.3	Toxifizierung durch Transformation in konventioneller Abwasserreinigung und zielgerichteter Spurenstoffelimination am Beispiel von Acyclovir	65
5.4	Ökotoxikologische Bewertung von Abwasserreinigungsverfahren	65
5.4.1	Ergebnisse der In vitro-Testverfahren	66
5.4.2	Ergebnisse der In vivo-Testverfahren	68
5.4.3	Schlussfolgerungen aus den In vitro- und In vivo-Testverfahren	71
5.5	Reduktion mikrobiologischer Belastung durch Verfahren der Abwasserreinigung	72
5.5.1	Untersuchungen zur Effizienz der Ozonung zur Elimination von Bakterien und Antibiotikaresistenzen	73
5.6	Bewertungsmatrix zur Beurteilung zielgerichteter Eliminationsverfahren für neue Schadstoffe und Krankheitserreger	74
5.6.1	Chemisch-ökotoxisch-mikrobiologisches Bewertungskonzept	75
5.6.2	Bewertung der von TransRisk betriebenen Pilotanlage zur weitergehenden Abwasserreinigung	80
5.6.3	Erweitertes mikrobiologisches Bewertungskonzept	85
6	In silico-Verfahren zur Abschätzung der humantoxischen Bedeutung	89
6.1	Vorhersagesysteme	89
6.1.1	Klassische Moleküldynamiksimulationen	90
6.1.2	Expertensysteme	90
6.2	Risikobewertung mit Hilfe eines automatisierten Verfahrens zur Erkundung des Transformationsobjektraumes	92
6.2.1	Beispiel Sulfamethoxazol	92
6.2.2	Beispiel Carbamazepin	94
6.2.3	Fazit aus der Anwendung von in silico-Verfahren und Ausblick	94
	Zusammenfassung	95
	Literatur	96

Bilderverzeichnis

Bild 1:	Karte der TransRisk-Modellregion Donauried.....	25
Bild 2:	Anti-östrogene Aktivitäten in den Kläranlagenabwasser-, Oberflächenwasser- und Grundwasserproben (Hotspots) der Modellregion Donauried	30
Bild 3:	Metabolismus von Allopurinol im menschlichen Körper und anschließende Ausscheidung mit Urin.....	31
Bild 4:	Massenbilanz des Abbaus von Allopurinol-9-Ribosid ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) in Batch-Versuchen mit Belebtschlamm	32
Bild 5:	Lineare Regression der Konzentrationen verschiedener Indikatorsubstanzen gegen Oxyipurinol	33
Bild 6:	Chemische Strukturen der Humanmetabolite von Carbamazepin und Oxcarbazepin....	34
Bild 7:	Biotransformationsweg von Oxcarbazepin und der Carbamazepin-Metabolite 100H-Carbamazepin und 10,11-Dihydro-dihydroxy-Carbamazepin in Klärschlamm und Sandfiltermaterial.	35
Bild 8:	Biotransformation von 2-OH-Carbamazepin und 3-OH-Carbamazepin in Kontakt mit Sandfilter.	36
Bild 9:	Abbau der Virostatika Abacavir, Emtricitabin, Ganciclovir, Lamivudin und Zidovudin in Klärschlamm bei einer Konzentration von $10 \mu\text{g/L}$	38
Bild 10:	Transformation der untersuchten Antivirenmittel ($c_0 = 10 \mu\text{g L}^{-1}$) in Laborstudien mit Belebtschlamm und Bildung der identifizierten Transformationsprodukte.....	39
Bild 11:	Konzentrationen der Antivirenmittel in den untersuchten Kläranlagen sowie den beiden Klinikabwässern in der Modellregion Donauried im Juni 2013 und Oktober 2013.....	40
Bild 12:	Eliminierung von Irgarol in Belebtschlamm der Kläranlage Koblenz.....	41
Bild 13:	Konzentrationen von Irgarol, Terbutryn und deren TPs in Kläranlagenablauf und Oberflächengewässern.....	42
Bild 14:	Zusammenfassung des mikro-/molekularbiologischen Monitorings im Untersuchungsgebiet	43
Bild 15:	Mechanismen des horizontalen Gentransfers	44
Bild 16:	Zusammensetzung einer Realprobe, z. B. Abwassermatrix.....	47
Bild 17:	Vergleich Target-/Non-Target-Analytik (RT = Retention)	48
Bild 18:	Erfassung der Anteile von eliminierten, gebildeten und unverändert vorhandenen Spurenstoffen mittels Non-Target-Screening für die erweiterte Reinigung von Abwasser mittels Ozonung bzw. Ozonung mit Aktivkohlefiltration	49
Bild 19:	Tägliche Frachten der gelösten QPV in der Wasserphase im Rhein bei Koblenz von 22. Januar 2014 bis 8. März 2015.....	53
Bild 20:	Glanzwurm <i>Lumbriculus variegatus</i>	55
Bild 21:	Großer Wasserfloh <i>Daphnia magna Straus</i>	55
Bild 22:	Kleine Wasserlinse <i>Lemna minor</i>	56
Bild 23:	Strategie für die mikrobiologische Bewertung eines aquatischen Habitats in Bezug auf Antibiotikaresistenzen und Krankheitserreger	56
Bild 24:	Behandlungssystem 1 bestehend aus a) konventioneller Belebungsanlage (50.000 EW) mit anschließender Mikrosiebung, b) Ozonung sowie c1) Aktivkohle- und c2) Biofiltration im halbtechnischen Maßstab	58
Bild 25:	Behandlungssystem 2 bestehend aus zwei parallel geschalteten Membranbioreaktoren: a) Versuchs-MBR mit angeschlossener Ozonung und Teilrückführung und b) Referenz-MBR ohne Nachbehandlung	59

Bild 26:	Konzentrationen und Eliminationsgrade ausgewählter Mikroverunreinigungen für die konventionelle Abwasserreinigung, die nachgeschaltete Ozonung und die Kombination der konventionellen Abwasserreinigung mit nachgeschalteter Ozonung.....	60
Bild 27:	Eliminierung und Bildung der Ausgangssubstanz/TP-Paare Tramadol/ Tramadol-N-Oxid (A) und Acyclovir/Carboxy-Acyclovir/COFA (B)	60
Bild 28:	Elimination der organischen Summenparameter CSB _i und DOC (A) sowie Reduktion der pathogenen Bakterien <i>Escherichia coli</i> und Enterokokken (B)	61
Bild 29:	Eliminierung ausgewählter Mikroverunreinigungen durch der Ozonung nachgeschaltete Bio- bzw. Aktivkohlefilter: A – Minderung der Konzentration, B – Elimination.....	61
Bild 30:	Elimination der gebildeten Transformationsprodukte Tramadol-N-Oxid und COFA durch nachgeschaltete Bio- bzw. Aktivkohlefilter	62
Bild 31:	Eliminierung organischer Summenparameter CSB _f und DOC sowie Reduktion der fakultativ pathogenen Bakterien <i>Escherichia coli</i> und Enterokokken durch die der Ozonung nachgeschalteten Bio- bzw. Aktivkohlefilter	62
Bild 32:	Gegenüberstellung der Konzentrationen im Zulauf und Ablauf des Referenz- und Versuchssystems sowie Elimination der Referenz- und Versuchs-MBR für ausgewählte Spurenstoffen	63
Bild 33:	Aufteilung Stoffströme für Versuchs- und Referenzsystem für Tramadol und Tramadol-N-Oxid am Tag der Probenahmekampagne	63
Bild 34:	CSB _f und DOC Konzentrationen im Zu- und Ablauf des Referenz- und Versuchssystems (A) sowie Elimination der Summenparameter CSB _f und DOC für Referenz- und Versuchs-MBR.....	64
Bild 35:	Östrogene und anti-östrogene Aktivitäten in den konventionell gereinigten und ozonten Abwasserproben der Versuchskläranlage	66
Bild 36:	Östrogene und anti-östrogene Aktivitäten in nativen 24 h-Mischproben des Abwassers der Versuchskläranlage	67
Bild 37:	Mutagenität in 10-fach angereicherten SPE-Extrakten von 24 h-Mischproben des Abwassers der Versuchskläranlage.....	68
Bild 38:	Gesamtzahl der Embryonen individueller Zwergdeckelschnecken am Ende des 28-tägigen on site-Reproduktionstests an der Versuchskläranlage.....	69
Bild 39:	Einfluss der Ozonung auf Keimzahl und Antibiotikarsistenzen	74
Bild 40:	Kleine Auswahl an abiotischen und biotischen Transformationsprodukten des Antiinfektivums Sulfamethoxazol	89
Bild 41a:	Nach strukturellen Übereinstimmungen ausgerichtete Sekundärstrukturdarstellung des Enzyms DHPS aus den Bakterienarten <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Escherichia coli</i> und <i>Yersenia pestis</i>	93
Bild 41b:	Favorisierter SMZ Bindungsmodus im humanen Enzym NAT2, dargestellt durch ihre Moleküloberfläche, welche zum Zwecke der Übersichtlichkeit oberhalb des SMZ entfernt wurde	93
Bild 42:	Expertenmatrix der möglichen mutagenen oder kanzerogenen Eigenschaften von Transformationsprodukten des Carbamazepins.....	94

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Nutzung von Indikatoren zur Erfassung von anthropogenen Spurenstoffeinträgen in der Modellregion Donauried-Hürbe.....	28
Tabelle 2:	Konzentrationen von Carbamazepin, Oxcarbazepin, deren Humanmetabolite Dihydro-dihydroxy-CBZ, 10-Hydroxy-CBZ, epoxy-CBZ, 1-, 2, 3-Hydroxy-CBZ sowie ihrer Biotransformationsprodukte BaQD, 9-CA-ADIN und ADIN in ausgewählten Oberflächengewässern im Hessischen Ried	37
Tabelle 3:	Identifizierte Arzneistoffe.....	50
Tabelle 4:	Konzentrationen von Identifizierten QPVs sowie von Carbamazepin (CBZ) in Oberflächengewässern des Rheineinzugsgebietes.....	51
Tabelle 5:	Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$; n = 1) von QPVs in Kläranlagenabläufen	52
Tabelle 6:	In vitro-Testsysteme	55
Tabelle 7:	Übersicht über die Ergebnisse der verschiedenen In vivo-Tests nach Exposition gegenüber den verschiedenen behandelten Abwasserteilströmen.....	70
Tabelle 8:	Konzentrationen von Indikatorsubstanzen und Eliminationsraten.....	81
Tabelle 9:	Gemessene Aktivitäten des behandelten Abwassers mit unterschiedlichen In-vitro Assays.....	83
Tabelle 10:	Veränderung der Abundanz ausgewählter mikrobiologischer Parameter übertragen in Bewertungspunkte.	83
Tabelle 11:	TransRisk-Pilotanlage: Durchschnittliche Entfernung \overline{Rc} von Indikatorsubstanzen.....	84
Tabelle 12:	Mikrobiologischer Bewertungsindex (MBI)	87
Tabelle 13:	Anwendung der Bewertungsmatrix auf den Zulauf des Ozonsystems	87
Tabelle 14:	Anwendung der Bewertungsmatrix auf den Ablauf der Ozonung.....	88

1 Einleitung

Eine große Bandbreite an anthropogenen Spurenstoffen (Arznei- und Pflanzenschutzmittel, Lebensmittelzusatzstoffe, Industriechemikalien) wird regelmäßig im Oberflächen-, Grund- und zum Teil auch Trinkwasser nachgewiesen (RICHARDSON & KIMURA, 2016; RICHARDSON & TERNES, 2014). Viele dieser Stoffe werden über kommunale Kläranlagen durch konventionell behandelte Abwässer in die aquatische Umwelt und den urbanen Wasserkreislauf eingetragen. Vor dem Hintergrund der aktuellen Gewässerbelastungen und der ursprünglich für 2015 und mittlerweile auf 2021 (1. Maßnahmenprogramm) bzw. 2027 (2. Maßnahmenprogramm) terminierten Forderungen der EU-Wasserrahmenrichtlinie, einen guten ökologischen Zustand von Binnen- und Küstengewässern sowie von Grundwasser zu erreichen, ist eine wirkungsvolle Entfernung von Mikroverunreinigungen durch den Einsatz von weitergehenden Abwasseraufbereitungsverfahren zumindest fallweise dringend erforderlich. Allerdings werden auch viele Spurenstoffe durch neuere Verfahren wie Ozonung und Aktivkohlefiltration nicht vollständig abgebaut oder entfernt (PRASSE et al. 2015; MARGOT et al., 2015; HUEBNER et al., 2015). So entstehen bei der Ozonung eine große Anzahl an Transformationsprodukten (werden hier auch als Ozonungsprodukte bezeichnet), deren Toxizität nicht bekannt ist (PRASSE et al. 2015; MAGDEBURG et al., 2014; STALTER et al., 2010). Zwar konnte gezeigt werden, dass die bekannten spezifischen Wirkungen der Vorläufersubstanzen in der Regel durch eine Ozonung verschwinden, aber andererseits Transformationsprodukte entstehen können, die sogar eine höhere Toxizität und auch andere Wirkmuster besitzen. Somit können derartige Verfahren einerseits die Konzentrationen der Ausgangssubstanzen in Abwässern im Vergleich zur konventionellen Abwasserreinigung effektiv reduzieren, andererseits ist jedoch nicht auszuschließen, dass sie auch eine Quelle für weitere ökotoxikologisch bedenkliche Substanzen darstellen. Im Hinblick auf die Einleitung von Kläranlagenabläufen in Gewässer stellt sich die Frage, ob sich ökotoxikologische Effekte durch die Anwendung zusätzlicher Abwasserreinigungsverfahren minimieren und verbessern lassen. Wichtig ist es daher, neben den Chancen auch die möglichen Risiken der für die erweiterte Abwasserreinigung vorgesehenen Techniken zu kennen.

Neben den Wirkungen auf die aquatischen Ökosysteme richtet sich das Augenmerk der toxikologischen Forschung auch auf mögliche Risiken der Schadstoffe für die menschliche Gesundheit (Humantoxikologie). Im Bereich der Bewertung von Spurenstoffen in der Wassermatrix ist das vorrangige Ziel, drohenden Schaden für den Menschen frühzeitig, d. h. vor dem tatsächlichen Auftreten, zu erkennen. Nur dann ist eine wissenschaftlich fundierte Prävention vor gesundheitlichen Schäden möglich. Durch den Einsatz computergestützter Verfahren soll die humantoxische Wirkung von anthropogenen Spurenstoffen und ihren TPs abgeschätzt werden. Eine solche Abschätzung gesundheitlicher Risiken ist kein Ersatz für die empirische Risikoabschätzung. Allerdings können Modellierungen am Computer in vielen Fällen dafür sorgen, dass die verfügbaren Ressourcen besser genutzt werden und die notwendige Priorisierung, die bei einer zunehmenden Fülle potenzieller Risikostoffe unvermeidlich ist, nachvollziehbar auf eine wissenschaftliche Grundlage gestellt wird. Mit zunehmendem „Training“ werden aber auch die Vorhersagen solcher Modellierungen aussagekräftiger. Die immer noch rasant wachsende Leistungsfähigkeit moderner Hardware hilft bei der Ermittlung potenzieller Risikostoffe in einer komplexen Interaktionsmatrix.

Neben Schadstoffen spielen für die Gewässerqualität auch fakultativ pathogene (bedingt krankmachende) Bakterien und Antibiotikaresistenzen eine zunehmend wichtige Rolle (RIZZO et al. 2013; ZHANG et al. 2009; ALEXANDER et al. 2016). Als primäre anthropogene Quellen für die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der aquatischen Umwelt werden Abwässer aus Kliniken, kommunalen Kläranlagen und Abwässer der Mast- und Lebensmittelbetriebe angesehen. Neben der häufigen Verwendung von Antibiotika kann es auch durch die Emission von Bioziden in Desinfektionsmitteln oder anderen antimikrobiell-wirksamen Chemikalien zu einer möglichen Ko-Selektion von Antibiotikaresistenzen in Bakterien kommen (DAVIES et al. 2006; ALEXANDER et al. 2015; RUSSELL, 2003). Dabei stellen auch Kläranlagen eine wichtige sekundäre Quelle von Antibiotikaresistenzen dar, weil es in den biologischen Stufen der Kläranlage zu einer Akkumulation der Resistenzen aus Primärquellen kommen kann. Daher ist es notwendig, einerseits das Auftreten und die Verbreitung von klinisch relevanten Antibiotikaresistenzen zu untersuchen und andererseits die Effizienz der Ozonung als zusätzliche Abwasserbehandlung zur Reduktion von antibiotikaresistenten Bakterien in aufbereitetem Abwasser einer kommunalen Kläranlage zu analysieren.

2 Abkürzungen, Begriffe, Taxonomische Namen, Stoffe

2.1 Abkürzungen

Abkürzung	Erläuterung
ABV	Abacavir
AbwAG	Abwasserabgabengesetz
AkK	Ablauf der konventionellen Abwasserreinigung
ampC	β -Lactam-Antibiotikaresistenz
AR	Androgenrezeptor
blaVIM-1	Imipenem-Resistenz
B	Prozesskontrolle biologische Abwasserbehandlung
B+O	Biologische Abwasserreinigung + Ozonung
BG	Bestimmungsgrenze
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BSB ₅	Biochemischer Sauerstoffbedarf (Sauerstoffverbrauch in 5 Tagen)
BT	Biological targets (Biologische Zielstrukturen von toxischen Substanzen im Organismus)
c	Konzentration
CAplus	Chemical abstract service (Mehr als 41 Millionen Forschungsberichte im Bereich Chemie und verwandten Disziplinen, https://www.cas.org/content/references)
C-ACV	Carboxy-Acyclovir, Transformationsprodukt des Virostatikums Acyclovir
CBI	Chemischer Bewertungsindex
CBZ	Carbamazepin
ChemSpider	Frei zugängliche Datenbank mit über 34 Millionen chemischen Strukturen (http://www.chemspider.com/)
CNS	Coagulase-negative Staphylokokken
COFA	N-(4-carbamoyl-2-imino-5-oxo-imidazolidin)-formamido-N-methoxyessigsäure, Transformationsprodukt des Virostatikums Acyclovir bzw. Carboxy-Acyclovir
COOH	Carboxyl-Gruppe
CSB _f	Chemischer Sauerstoffbedarf in der filtrierten Probe
CYP	Enzyme der Cytochrom P450-Familie (Hämproteine); sie sind als Oxidoreduktasen für enzymatische Oxidations- und Reduktionsreaktionen in allen Lebensformen verantwortlich
DHPS	Dihydropteroatsynthetase (bakterielles Enzym)
DIN	Deutsches Institut für Normung
DiOHCBZ	10,11-Dihydro-10,11-Dihydroxy-Carbamazepin
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure, Träger der Erbinformation)
DOC	Dissolved organic carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
DPPO	Diphenylphosphinoxid, Phosphan/Phosphin

Abkürzung	Erläuterung
DSSTox	Distributed Structure-Searchable Toxicity (Datenbanknetzwerk mit experimentellen Daten zur Toxizität von chemischen Verbindungen)
EBCT	Empty bed contact time (Leerbettverweilzeit)
EC ₁₀	Konzentration mit 10 % Effekt
EC ₅₀	Konzentration mit 50 % Effekt
EE2	17 α -Ethinylestradiol
E-EQ	17 β -Estradiol-Äquivalente
EMT	Emtricitabin
EPA	US Environmental Protection Agency (US-Amerikanische Umweltbehörde)
ER	Östrogenrezeptor
ermB	Erythromycin-Resistenz
Et-Ph ₃ P ⁺	Ethyltriphenylphosphonium-Kation, quaternäre Phosphonium-Verbindung
EW	Einwohnerwert
FDA	US Food and Drug Administration (Amerikanische Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelzulassungsbehörde)
FP7	7. EU-Rahmenprogramm
GAK	Granulierte Aktivkohle
GCV	Ganciclovir (Virostatikum)
hAR	Humaner Androgenrezeptor
hER α	Humaner Östrogenrezeptor α
HRT	Hydraulic retention time (Hydraulische Verweilzeit)
ISO	Internationales Institut für Normung
ISS	Instituto Superiore di Sanita
K	Kontrolle im Biotest
KA	Konventioneller Abwasserreinigungsprozess
k _{biol}	Biologische Transformationskonstante
ko ₃	Reaktionskonstante für die Reaktion von Molekülen mit Ozon (O ₃)
LAZAR	Lazy structure activity relationship (Expertensystem bzw. Fachdatenbank, die Informationen zu toxikologischen Eigenschaften und räumlichen Strukturen von chemischen Verbindungen enthält)
LC50	letale Konzentration für 50 % der untersuchten Lebewesen
LC-MS/MS	Flüssigkeitschromatografie in Kombination mit Massenspektrometrie zur analytischen Bestimmung von chemischen Verbindungen
LMV	Lamivudin (Virostatikum)
MBI	Mikrobiologischer Bewertungsindex
MBR	Membranbioreaktor

Abkürzung	Erläuterung
Me-Ph ₃ P ⁺	Methyltriphenylphosphonium-Kation, quaternäre Phosphonium-Verbindung
MeOMe-Ph ₃ P ⁺	Methoxymethyl-triphenylphosphonium-Kation, quaternäre Phosphonium-Verbindung
MTBE	Methyl-tert-butylether (Zusatzstoff in Ottokraftstoffen, Lösungsmittel in der organischen Chemie)
Mw	Mittelwert
NaWaM	BMBF-Förderschwerpunkt „Nachhaltiges Wassermanagement“
NAT	N-Acetyltransferase (Enzym, das im menschlichen Körper für den Abbau des Antibiotikums Sulfamethoxazol sorgt)
NDMA	Nitrosodimethylamin
NK	Negativkontrolle
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
NOAEL	No observable adverse effect level (höchste Dosis eines Stoffes in subchronischen oder chronischen Studien, bei der keine schädigenden Wirkungen beobachtet werden)
NOEL	No observable effect level (höchste Dosis eines Stoffes in subchronischen oder chronischen Studien, bei der keine Wirkungen beobachtet werden)
NRTI	Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
NTB	(Amerikanisches) National Toxicology Programm
O ₃	Ozon
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
OGewV	Oberflächengewässerverordnung
OH	Hydroxyl-Gruppe
2OHCBZ	2-Hydroxy-Carbamazepin
3OHCBZ	3-Hydroxy-Carbamazepin
OP	Oxidationsprodukt
OXC	Oxcarbazepin
PSM	Pflanzenschutzmittel
PubMed	Datenbank mit mehr als 23 Millionen Zitaten biomedizinischer Literatur
OHT-EQ	4-Hydroxytamoxifen-Äquivalente (Kenngröße zur Berechnung der kompetitiven Hemmung von Fremdstoffen an Östrogenrezeptoren)
QSAR	Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung (Expertensysteme, die eine quantitative Beziehung zwischen chemischer Struktur und toxischer Wirkung einer Verbindung herstellen, heißen QSAR-Modelle)
QPV	Quatäre Phosphonium-Verbindung
RF	Rückführfracht (in den Membranbioreaktor)
RiSKWa	BMBF-Fördermaßnahme „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf“

Abkürzung	Erläuterung
RT	Retentionszeit (Zeit, die ein Molekül zum Durchwandern einer Säule mit einer stationären Phase benötigt)
RV	Rücklaufverhältnis
SAK ₂₅₄	Spektraler Absorptionskoeffizient bei einer Wellenlänge von 254 nm
SciFinder	Literaturdatenbank im Bereich der Chemie und verwandten Naturwissenschaften
SEM	Standard error of the mean (Standardfehler)
SOP	Standardarbeitsanweisung
SPE	Solid phase extraction (Festphasenextraktion zur Anreicherung von Wasserproben)
SMZ	Sulfamethoxazol (Antibiotikum)
TD50	Dosis, die bei der Hälfte der untersuchten Lebewesen toxische Wirkungen verursacht
T-EQ	Testosteron-Äquivalente
TP	Transformationsprodukt
TPOS	Transformationsprodukt Objekt Raum
TPPO	Triphenylphosphinoxid, Phosphan/Phosphin
TransRisk	BMBF-Verbundprojekt „Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken durch neue Schadstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf“ (abgeschlossen im April 2015)
TrinkwV	Trinkwasserverordnung
UBA	Umweltbundesamt
Umu	Bakterien-Test, der Gentoxizität erfasst, benannt nach dem umuC-Gen, das in die bakterielle SOS-Antwort (Reparatur von DNA-Schäden) involviert ist
UQN	Umweltqualitätsnorm
vanA	Vancomycin-Resistenz
v _F	Filtergeschwindigkeit im Aktivkohle- bzw. Biofilter
WBI	Wirkungsbasierter Bewertungsindex
WHO	World health organization (Weltgesundheitsorganisation)
WRRL	EG-Wasserrahmenrichtlinie
YAS	Yeast androgen screen (Hefe-Androgen-Test)
YAAS	Yeast anti androgen screen (Hefe-Anti-Androgen-Test)
YAES	Yeast anti estrogen screen (Hefe-Anti-Östrogen-Test)
YDS	Yeast dioxin screen (Test auf dioxinartige Wirkung)
YES	Yeast estrogen screen (Hefe-Östrogen-Test)
z	Spezifische Ozon-Zehrung [mg O ₃ /mg DOC]
ZDV	Zidovudin (Virostatikum)

2.2 Begriffe

Begriff	Erläuterung
Abundanz	Mikrobiologie: Häufigkeit, mit der Antibiotikaresistenzgene vorkommen; Ökotoxikologie: Populationsdichte der Testorganismen
Aktivkohle	aktivierte hochporöse Adsorbentien auf Kohlenstoffbasis mit einer großen inneren Oberfläche; Aktivkohle kann aus verschiedenen Materialien (z. B. Steinkohle, Braunkohle oder Kokosnussschalen) hergestellt und in unterschiedlicher Form (gekörnt, auch Kornaktivkohle: wenige Millimeter; pulverisiert, auch Pulveraktivkohle: wenige Mikrometer) bereitgestellt werden
Aktivkohlefilter	offene oder geschlossene Filter aus Beton oder Edelstahl, die mit einer Kornaktivkohle-Schüttung befüllt sind
Akuter Endpunkt	Parameter, bei dem die Toxizität nach einmaliger Verabreichung oder kurzer Zeitperiode (< 96 Stunden) einsetzt (Bsp.: Mortalität, Wachstumshemmung)
Analyt	zu analysierende Substanz
Androgene Wirkung	Androgene sind Sexualhormone, die für die Entwicklung und Erhaltung der männlichen Merkmale bei Wirbeltieren verantwortlich sind; neben Androgenen gibt es organische Verbindungen, die wie ein Androgen wirken, weil sie fähig sind, an die selben Rezeptoren im Organismus zu binden
Antiepileptika	s. auch Antikonvulsiva; Arzneimittel zur Behandlung und Verhinderung von epileptischen Anfällen
Antiinfektivum	Oberbegriff für Arzneimittel gegen Infektionen: Antibiotika (Arzneimittel gegen bakterielle Infektionen), Virostatika (Arzneimittel, die die Vermehrung von Viren hemmen), Antimykotika (Arzneimittel zur Behandlung von Pilzinfektionen)
Antikonvulsiva	s. auch Antiepileptika; Arzneimittel zur Behandlung und Verhinderung von epileptischen Anfällen
autochthon	einheimisch
Biofilter	Biologisches Abwasserreinigungsverfahren auf Basis sessiler Biomasse (Biofilm). Biofilter sind mit Trägermaterial (u. a. Blähton, Sand) ausgestattet und in der Regel als getauchtes Filtrationsverfahren konzipiert; je nach Behandlungsziel kann der Betrieb belüftet, unbelüftet oder unter Zugabe einer Kohlenstoff-Quelle erfolgen; Biofilter können als Haupt- oder Nachreinigungsstufe eingesetzt werden
Biological target (BT)	biologische Zielstruktur für toxische Substanzen oder Arzneimittelwirkstoffe im Organismus, z. B. Enzyme, Rezeptoren, zelluläres Transportsystem (Ionenkanäle etc.); dockt ein Stoff an eine BT an, löst dies eine bestimmte Wirkung aus
Biotest/Bioassay	Tests mit Zellen (Bakterien, Hefe-, Tumorzellen) im Reagenzglas (In vitro) oder mit lebenden Organismen (In vivo), um die mögliche toxische Wirkung von chemischen Verbindungen z. B. in einer Wasser-/Abwasserprobe zu beurteilen
Biozid	Schädlingsbekämpfungsmittel, z. B. Konservierungsmittel oder Aufwuchshemmstoffe in Fassadenfarben
Carbapeneme	zu der Gruppe der β -Lactam-Antibiotika zählende Breitbandantibiotika (strukturell von Penicillin abgeleitet)

Begriff	Erläuterung
Chronischer Endpunkt	Parameter, bei dem die Toxizität nach Exposition über eine längere Zeitperiode (96 Stunden bis zu Wochen, Monaten oder Jahren) einsetzt und Wirkungen sich langsam entwickeln (Bsp.: abnehmende Fortpflanzungsfähigkeit, Tumorentwicklung)
Coagulase-negative Staphylokokken (CNS)	nicht pathogene Staphylokokken, die im Gegensatz zu pathogenen Staphylokokken keine Koagulase (Enzym) bilden; die Koagulase-Aktivität dient daher als Unterscheidungskriterium für pathogene und nicht pathogene Staphylokokken
Dunn's post hoc-Test	Signifikanztest aus der mathematischen Statistik: Er gibt entweder durch paarweise Mittelwertvergleiche Auskunft darüber, welche Mittelwerte sich signifikant voneinander unterscheiden, oder er gibt durch gruppenweise Vergleiche Auskunft darüber, welche Gruppenmittelwerte sich nicht signifikant unterscheiden
Elutionskraft	Fähigkeit eines Lösungsmittels, eine Substanz aus einer stationären Phase herauszulösen
Enterobakterien	Stäbchenförmige Bakterien, die Teil der Darmflora, aber auch ubiquitär in der Umwelt verbreitet sind
Enterokokken	kugelförmige Darmbakterien, zu denen rund 25 verschiedene Arten zählen
Entropie	thermodynamische Zustandsgröße, Maß für die Anordnungsfreiheit von Atomen und Molekülen in einem geschlossenen System; je höher die Anordnungsfreiheit, umso größer die Entropie
Enzym	Katalysator, der eine chemische Reaktion beschleunigt; Enzyme sind fast immer Proteine, die den Stoffwechsel von Organismen steuern
Fakultativ pathogene Bakterien	bedingt krankmachende Bakterien, z. B. bei geschwächtem Immunsystem, auch opportunistische Bakterien genannt
Fekunditätsindex	Fruchtbarkeitsindex
Flüssigkeitschromatografie	analytisches Verfahren zur Auftrennung von Molekülen in einem Gemisch
Fronde	Blättchen der „Kleinen Wasserlinse“
Front-End	Begriff aus der Informationstechnik; näher am Benutzer (Eingabe), im Gegensatz zum Back-End, das näher am System (Verarbeitung) ist
Funktionsindikatoren	Spurenstoffe, die als Indikatorsubstanzen anthropogen verursachte Veränderungen der Wasserqualität anzeigen oder für die Steuerung und Überwachung natürlicher sowie technischer Prozesse genutzt werden
Gammariden	Zweitgrößte Unterordnung der rund 9.500 bekannten Flohkrebsarten
Gentoxische Wirkung	Stoffe, die das genetische Material einer Zelle verändern, wirken gentoxisch, müssen aber nicht zwangsläufig Mutationen oder Krebs auslösen
Hälterungswasser	Wasser, in dem die Testorganismen in Bioassays unter Kontrollbedingungen gehalten werden
Humanmetabolit	aus einer Ausgangssubstanz im menschlichen Körper gebildetes Folgeprodukt (auch Transformationsprodukt genannt)

Begriff	Erläuterung
In vitro-Tests	biologische Testverfahren (Bioassays) mit Zelllinien, die außerhalb des Organismus in kontrollierter Umgebung (z. B. im Reagenzglas) durchgeführt werden
In vivo-Tests	biologische Testverfahren (Bioassays), die mit lebenden Testorganismen durchgeführt werden
In silico	Modellierung mittels Computer
kanzerogen	krebserregend
Kohlenhydrate	aneinander gekettete Zuckermoleküle, die eine zentrale Rolle als physiologischer Energieträger in Organismen spielen
Ko-Selektion	Selektion ist die Auslese im Rahmen der Evolutionstheorie, Ko-Selektion ist die Selektion von zusätzlichen Merkmalen, die keinen Vorteil im Rahmen der Auslese bedeuten
Kruskal-Wallis-Test	Statistisches Verfahren für nicht normalverteilte Werte, das prüft, ob zentrale Tendenzen von mehr als zwei verschiedenen Stichproben signifikant unterschiedlich voneinander sind
Ligand	Stoff, der an einen Rezeptor binden kann
Limnisches System	Süßwasserführende Gewässereinheiten
Lipid	Fett
Makrolid-Antibiotika	Antibiotika der Stoffklasse der Makrolide, die die Proteinbiosynthese in Bakterien hemmen; bekanntester Vertreter ist Erythromycin, dessen Wirkungsspektrum dem der Penicilline gleicht
Massenspektrometrie	analytisches Verfahren zur Identifizierung bzw. Quantifizierung von Substanzen
Mortalität	Sterblichkeit
Mutagene Wirkung	Stoffe, die das Erbgut von Organismen verändern können, also Genmutationen auslösen, haben mutagene Wirkung
Neoplasie	Tumor
Neuroleptika	Arzneimittel aus der Gruppe der Psychopharmaka, die eine sedierende, antipsychotische (den Realitätsverlust bekämpfende) Wirkung besitzen (auch Antipsychotika genannt)
Non-Target-Screening	analytisches Screening-Verfahren, bei dem es nicht darum geht, die einzelnen Substanzen in einer Probe zu identifizieren, sondern stattdessen alle bekannten und unbekanntesten Bestandteile einer Probe zu erfassen
Nosokomiale Infektionen	Krankenhausinfektionen
N-Oxid (Aminoxid)	Aminoxide sind eine Gruppe chemischer Verbindungen, die eine funktionelle Molekülgruppe, bestehend aus einem Stickstoff- und einem Sauerstoffatom, enthalten
Nukleotid	Grundbaustein der Erbinformation

Begriff	Erläuterung
Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren	Arzneimittel aus der Gruppe der Virostatika; Nukleosid-Analoga, die den natürlichen Nukleosiden ähneln, sie setzen an dem Enzym Reverse Transkriptase von Retroviren an, indem sie bei der Umschreibung der RNA in DNA mit natürlichen Ribosiden konkurrieren, die Ribosid-Analoga verhindern die Kettenverlängerung
On site	Englisch für "vor Ort"
Opportunistische Bakterien	bedingt krankmachende Bakterien, z. B. bei geschwächtem Immunsystem, auch fakultativ pathogene Bakterien genannt
Östrogene Wirkung	Östrogene sind die wichtigsten weiblichen Sexualhormone, neben Östrogenen selbst gibt es organische Verbindungen, die wie ein Östrogen wirken, weil sie fähig sind, an die selben Rezeptoren im Organismus zu binden
Ozon	Gas, starkes Oxidationmittel
Ozonung	technisches Verfahren, bei dem Ozon als Oxidationsmittel u. a. eine CSB-Reduzierung und Umwandlung biologisch schwer abbaubarer in leichter abbaubare Substanzen bewirken kann; Ozon hat auch eine antibakterielle Wirkung, sodass durch die Ozonung die Anzahl fakultativ pathogener Bakterien reduziert wird; bei der Trinkwasseraufbereitung steht die antibakterielle Wirkung der Ozonung im Vordergrund (Desinfektion)
Polare Stoffe	die gegensätzliche elektrische Ladung von Atomgruppen in einem Molekül ist für die Polarität eines Stoffes verantwortlich; polare Stoffe sind durch gute Wasserlöslichkeit gekennzeichnet; schlechte Adsorptionsfähigkeit an Oberflächen, z. B. Aktivkohle
Primärkonsument	Organismen, die sich von organischen Stoffen, die sie nicht selbst herstellen können, direkt durch Verzehr von pflanzlichem Material (herbivor) oder indirekt durch den Verzehr anderer heterotropher Organismen (carnivore, omnivore Destruenten) ernähren
Primärproduzent	Organismen, die aus anorganischen Kohlenstoffverbindungen organische Verbindungen herstellen können und keine anderen Lebewesen für ihre Ernährung aufnehmen; die für den Vorgang benötigte Energie wird über Photosynthese (Pflanzen) oder Chemosynthese (einige Bakterien) aus der unbelebten Natur bezogen
Quaternäre Phosphonium-Verbindungen	Organische Phosphoniumsalze, die z. B. als Wittig-Reagenz eingesetzt werden
4. Reinigungsstufe	Verfahrensstufe im Abwasserreinigungsprozess zur gezielten Spurenstoff-elimination
Reproduktion	Vermehrungsfähigkeit
Retentionszeit	Zeit, die ein Molekül zum Durchwandern einer Chromatographiesäule mit einer stationären Phase benötigt
Revertanten	entstehen aus Mutanten durch Rückmutationen, die von mutagenen Substanzen ausgelöst werden
Selektionsdruck	Umweltfaktoren, die Einfluss auf das Überleben einer Population in einer bestimmten Umwelt haben

Begriff	Erläuterung
Somatisches Wachstum	Wachstum von ungeschlechtlichen Körper- bzw. Gewebezellen
SOS-Reparatursystem	Bakterien reagieren auf starke DNA-Schäden, die durch Strahlung, Hitze oder bakterientoxische Substanzen entstehen können, mit einer SOS-Antwort; dabei wird der geschädigte DNA-Abschnitt repariert, sodass die DNA wieder abgelesen (repliziert) und der Zellzyklus fortgesetzt werden kann, wodurch das Überleben der Zelle sichergestellt ist
Staphylokokken	Kugelförmige Bakterien, welche die Haut und Schleimhäute besiedeln
sterisch	räumliche Ausdehnung
Sulfonamid	Gruppe von Antibiotika, die die Folsäuresynthese in Bakterien hemmen, die diese für die Herstellung ihrer Erbsubstanz benötigen
Target-Analytik	quantitative Einzelstoff-Analytik
Taxonomie	Klassifikationssystem zur systematischen Erfassung verwandtschaftlicher Beziehungen von Lebewesen
Ternäres Diagramm	Dreiecksdiagramm
Toxikologische Endpunkte	Als toxikologische Endpunkte bezeichnet man in Biotests beobachtete Eigenschaften der Testorganismen bzw. der Population, die durch die zu untersuchende Substanz beeinflusst werden können; dies sind z. B. Wachstum, Vermehrungsrate oder Sterblichkeit (s. auch chronische und akute Endpunkte)
Toxikophor	funktionelle Molekülgruppen mit vermuteten toxikologischen Wirkungen
Transformationsprodukt	aus anthropogenen Spurenstoffen biotisch und abiotisch gebildetes Folgeprodukt
Trophieebene	Stufe in der Nahrungskette
Unpolare Stoffe	Elektrisch neutrale Moleküle, schlecht wasserlöslich, gut löslich in unpolaren Lösungsmitteln, gute Adsorptionsfähigkeit an Oberflächen z. B. an Aktivkohle
Virostatikum	Stoff, der die Vermehrung von Viren hemmt
Wittig-Reaktion	Organisch-chemische Reaktion, die der Knüpfung von C=C-Bindungen dient; als Olefin-Bildungsreaktion hat sie im Labor und in der Industrie große Bedeutung
Zytotoxizität	Fähigkeit chemischer Stoffe, Zellen und Gewebe zu schädigen

2.3 Taxonomische Namen

Name	Erläuterung
<i>Citrobacter freundii</i>	stäbchenförmiges Enterobakterium, das im Intestinaltrakt, in Abwasser, Wasser, im Boden und auch in Nahrungsmitteln vorkommt; als fakultativ pathogener Keim (bedingt krankmachend) ist er für Infektionen der Atem- und Harnwege verantwortlich, Auslöser nosokomialer Infektionen
<i>Daphnia magna Strauss</i>	Großer Wasserfloh, Bestandteil des Zooplanktons in stehenden Gewässern, wichtige Nahrungsquelle für Fische, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen
<i>Escherichia coli</i>	stäbchenförmiges Bakterium, das im Darm vorkommt; Fäkalindikator
<i>Enterobacter cloacae</i>	stäbchenförmiges Enterobakterium, das im Intestinaltrakt vorkommt; als fakultativ pathogener Keim (bedingt krankmachend) ist er gelegentlich für Infektionen der Atem- und Harnwege verantwortlich
<i>Gammarus fossarum</i>	Bachflohkrebs, Vorkommen in kleinen und mittelgroßen Fließgewässern in Mitteleuropa, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	stäbchenförmiges Bakterium, Bewohner von Magen-Darm-Trakt und Mundflora, als fakultativ pathogener Keim (bedingt krankmachend) ist er für Infektionen der Atem- und Harnwege verantwortlich, Auslöser nosokomialer Pneumonien (Lungenentzündungen) bei immungeschwächten Patienten
<i>Lemna minor</i>	Kleine Wasserlinse, aquatische Süßwasserpflanze, Blättchen (Fronde) enthalten luftgefüllte Hohlräume, wodurch die Pflanze auf der Wasseroberfläche schwimmt, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen
<i>Lumbriculus variegatus</i>	Glanzwurm, Vorkommen in Europa und Nordamerika, lebt in seichten Gewässern, Seen und Sümpfen, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen
<i>Pasteuria ramosa</i>	bakterieller Endoparasit von <i>Daphnia magna</i> (Großer Wasserfloh)
<i>Potamopyrgus antipodarum</i>	Zwergdeckelschnecke, in Süß- und Brackwasser verbreitete kleine Gehäuseschneckenart, ursprünglich in Neuseeland beheimatet, ist sie weltweit verschleppt worden und inzwischen die häufigste Wasserschneckenart in Mitteleuropa, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen
<i>Pimephales promelas</i>	Amerikanische Gold-Elritze (Fisch), Vorkommen in Nordamerika in kleinen Flüssen, Bächen und Teichen
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	stäbchenförmiges Bakterium, weitverbreiteter Boden- und Wasserkeim, der feuchte Milieus bevorzugt, bedeutender Krankenhauskeim, hohes Resistenzpotenzial (Multiresistenz)
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	Grünalge, Testorganismus in Bioassays zur Beurteilung der aquatischen Toxizität von anthropogenen Spurenstoffen

Name	Erläuterung
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bäckerhefe
<i>Salmonella thyphimurium</i>	hauptverursachendes Bakterium der Gastroenteritis beim Menschen, nicht pathogene Stämme werden für Tests auf erbgutverändernde (mutagene) Wirkpotenziale eingesetzt
<i>Staphylococcus aureus</i>	kugelförmiges Bakterium, das häufig traubenförmig in Haufen angeordnet ist, Vorkommen überall in der Natur, auf der Haut und Schleimhäuten von Tieren und bei etwa 30 % der Menschen auf der Haut und in den oberen Atemwegen sowie in Nahrungsmitteln; kann einen Wirt besiedeln, ohne Krankheitssymptome auszulösen; bei geschwächtem Immunsystem können Hautentzündungen, Lungenentzündung, Entzündung der Herzinnenhaut hervorgerufen werden; Träger von Resistenzen gegen zahlreiche gängige Antibiotika (Multiresistenz), Krankenhauskeim
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	kugelförmiges Bakterium, Erreger von Lungenentzündung, Hirnhautentzündung und Mittelohrentzündung

2.4 Stoffe

Stoff	Erläuterung
Abacavir	Arzneimittel aus der Gruppe der NRTI zur Behandlung von HIV im Rahmen einer antiretroviralen Kombinationstherapie
Acesulfam	künstlicher Süßstoff, 200mal süßer als Zucker, hitzebeständig; Indikatorsubstanz, die Rohabwassereinfluss oder Einfluss von gereinigtem Abwasser auf die Gewässerqualität anzeigt
Acridin	Heteroaromatische organische Verbindung, Vorkommen in Steinkohleteer, das farblose Kristall bildet das chemische Grundgerüst der Acridinfarbstoffe
Acyclovir	Virostatikum, z. B. gegen Herpes
Allopurinol	Urostatikum, Medikament, das die für Gicht verantwortliche Harnstoffbildung hemmt; Indikatorsubstanz, die Einfluss von gereinigtem Abwasser auf die Gewässerqualität anzeigt
Ampicillin	β -Lactam-Antibiotikum, Breitbandwirkung
Amisulprid	Neuroleptikum (Psychopharmakon), Derivat des Sulpirid
Azithromycin	Antibiotikum aus der Gruppe der Glycoside (Makrolid-Antibiotika)
Benzotriazol	organische Chemikalie, die als Komplexbildner eingesetzt wird (Einsatz als Korrosionsschutzmittel in Kühlflüssigkeiten, Frostschutz- und Enteisungsmitteln, in Entkalkungstabletten, in Geschirrspülmitteln als Silberschutz, in der Industrie als Kühlschmiermittel, in fotografischen Entwicklern); Indikatorsubstanz, die Einfluss von gereinigtem Abwasser auf die Gewässerqualität anzeigt

Stoff	Erläuterung
Carbamazepin	Antikonvulsivum (gegen Krampfanfälle, bei affektiven, schizoaffektiven und bipolaren Störungen); Funktionsindikator für die Ozonung
Carboxy-Acyclovir	Transformationsprodukt des Arzneimittelwirkstoffes Acyclovir (Virostatikum)
N-[4-carbamoyl-2-imino-5-oxo-imidazolidin]-form-amido-N-methoxy-essigsäure (COFA)	Ozonungsprodukt von Carboxy-Acyclovir (Transformationsprodukt von Virostatikum Acyclovir)
Clarithromycin	Makrolid-Antibiotikum (Breitspektrum-Antibiotikum, das bakteriostatisch, also wachstumshemmend, wirkt, indem es die bakterielle Proteinbiosynthese stört)
Climbazol	Antimykotikum, fungistatisch, Verwendung in Antischuppenshampoos
Cybutryn	= Irgarol; Biozid, Fungizid
Desphenyl-Chloridazon	Metabolit des Herbizides Chloridazon
Diatrizoat	Salz der Amidotrizoesäure, wasserlösliches, iodhaltiges Röntgenkontrastmittel
Diclofenac	Antiphlogistikum, Analgetikum
10,11-Dihydro-10,11,-Dihydroxy-Carbamezepin	Metabolit des Antiepileptikums Carbamazepin
Emtricitabin	Arzneimittel aus der Gruppe der NRTI zur Behandlung von HIV im Rahmen einer antiretroviralen Kombinationstherapie
17 β -Estradiol	natürliches Östrogen
Erythromycin	Makrolid-Antibiotikum gegen Infektionen mit Strepto- und Staphylokokken (aerob) sowie gegen Propioni- und Corynebakterien, ähnliches Wirkungsspektrum wie Penicillin, Einsatz bei Penicillin-Allergie
17 α -Ethinylestradiol	Synthetisches Östrogen, Derivat des natürlich vorkommenden 17 β -Estradiols mit verstärkter Wirkung, Empfängnisverhütungsmittel
Gabapentin	Antiepileptikum; Indikatorsubstanz, die Einfluss von gereinigtem Abwasser auf die Gewässerqualität anzeigt
Ganciclovir	Virostatikum, das gegen Herpesviren eingesetzt wird, Analogon der Nukleinbase Guanin
Hydroxytamoxifen	aktiver Metabolit des Arzneimittelwirkstoffes Tamoxifen; moduliert die Aktivität des Östrogenrezeptors, dient der Behandlung von Östrogen-induziertem Brustkrebs
2-Hydroxy-Carbamazepin	Transformationsprodukt des Antikonvulsiums Carbamazepin
3-Hydroxy-Carbamazepin	Transformationsprodukt des Antikonvulsiums Carbamazepin
Imipenem	Antibiotikum aus der Gruppe der Carbapeneme (zu der Gruppe der β -Lactam-Antibiotika zählende Breitbandantibiotika, die sich strukturell von Penicillin ableiten)

Stoff	Erläuterung
Irgarol	= Cybutryn, Biozid, Fungizid
Lamivudin	Arzneimittel aus der Gruppe der NRTI zur Behandlung von HIV im Rahmen einer antiretroviralen Kombinationstherapie
Lamotrigin	Antiepileptikum, Therapie von Epilepsie und affektiven Störungen
Lamotrigin-N2-Glucuronid	Metabolit des Antiepileptikums Lamotrigin
Mecoprop	Herbizid gegen Unkräuter (als Durchwurzelungsschutz in Bitumendächern oder als Algenschutz in Fassadenfarben eingesetzt); Funktionsindikator für die Ozonung
Methicillin	β -Lactam-Antibiotikum, dessen β -Lactamring sterisch vor Angriffen des Bakterienenzym Penicillinase geschützt ist und daher stabil und funktionsfähig bleibt; inzwischen nicht mehr im Handel verfügbar, sondern durch modernere Varianten abgelöst
Metoprolol	Betablocker
Nonylphenol	mikrobiologisches Transformationsprodukt von Nonylphenol-Ethoxylaten, die als nicht-ionische Tenside in Waschlösungen zum Einsatz kommen; ist endokrin wirksam
Oxcarbamazepin	Antiepileptikum
Oxypurinol	Metabolit des Arzneimittelwirkstoffes Allopurinol
Primidon	Antiepileptikum
Ribose	Zucker mit fünf Kohlenstoff-Atomen (Pentose)
Roxithromycin	Makrolid-Antibiotikum
Sotalol	Betablocker
Sucralose	künstlicher Süßstoff
Sulfamethoxazol	Antibiotikum
Sulpirid	Neuroleptikum (Psychopharmakon)
Terbutryn	Herbizid
Tolyltriazol	Korrosionsschutzmittel aus der Gruppe der Benzotriazole
Tramadol	Agonist der μ -, δ - und κ -Opioidrezeptoren, starkes Schmerzmittel
Tramadol-N-Oxid	Transformationsprodukt des Arzneimittelwirkstoffes Tramadol (Schmerzmittel)
Trimethoprim	Antibiotikum
Valsartan	Arzneimittel zur Behandlung von Bluthochdruck
Vancomycin	Antibiotikum aus der Gruppe der Glycopeptid-Antibiotika (Reserveantibiotikum)

Stoff	Erläuterung
Venlafaxin	Arzneistoff zur Behandlung von Depressionen und Angsterkrankungen, selektiver Serotonin-Noradrenalin-Wiederaufnahmehemmer
Zidovudin	Arzneimittel aus der Gruppe der NRTI zur Behandlung von HIV im Rahmen einer antiretroviralen Kombinationstherapie

3 Verbreitung und Wirkung von anthropogenen Spurenstoffen, Antibiotikaresistenzen und Krankheitserregern in der aquatischen Umwelt

3.1 Untersuchte Regionen

3.1.1 Modellregion Donauried

Das Versorgungsgebiet der Landeswasserversorgung erstreckt sich im Bereich zwischen Ulm, Stuttgart, Bad Mergentheim und Aalen mit insgesamt etwa 3 Millionen Einwohnern. Die Jahresabgabe an Trinkwasser liegt bei ca. 90 Mio. m³. Vom geförderten Trinkwasser stammen ca. 40 % aus dem durch sechs Fassungsanlagen erschlossenen Grundwasservorkommen des Donaurieds und aus drei Karstbrunnen im Hürbetal. Darüber hinaus wird mit ca. 25 % das Quellwasser der Buchbrunnenquelle auf der Schwäbischen Alb genutzt. Eine weitere wichtige Rohwasserressource mit einem Anteil von ca. 35 % ist Oberflächenwasser aus der Donau. Das Wasser wird direkt aus der fließenden Welle, d. h. ohne Uferfiltration, der Donau bei Leipheim ca. 13 km stromabwärts von Ulm entnommen.

Das Grundwassergewinnungsgebiet der Landeswasserversorgung liegt in der Donauniederung ca. 15 km nordöstlich von Ulm und stellt den baden-württembergischen Anteil des Gesamtökotops Donauried dar, welches sich von Neu-Ulm bis Donauwörth entlang der Donau ausdehnt. Dabei erstreckt sich das Grundwassereinzugsgebiet vom Donauried bis zur Karstwasserscheide auf der Hochfläche der Schwäbischen Alb.

Das Wasserschutzgebiet (WSG) „Donauried-Hürbe“ umfasst das gesamte Einzugsgebiet der sechs Kiesgrundwasserfassungen und der Karstbrunnen in Burgberg. Der Fassungsbereich (Zone I) und die engere Schutzzone (Zone II) des Donaurieds hat eine Fläche von 54 km² und die weitere Schutzzone (Zone III) eine Fläche von 513 km². Das Grundwasser strömt den Brunnen im Kiesgrundwasserleiter hauptsächlich durch unterirdische Zuflüsse aus dem Karstgrundwasserleiter zu.

Es befinden sich 56 Ortschaften mit rund 5,7 km² Gewerbefläche im Schutzgebiet. Auf rund der Hälfte der Fläche wird Ackerbau betrieben. Im Wasserschutzgebiet gibt es 11 Kläranlagen, über 100 Regenüberlaufbecken und ca. 450 km öffentliche und 900 km private Abwasserrohre. Das Straßennetz hat eine Länge von 528 km, davon 28 km Autobahnen. Aktuell sind über 100 Altlasten erfasst. Das große Einzugsgebiet und die unterschiedlichen Nutzungen des Donaurieds bringen somit eine Reihe an Kontaminationsquellen für das Rohwasser mit sich.

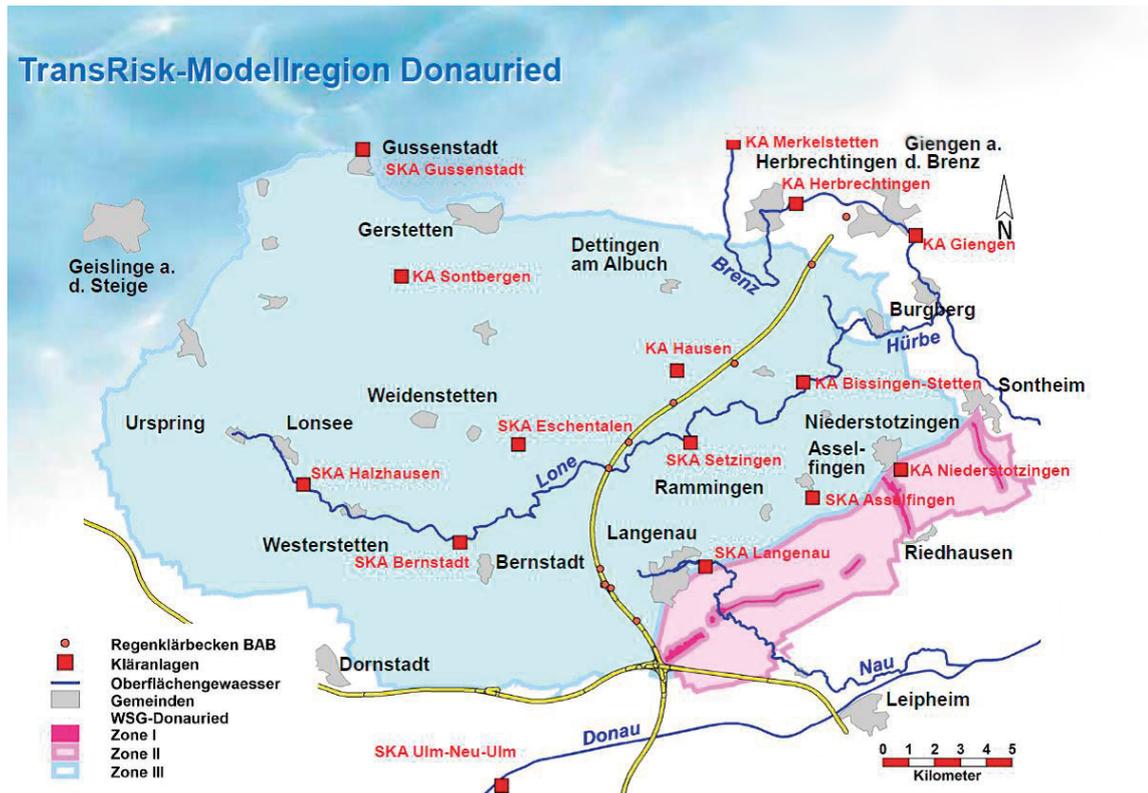


Bild 1: Karte der TransRisk-Modellregion Donauried

Karstgebiete bilden weltweit rund ein Viertel der Oberfläche und aus Karstgrundwasserleitern stammt schätzungsweise ein Viertel des genutzten Trinkwassers (FORD & WILLIAMS 2007). Karstlandschaften sind hinsichtlich einer möglichen Kontamination mit anthropogenen Spurenstoffen und Krankheitserregern besonders anfällig. Durch die hohe Infiltration im Gebiet (diffus über geringmächtige und durchlässige Deckschichten im gesamten Einzugsgebiet des Karstaquifers und lokal über Dolinen, Trockentäler und Schlucklöcher) und den damit verbundenen geringen oberirdischen Abflussmengen der Oberflächengewässer ergibt sich im Allgemeinen:

- (1) ein sehr hoher Abwasseranteil in den Vorflutern, insbesondere der Bäche, in die viele der kleineren Kläranlagen einleiten und
- (2) ein schneller Transport des Oberflächenwassers in den Karstaquifer.

Somit kommt es zu keinem oder einem nur sehr geringen Abbau von organischen Stoffen und nur untergeordneten Filtrationsprozessen bei der Boden- und Sedimentpassage. Durch präferenzielle Fließwege wird das Wasser teils mit sehr hohen Geschwindigkeiten im Untergrund transportiert und kann somit nach nur sehr kurzen Aufenthaltszeiten aus den Brunnen gefördert werden.

Im WSG „Donauried-Hürbe“ gibt es die Besonderheit, dass wegen fehlender Vorfluter die Abläufe einiger kleinerer Kläranlagen nach der Emission über Gräben direkt in das Grundwasser infiltrieren. Aus diesem Grund wurden für einige dieser Kläranlagen unterschiedliche Maßnahmen eingeleitet:

- Ausleitung des Abwassers der Gemeinden Gerstetten, Dettingen, Hedelfingen und Heuchlingen aus der Region zur Kläranlage nach Heidenheim-Mergelstetten: Diese Maßnahme ging Anfang 2012 in den Regelbetrieb. Es wird eine nachhaltige Verbesserung der Grundwasserqualität im Karst-Einzugsgebiet der Burgberger Brunnen erwartet.
- Der Ablauf der Kläranlage Niederstotzingen (innerhalb der Schutzzone II) wird seit September 2011 aus dem Schutzgebiet heraus zur Kläranlage Sontheim gepumpt.

- An einige zum Alb-Donau-Kreis (südwestliche Hälfte des Schutzgebiets) gehörende Kläranlagen sind erhöhte Anforderungen an die Reinigungsleistung über eine zusätzliche Filtrationsstufe (jedoch ohne gezielte Spurenstoffentfernung wie bspw. Aktivkohleadsorption) gestellt.

Eine vollständige Ausleitung des gereinigten Abwassers aus dem Schutzgebiet ist jedoch nicht erreichbar. Weiterhin bleiben mögliche Beeinflussungen des Grundwassers durch undichte Abwasserkanäle, die Mischwasserentlastung bei Starkregen, die Siedlungsflächen, den Straßenverkehr und die Landwirtschaft.

Aufgrund der hohen Vulnerabilität des Karstaquifers, insbesondere durch die Versickerung von Abwasser im Karst, wurde das Donauried als modellartiges Untersuchungsgebiet für die chemisch-analytische, ökotoxikologische und mikrobiologische Untersuchung ausgewählt.

Da gereinigtes Abwasser eine sehr große Anzahl an anthropogenen Spurenstoffen und auch viele (fakultativ) pathogene Bakterien und Krankheitserreger enthält, ist im Untersuchungsgebiet von deren Vorkommen auszugehen.

Die anthropogene Beeinflussung des Grundwasserkörpers konnte durch eine im Jahr 2008 von der Landeswasserversorgung durchgeführte Sonderuntersuchung von 74 Grundwasser-Messstellen im Wasserschutzgebiet „Donauried-Hürbe“ auf organische Spurenstoffe nachgewiesen werden. Insgesamt wurden dabei 173 Einzelverbindungen je Probenahmestelle untersucht. Dazu gehören Pflanzenschutzmittel (PSM) und deren Metaboliten, Arznei- und Röntgenkontrastmittel und Industriechemikalien. Es traten neben der Belastung mit den Pflanzenschutzmittel-Metaboliten Desethylatrazin und Desphenylchloridazon auch Korrosionsschutzmittel aus der Klasse der Benzotriazole, die Arzneimittel Amidotrizoesäure, Carbamazepin und Metformin sowie die Industriechemikalie Melamin auf.

Diese Befunde lassen vermuten, dass eine Infiltration von Rohabwasser über undichte Abwasserrohre und entlastende Regenwasserbehandlungsanlagen oder die Infiltration von gereinigtem Abwasser aus Kläranlagen in den Karstgrundwasserleiter vorliegen.

Da die Donau und ihre Zuflüsse im Oberlauf der Entnahmestelle bei Leipheim als Vorfluter zahlreicher Kläranlagen sowie der Großkläranlage Steinhäule bei Ulm dienen, enthält auch diese Wasserressource anthropogene Spurenstoffe und mikrobielle Belastungen. Hinzu kommt, dass an die Großkläranlage Steinhäule das Universitätsklinikum Ulm angeschlossen ist, in dem durchschnittlich 43.000 Patienten im Jahr stationär behandelt werden. Zusätzlich werden je Quartal rund 270.000 Patienten ambulant behandelt (Universitätsklinikum Ulm 2015). Daher kann davon ausgegangen werden, dass hier zahlreiche krankenhausspezifische Spurenstoffe wie Diagnostika, Antiseptika und Zytostatika von Bedeutung sind.

Im Rahmen des Monitoringprogramms in der Modellregion Donauried wurde mehrfach Abwasser aus vier verschiedenen Kläranlagen (Zu- und Abläufe) und zwei Kliniken auf das Vorkommen von ausgewählten Spurenstoffen und ihrer Transformationsprodukte untersucht. Außerdem wurde Oberflächenwasser von drei Flüssen, von zwei Regenklärbecken und von einem Regenüberlauf- und Versickerungsbecken analysiert. Zusätzlich wurden ausgewählte Grundwassermessstellen, sogenannte Hotspots, untersucht, in deren Nähe sich Deponien und andere bekannte Altlasten befinden.

3.1.2 Modellregion Hessisches Ried

Das Hessische Ried war bis zu Beginn des 19. Jahrhunderts eine vom Wasser bestimmte Region und veränderte sich erst nach und nach durch die Eingriffe des Menschen von einer sumpfigen Natur hin zu einer bewirtschafteten Kulturlandschaft, die zwischenzeitlich geprägt ist durch intensive landwirtschaftliche Nutzung sowie durch ausgedehnte Wohn- und Industriestandorte (HLUG Broschüre Hessisches Ried). Geologisch betrachtet ist das Hessische Ried ein Teil des nördlichen Oberrheingrabens mit tertiären und quartären Ablagerungen. Es wird im Osten durch den Odenwald und den Sprendlinger Horst, im Westen vom Rhein und im Norden vom Main begrenzt. Die südliche Grenze bildet die Landesgrenze zu Baden-Württemberg. Das Hessische Ried erstreckt sich über eine Länge von 60 Kilometern und eine Breite von 15 bis 20 Kilometern und umfasst dabei eine Fläche von circa 1100 Quadratkilometern. Für die natürliche Grundwasserneubildung im Hessischen Ried sind vor allem die Niederschläge, aber auch die unterirdischen Zuflüsse aus dem Odenwald sowie die Infiltration oder Exfiltration der natürlichen Fließgewässer entscheidend.

Aufgrund der Nähe zum Rhein-Main- und Rhein-Neckar-Gebiet wird das gereinigte Abwasser von ca. 2 Mio. Einwohnern in das Gebiet eingeleitet. Da viele Kläranlagen im Hessischen Ried zudem ihr Abwasser in kleinere Vorfluter einleiten, weisen diese oft einen sehr hohen Abwasseranteil (> 50 %) auf. Im Rahmen von TransRisk wurden zum Nachweis des Vorkommens organischer Spurenstoffe und ihrer Transformationsprodukte mehrere kleinere Bäche und Flüsse sowie die größeren Fließgewässer Main und Rhein beprobt.

3.2 Verbreitung von anthropogenen Spurenstoffen und toxischen Wirkpotenzialen im aquatischen Ökosystem

Das Umweltmonitoring in der Modellregion Donauried erfolgte im Rahmen des BMBF-Projektes „Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken durch neue Schadstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf – TransRisk“, mit dem Ziel, ein Gesamtbild aus chemischen, mikrobiologischen und ökotoxikologischen Daten zu gewinnen, um potenzielle Gefährdungen zu identifizieren und, falls angebracht, entsprechende Schutzmaßnahmen zu empfehlen.

3.2.1 Chemisches Monitoring

Im Projekt **TransRisk** wurden Analyseverfahren für 84 Einzelstoffe entwickelt. Die untersuchten Spurenstoffe gliederten sich in folgende Stoffgruppen (Anzahl der Spurenstoffe in Klammer angegeben): Süßstoffe (5), Arzneimittel (64), Melamin (2), Benzotriazole (3), Benzothiazole (6), Pflanzenschutzmittel-Metaboliten (4) und Nitrat (1). Das Vorkommen der organischen Spurenstoffe im Wasserkreislauf im Hinblick auf den Einfluss von Punktquellen wurde im Wasserschutzgebiet „Donauried-Hürbe“ untersucht. Es erfolgten sieben Beprobungskampagnen von 20 Messstellen im Zeitraum zwischen April 2012 und Februar 2014. Hinsichtlich einer orientierenden Auswertung aller Messdaten des Untersuchungsprogramms (ca. 10.000 Einzelmesswerte) wurde für jede Stoffgruppe eine Parametersumme gebildet, d. h. es erfolgte die Aufsummierung der Konzentrationen der Einzelstoffe einer Gruppe. Für jede Messstelle und jede Parametersumme wurde der Medianwert ermittelt und nach empirischen Kriterien in drei Kategorien mit geringen (< 0,1 µg/L), mittleren (0,1 µg/L – 1 µg/L) und hohen (> 1 µg/L) Konzentrationen eingeteilt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Nutzung von Indikatoren zur Erfassung von anthropogenen Spurenstoffeinträgen in der Modellregion Donauried-Hürbe

Messstellen-Gruppe	Messstelle	Indikatorgruppe						
		Kläranlagen				Straßen- verkehr	Landwirtschaft	
		Süßstoffe	Arzneimittel/ RKM	Melamin	Benzotriazole	Benzothiazole	PSM- Metaboliten	Nitrat
Rohabwasser	Zulauf KA Langenau	+	+	+	+	0	0	-
	Zulauf KA Halzhausen	+	+	+	+	0	-	-
	Zulauf KA Asselfingen	+	+	0	+	0	0	-
	Zulauf KA Steinhäule	+	+	+	+	+	0	-
	Abwasser Klinikum Ulm	+	+	0	+	-	0	-
	Abwasser Klinikum Langenau	+	+	0	+	0	-	-
Gereinigtes Abwasser	Ablauf KA Langenau	+	+	0	+	0	0	0
	Ablauf KA Halzhausen	+	+	+	+	0	-	-
	Ablauf KA Asselfingen	+	+	0	+	0	0	0
	Ablauf KA Steinhäule	+	+	+	+	0	0	0
Straßenablauf- wasser	Regenklärbecken Schammen- bach	-	-	0	-	0	0	0
	Regenüberlaufbecken Ram- mingen	-	-	-	-	-	0	0
	Versickerung Rammingen	-	-	0	-	-	-	-
Hotspots Grundwasser	Ochsenhölzle	0	-	0	-	-	0	+
	Steingrube	-	-	-	-	-	-	+
	Nerenstetten	0	-	-	-	-	0	0
Oberflächen- wasser	Nau, Abstrom KA Langenau	0	0	0	0	-	0	0
	Lone, Quelltopf	-	-	-	-	-	0	0
	Donau, Leipheim	0	0	0	0	-	-	0
Kriterien für die Kategorisierung (Median-Konzentration): (-): < 0,1 µg/L Für Nitrat: (-): < 10 mg/L (o): 0,1 µg/L – 1 µg/L (o): 10 mg/L – 50 mg/L (+): > 1 µg/L (+): > 50 mg/L								

Die Stoffgruppen werden dabei als Indikatoren für die Beeinflussung durch kommunale Kläranlagen (inkl. Abwasserversickerung im Kanalsystem über undichte Kanäle), den Straßenverkehr und die Landwirtschaft genutzt. Für die Zu- und Ablaufproben der kommunalen Kläranlagen waren die entsprechenden Abwasserindikatoren nahezu alle in der höchsten Kategorie nachweisbar. Der Einfluss des Straßenverkehrs über das Straßenablaufwasser auf das Abwasser in Kläranlagen wurde über die entsprechenden Indikatoren angezeigt, jedoch überwiegend auf mittlerem Niveau. In der Messstellengruppe „Straßenablaufwasser“ waren die Parametersummen lediglich bei den Stoffgruppen „Melamin“ und „Benzothiazole“ etwas erhöht. Der Nachweis der Pflanzenschutzmittel-Metaboliten zeigte bei allen Messstellengruppen den Einfluss der Landwirtschaft an. Dies ist vermutlich auf die großflächige landwirtschaftliche Prägung der Modellregion Donauried zurückzuführen. Das Auftreten der Pflanzenschutzmittel-Metaboliten und Nitrat zeigte deutlich den Einfluss von landwirtschaftlich geprägtem Fremdwasser bspw. aus Felddrainagen an. Für die Gruppe „Hotspots Grundwasser“ ergab sich ein heterogenes Bild. Sowohl Abwasserindikatoren, die im Fall der Messstellen an einer Deponie vermutlich auf abgelagerte Substanzen zurückgeführt werden können, als auch die Indikatoren für die Landwirtschaft waren positiv. In den als Vorfluter genutzten Fließgewässern Nau und Donau war der Abwassereinfluss eindeutig anhand der entsprechenden Indikatoren feststellbar. Eine landwirtschaftliche Beeinflussung konnte ebenfalls verifiziert werden. Lediglich das Quellwasser der Lone hatte keinen signifikanten Abwassereinfluss.

3.2.2 Ökotoxikologisches Monitoring

Im Verlauf von sechs Probenahmekampagnen (April 2012 – Februar 2014) des ökotoxikologischen Umweltmonitorings wurden insgesamt ca. 750 Wasserproben mit In vitro-Methoden untersucht. In den Abwasserproben aller untersuchten kommunalen Kläranlagen wurden verschiedene endokrine Aktivitäten nachgewiesen. In Kläranlagenzuläufen waren dies östrogene, anti-östrogene und zum Teil androgene Aktivitäten. In den Proben der dazugehörigen Kläranlagenabläufe waren die östrogenen und androgenen Aktivitäten stark reduziert, während die anti-östrogenen Aktivitäten weiterhin in diversen Kläranlagenabläufen detektiert wurden (s. Bild 2). Dies deutet auf einen Abbau der östrogen und androgen wirksamen Substanzen in den beprobten Kläranlagen hin, während anti-östrogen wirkende Substanzen offensichtlich nicht entfernt werden. In den Klinikabwässern wurden die stärksten endokrinen Aktivitäten nachgewiesen, wobei östrogene und anti-östrogene Aktivitäten, neben androgenen und anti-androgenen Aktivitäten, dominierten. Vereinzelt traten im Klinikabwasser mutagene oder gentoxische Aktivitäten auf. Die Klinikabwässer leiten in eine ebenfalls untersuchte kommunale Kläranlage ein, in deren Ablauf die mutagenen bzw. gentoxischen Aktivitäten jedoch nicht mehr nachweisbar waren.

In Proben von Grundwassermessstellen aus dem Karstgebiet, die in der Nähe von Altlasten und Deponien liegen (sog. Hotspots), wurden über den gesamten Zeitraum des Monitorings anti-östrogene Aktivitäten detektiert. Weitere hormonartige, mutagene oder gentoxische Aktivitäten traten dort jedoch nicht auf. Die Proben aus den Oberflächengewässern waren hinsichtlich der untersuchten Endpunkte unauffällig. Die SPE-Extrakte (SPE = Festphasenextraktion zur Probenanreicherung), die in den In vitro-Tests (s. Abschnitt 4.4.1) 10-fach angereichert getestet wurden, bestätigten die Ergebnisse der nativen Proben bezüglich der endokrinen Aktivitäten.

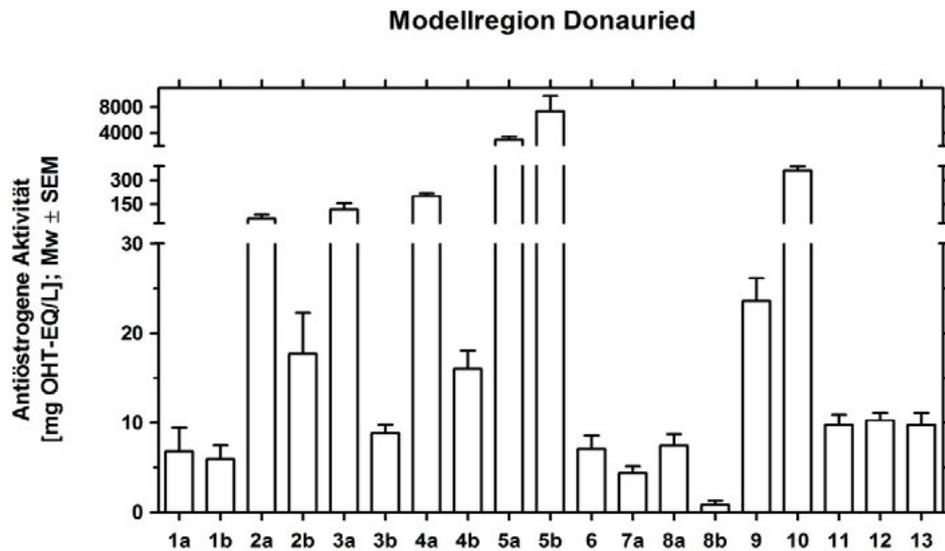


Bild 2: Anti-östrogene Aktivitäten in den Kläranlagenabwasser-, Oberflächenwasser- und Grundwasserproben (Hotspots) der Modellregion Donauried. Dargestellt sind die 4-Hydroxytamoxifen-äquivalente (OHT-EQ: Kenngröße zur Berechnung der kompetitiven Hemmung von Fremdstoffen an Östrogenrezeptoren) in mg/L, Mittelwert (Mw) \pm Standardfehler (SEM) in nativen Proben. Abkürzungen: 1a: KA Langenau – Zulauf, 1b: KA Langenau – Ablauf, 2a: KA Halzhausen – Zulauf, 2b: KA Halzhausen – Ablauf, 3a: KA Asselfingen – Zulauf Filterbecken, 3b: KA Asselfingen – Ablauf Filterbecken, 4a: KA Steinhäule – Zulauf, 4b: KA Steinhäule – Ablauf, 5a: Klinik Ulm, 5b: Klinik Langenau, 6: Donau (Leipheim), 7a: Regenklärbecken Schammenbach, 7b: Regenklärbecken Rohngraben, 8a: Regenüberlaufbecken Rammingen, 8b: Versickerungsbecken Rammingen, 9: Grundwassermessstelle 07721, 10: Grundwassermessstelle 07106, 11: Grundwassermessstelle 07103, 12: Nau, 13: Lone

Die Mehrzahl der im Donauried beprobten Kläranlagen war in der Lage, bereits über die konventionelle Reinigung endokrine Aktivitäten deutlich zu reduzieren. Allerdings waren in einigen Kläranlagenabläufen noch hormonähnliche Wirkpotenziale nachzuweisen, sodass endokrin aktive Substanzen über Kläranlagenabläufe in die Fließgewässer gelangen. Zur Bewertung möglicher Risiken für Oberflächengewässer sind ökologische bzw. ökotoxikologische Folgestudien erforderlich. Ferner ist das Vorkommen der anti-östrogenen Aktivitäten in den beprobten Grundwasserhotspots in der Nähe von Altlasten und Deponien zu klären. Eine weitergehende Behandlung des konventionell gereinigten Abwassers scheint empfehlenswert.

3.3 Aufklärung des Abbauverhaltens organischer Spurenstoffe

In dem BMBF-Projekt TransRisk lag ein besonderes Augenmerk auf der Identifizierung und der Quantifizierung von TPs, die durch den Abbau/Umbau von anthropogenen Spurenstoffen z. B. in der biologischen Abwasserreinigung, aber auch bei oxidativen Verfahren wie der Ozonung, entstehen. So war es möglich, für ausgewählte Arzneistoffe biologische und chemisch-oxidative Abbauewege aufzuklären.

Zur Aufklärung des Abbauverhaltens der ausgewählten Spurenstoffe in der biologischen Abwasserreinigung wurden im Labor Abbaustudien durchgeführt. Hierfür wurde Klärschlamm aus der Belebtschlammstufe der Kläranlage Koblenz verwendet und mit gereinigtem Abwasser im Verhältnis 1:10 verdünnt. Die Versuchsansätze wurden permanent gerührt und mit einem Gemisch aus Luft und CO₂ begast, um oxische Bedingungen sowie einen konstanten pH-Wert ($7,2 \pm 0,2$) zu gewährleisten. In gleicher Weise wurden Studien zum Abbauverhalten in Schnellsandfiltern mit Sandfiltermaterial aus einer Trinkwasseraufbereitungsanlage durchgeführt. Zur Bestimmung der Abbaukinetiken wurden die Analyten in umweltrelevanten Konzentrationen (10 µg/L) dosiert und ihre Entfernung mittels einer Kombination aus Flüssigkeitschromatografie mit Massenspektrometrie (LC Tandem MS) bestimmt. Zur Identifizierung der gebildeten Transformationsprodukte kamen parallele Ansätze mit hohen Analyt-Konzentrationen (10 mg/L – 200 mg/L) zum Einsatz.

3.3.1 Beispiel Allopurinol/Oxypurinol

Das Urikostatikum Allopurinol, welches gegen Gicht eingesetzt wird, gehört in Deutschland zu den meistverschriebenen Arzneimitteln mit Verschreibungsmengen von ca. 130 t/a (Arzneiverordnungsreport, 2012). Zudem gehört Allopurinol seit 1977 zur Liste der unentbehrlichen Arzneimittel der Weltgesundheitsorganisation. Allopurinol wird bereits im Körper zu > 90 % zu den Hauptprodukten Oxypurinol sowie Allopurinol- und Oxypurinol-Ribosid metabolisiert, welches mit dem Urin ausgeschieden wird. Des Weiteren wird Allopurinol in geringerem Maße auch als Ribosid-Konjugat ausgeschieden. Aufgrund der weitreichenden Metabolisierung wurde Allopurinol trotz der hohen Verschreibungsmengen in Kläranlagenzuläufen nur in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen. Für Oxypurinol lagen hingegen noch keinerlei Daten zu dessen Vorkommen vor.

Die weitreichende Metabolisierung von Allopurinol zu Oxypurinol und Ribosid-Konjugaten (s. Bild 3) konnte durch Messungen in Kläranlagenzuläufen bestätigt werden. Die Konzentrationen von Oxypurinol lagen hierbei im Konzentrationsbereich von bis zu 20 µg/L. Im Vergleich dazu war die Ausgangssubstanz Allopurinol nur in wenigen der untersuchten Abwässer in Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze nachweisbar. Gleiches gilt für die Ribosid-Konjugate. Dies verdeutlicht, wie wichtig es ist, bei der Untersuchung von Arzneimitteln die Bildung von TPs zu berücksichtigen.

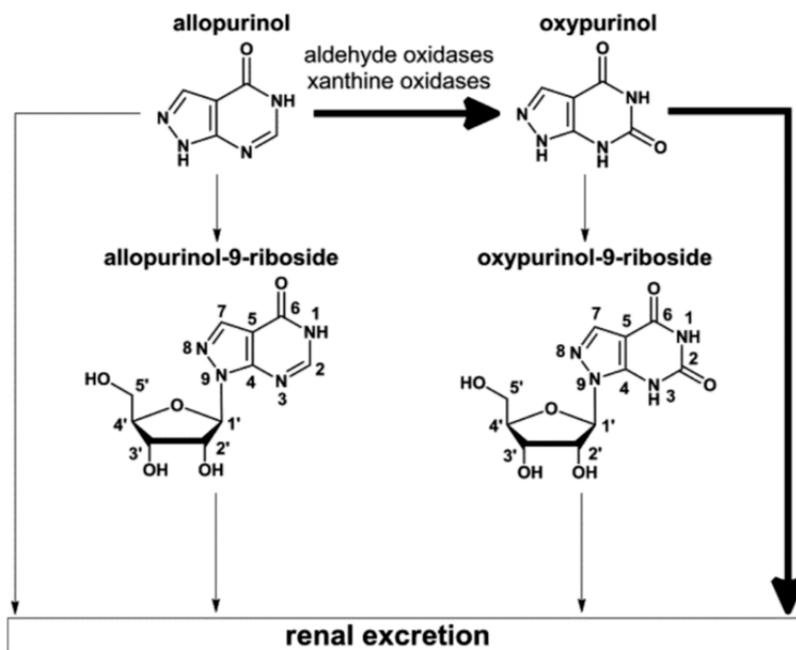


Bild 3: Metabolismus von Allopurinol im menschlichen Körper und anschließende Ausscheidung mit Urin

In Laborstudien mit Klärschlamm konnte gezeigt werden, dass es in der biologischen Abwasserreinigung ebenfalls zu einer Umwandlung von Allopurinol zu Oxypurinol kommt (FUNKE et al. 2015). Weiterhin ergaben Experimente mit Allopurinol-9-Ribosid, dass diese Konjugate in Kontakt mit Klärschlamm gespalten werden, sodass Allopurinol freigesetzt und sofort zu Oxypurinol weitertransformiert wird (siehe Bild 4). Dieses Beispiel verdeutlicht die Bedeutung, Humanmetabolite bei der Untersuchung von Spurenstoffen zu berücksichtigen, da diese z. B. durch Rücktransformation in die Ausgangsverbindung einen entscheidenden Einfluss auf die Gesamt-Massenbilanz eines Stoffes in der Abwasserreinigung haben können.

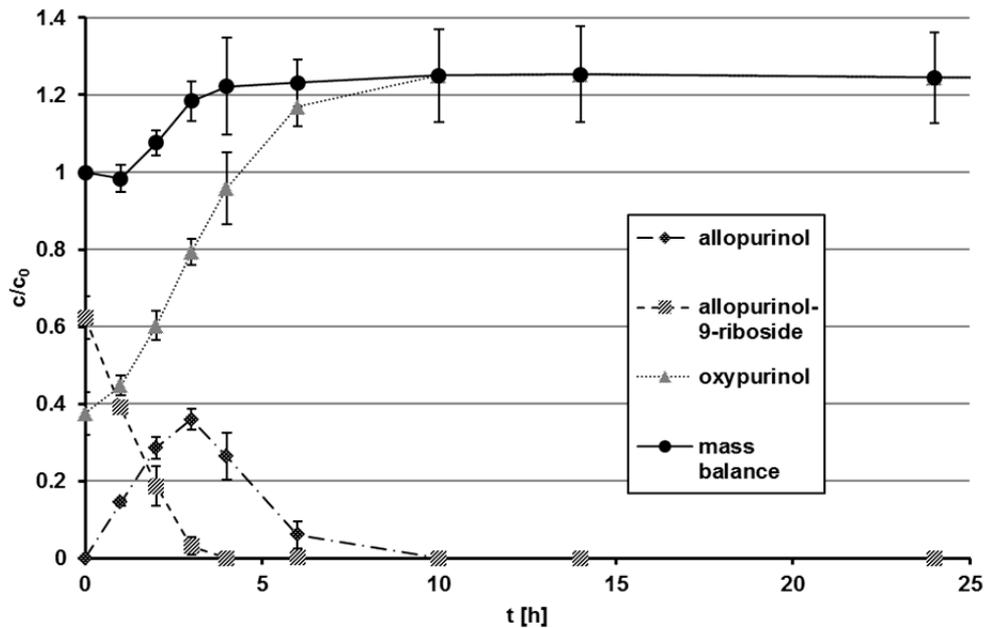


Bild 4: Massenbilanz des Abbaus von Allopurinol-9-Ribosid ($100 \mu\text{g L}^{-1}$) in Batch-Versuchen mit Belebtschlamm (Schlammverdünnung 1:5 mit Kläranlagenablauf)

Oxypurinol als neuer Abwassermarker

Aufgrund der hohen Konzentrationen in Kläranlagenabläufen, Oberflächengewässern und Grundwässern wurde zudem die Eignung von Oxypurinol als Abwassermarker näher untersucht. Hierzu wurde eine Korrelationsanalyse von Oxypurinol mit anderen bekannten Abwassermarkern (u. a. Carbamazepin, Acesulfam, Benzotriazol und Iopromid) durchgeführt (Bild 5).

Die hohen Korrelationen zwischen Oxypurinol und den Antiepileptika Carbamazepin ($r^2 = 0,89$) und Primidon ($r^2 = 0,82$) bestätigen die gute Eignung von Oxypurinol als Abwassermarker für Oberflächengewässer. Die hohe Übereinstimmung der genannten Verbindungen lässt sich auf die hohen Konzentrationen, ihren kontinuierlichen Eintrag durch die Anwendung bei chronischen Erkrankungen und ihre hohe biologische Persistenz zurückführen.

Im Gegensatz dazu weisen die mäßigen Korrelationen von Oxypurinol mit dem Süßstoff Acesulfam ($r^2 = 0,65$) und dem Röntgenkontrastmittel Diatrizoat ($r^2 = 0,40$) auf den starken Einfluss zeitlicher Schwankungen hin, da insbesondere für Diatrizoat bekannt ist, dass die Emissionen einen deutlichen Wochengang zeigen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Oxypurinol ein guter Marker für abwasserbeeinflusste Gewässer darstellt.

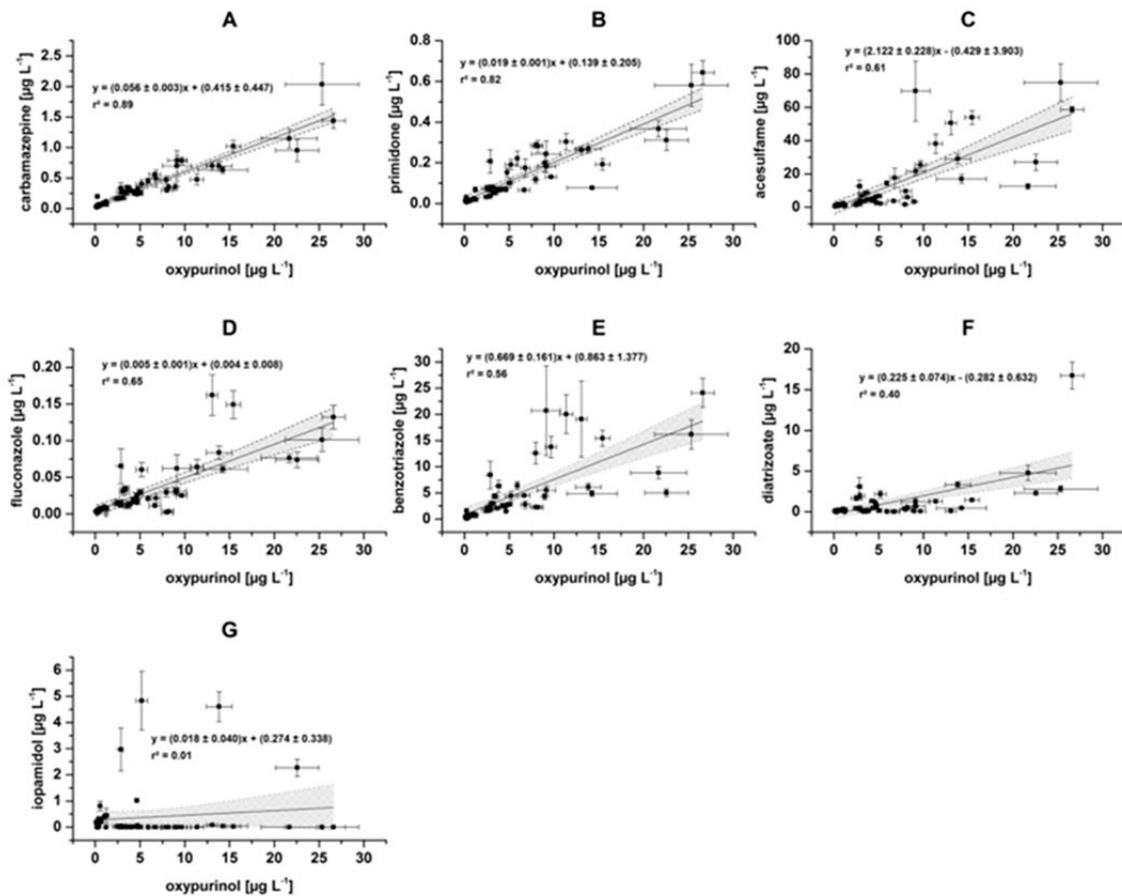


Bild 5: Lineare Regression der Konzentrationen verschiedener Indikatorsubstanzen gegen Oxypurinol

3.3.2 Beispiel Carbamazepin, Oxcarbazepin und deren Humanmetaboliten

Obwohl das Antiepilektikum Carbamazepin (CBZ) bereits im menschlichen Körper zu etwa 70 % in mehr als 30 verschiedene Humanmetabolite umgewandelt wird (MIAO et al. 2005), ist es eines der am häufigsten detektierten Pharmazeutika im urbanen Wasserkreislauf, was sowohl auf die relativ hohen Verschreibungsmengen von 47 t (bei einer Tagesdosis von 1 g) allein in Deutschland im Jahr 2011 (SCHWABE 2012; WHO 2015) als auch auf seine hohe Persistenz in konventionellen Kläranlagen und in der aquatischen Umwelt zurückzuführen ist. So findet es sich sowohl in behandeltem Abwasser als auch in Oberflächenwasser in Konzentrationen von teilweise mehreren $\mu\text{g/L}$ (METCALFE et al. 2003; FEITOSA-FELIZZOLA et al. 2009; TERNES 1998). Unterschiedliche Studien belegen, dass die Ozonung eine vielversprechende Option zur Entfernung von CBZ darstellt. Es kommt hier allerdings wie auch bei der Chlorung zur Bildung weiterer Transformationsprodukte (MCDOWELL et al. 2005, SOUFAN et al. 2013).

Nur ein geringer Teil (ca. 30 %) von CBZ wird in Urin und Fäzes als unveränderte Wirksubstanz ausgeschieden. Zu den Metaboliten mit den höchsten Konzentrationen im Urin gehören 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxy-CBZ (DiOHCBZ), 2-Hydroxy-CBZ (2OHCBZ), Oxcarbazepin (OXC), 3-Hydroxy-CBZ (3OHCBZ) und das N-Glucuronid-Konjugat von CBZ (Bild 6). Letzteres kann in der biologischen Abwasserreinigung zu CBZ zurücktransformiert werden. Da OXC ebenfalls eine antiepileptische Wirkung aufweist, wird es auch als Medikament eingesetzt (Verschreibungsmenge 2012: 12,8 t). Einige der CBZ Metabolite konnten in Kläranlagenzu- und -abläufen nachgewiesen werden (BAHLMANN et al. 2014), jedoch ist bislang nichts über deren Verbleib in der Abwasserreinigung und der aquatischen Umwelt bekannt.

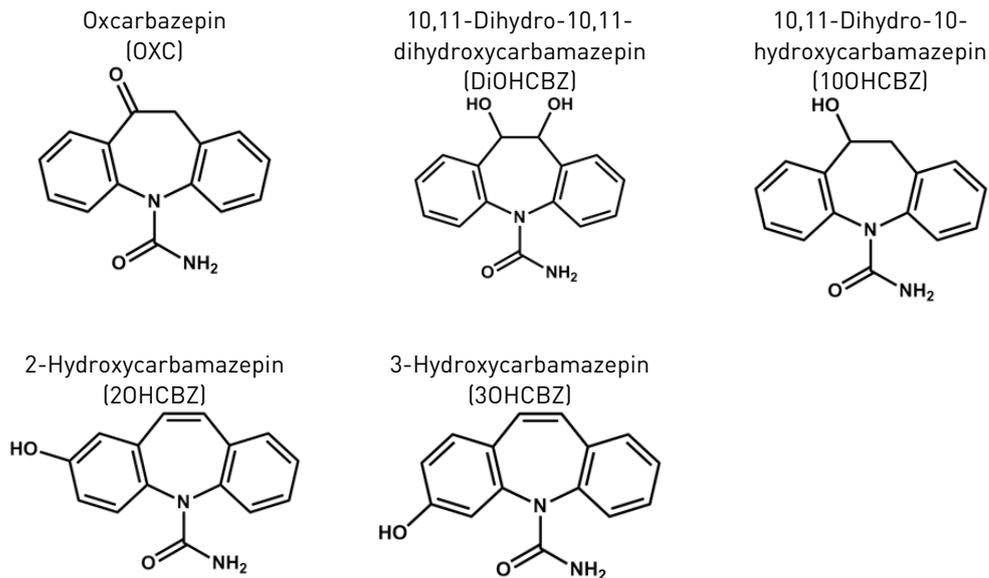


Bild 6: Chemische Strukturen der Humanmetabolite von Carbamazepin und Oxcarbazepin

Biologischer Abbau der Carbamazepin-Metaboliten und von Oxcarbazepin

Der biologische Abbau der von kommunalen Kläranlagen emittierten Carbamazepin-Metaboliten wurde in Laborsystemen untersucht (KAISER et al. 2014). Während für OXC in den Experimenten mit Klärschlamm und Sandfiltermaterial ähnliche Halbwertszeiten ($2,5 \pm 0,1$ und $1,4 \pm 0,4$) beobachtet wurden, wurden für DiOHCBZ ($37,1 \pm 4,0$ und $12,0 \pm 0,4$) und 10OHCBZ ($5,9 \pm 3,0$ und $28,4 \pm 3,0$) deutliche Unterschiede festgestellt. Der Abbau erfolgte überwiegend nach einer Kinetik erster Ordnung, nur bei 10OHCBZ wurde in Kontakt mit Sandfiltermaterial über einen Zeitraum von 14 Tagen kein Abbau mit einem anschließenden Abbau nullter Ordnung beobachtet. Für 2OHCBZ und 3OHCBZ wurden in den Versuchen mit Sandfiltermaterial ein deutlich schnellerer Abbau erster Ordnung mit Halbwertszeiten von ($1,6 \pm 0,1$) d und ($0,6 \pm 0,1$) d beobachtet. In den Laborexperimenten mit verdünntem Belebtschlamm (Belebtschlamm/Kläranlagenablauf im Verhältnis 1:10) wurden 2OHCBZ und 3OHCBZ nur zu 60 % bzw. 80 % abgebaut, die Halbwertszeit war nach $11,3 \pm 0,8$ und $3,4 \pm 0,2$ Tagen erreicht.

Trotz ihrer unterschiedlichen Strukturen wurde während des Abbaus von OXC, DiOHCBZ und 10OHCBZ die Bildung der gleichen TPs beobachtet (Bild 7). Die Haupttransformationsprodukte, die identifiziert werden konnten, waren: BaQD, ADON sowie 9-CA-ADIN. Allein in der Häufigkeit der jeweiligen TPs in Bezug auf ihre Ausgangssubstanz wurden Unterschiede deutlich. Für DiOHCBZ wurde mit Sandfiltermaterial BaQD als Haupttransformationsprodukt beobachtet, während mit Klärschlamm vorwiegend die Bildung von 9-CA-ADIN beobachtet wurde. Im Gegensatz hierzu wurde für 10OHCBZ in Kontakt mit Sandfiltermaterial nur eine geringe Bildung von BaQD und 9-CA-ADIN beobachtet, während sie in den Versuchen mit Klärschlamm deutlicher hervortraten. Zusätzlich wurde die Bildung von OXC beobachtet. Der Abbau von OXC ist in beiden Versuchsansätzen ähnlich: Zunächst war die rasche Bildung und dann der Abbau von 9-CA-ADIN erkennbar und der langsame Anstieg von BaQD. Während die meisten beschriebenen Reaktionen biologisch bedingt sind, konnte die Reaktion von OXC zu 9-CA-ADIN auch unter sterilen Bedingungen beobachtet werden und ist daher vermutlich auf eine abiotische Reaktion zurückzuführen.

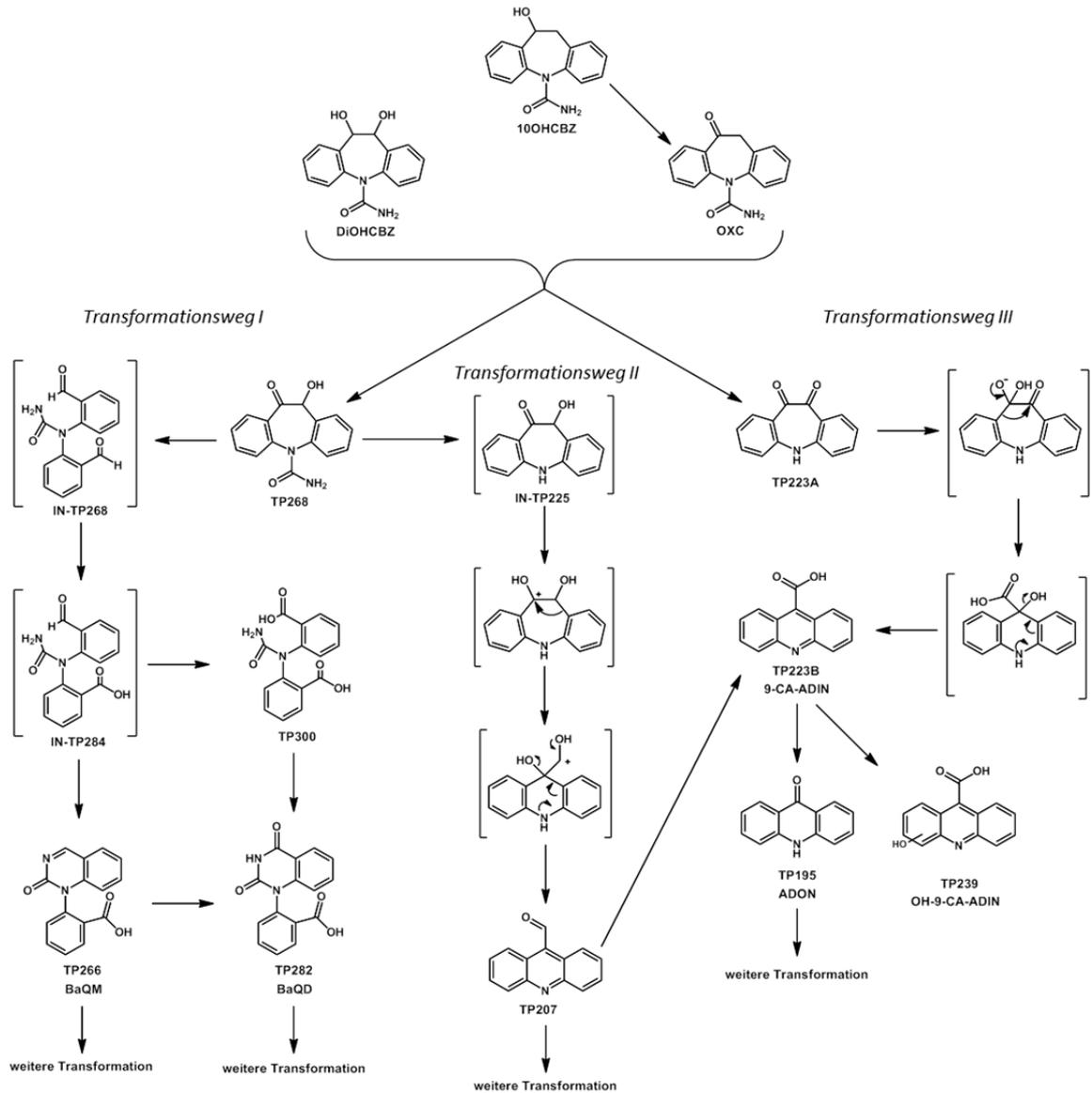


Bild 7: Biotransformationsweg von Oxcarbazepin (OXC) und der Carbamazepin-Metabolite 10OH-Carbamazepin (10OHCBZ) und 10,11-Dihydro-dihydroxy-Carbamazepin (DiOHCBZ) in Klärschlamm und Sandfiltermaterial

Für 20HCBZ und 30HCBZ wurden trotz ihrer sehr ähnlichen Struktur unterschiedliche Reaktionen in den Abbauprobeversuchen mit dem Sandfiltermaterial beobachtet (Bild 8) (BREZINA et al. 2015). Während für 20HCBZ die Bildung von CBZ-IQ und Nitroverbindungen beobachtet wurde, konnte für 30HCBZ, bedingt durch die Entstehung von 30HCBZ Radikalen, hauptsächlich die Bildung von Dimeren detektiert werden. In den Experimenten mit Klärschlamm waren keine TPs messbar, was vermutlich durch die hohe Reaktivität der Primärabbauprodukte von 20HCBZ und 30HCBZ mit der hohen Hintergrundbelastung des Kläranlagenwassers verursacht wird.

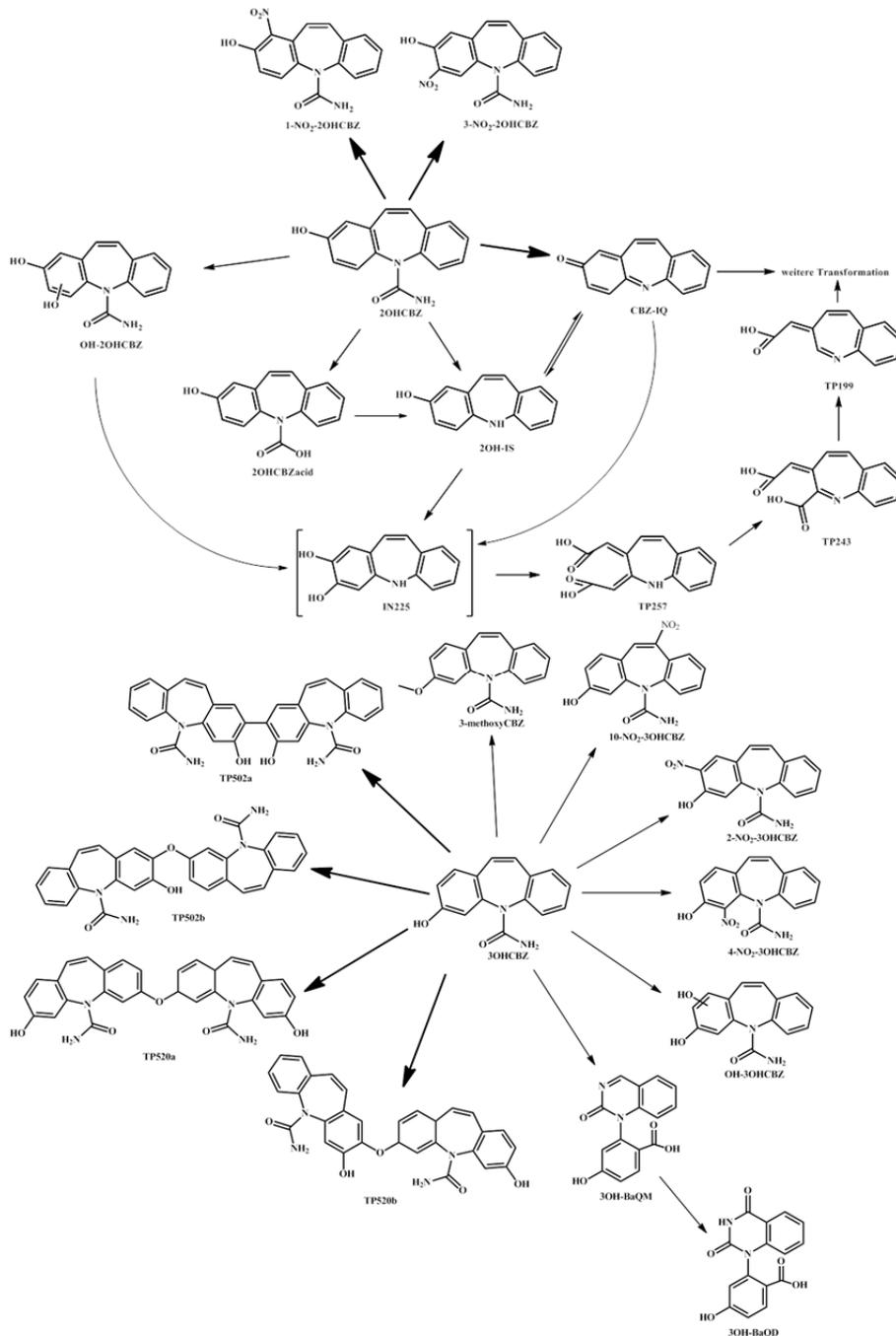


Bild 8: Biotransformation von 2-OH-Carbamazepin (2OHCBZ) und 3-OH-Carbamazepin (3OHCBZ) in Kontakt mit Sandfiltermaterial

Vorkommen in der Umwelt

Um das Vorkommen von Carbamazepin, Oxcarbazepin und deren Humanmetaboliten und TPs im Hessischen Ried zu untersuchen, wurden insgesamt 28 kleinere, mittlere und große Fließgewässer beprobt. Carbamazepin konnte in allen untersuchten Proben in Konzentrationen zwischen 0,02 und 1,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ nachgewiesen werden (Tabelle 2). Dies bestätigt die Ergebnisse vorangegangener Studien und verdeutlicht die hohe biologische Stabilität von Carbamazepin. Die Konzentrationen von Oxcarbazepin, einem Metaboliten von Carbamazepin der aber auch selbst als Antiepileptikum eingesetzt wird, sowie 10OHCBZ und epCBZ waren mit maximalen Konzentrationen von 0,57, 0,43 bzw. 0,079 $\mu\text{g L}^{-1}$ geringer. Diese Substanzen konnten jedoch auch in den meisten Oberflächengewässern des hessischen Rieds nachgewiesen werden.

Tabelle 2: Konzentrationen von Carbamazepin, Oxcarbazepin, deren Humanmetabolite Dihydro-dihydroxy-CBZ, 10-Hydroxy-CBZ, epoxy-CBZ, 1-, 2, 3-Hydroxy-CBZ sowie ihrer Biotransformationsprodukte BaQD, 9-CA-ADIN und ADIN in ausgewählten Oberflächengewässern im Hessischen Ried

	CBZ	OXC	DiOHCBZ	100H-CBZ	epCBZ	1/20H-CBZ	30H-CBZ	BaQD	9-CA-ADIN	ADIN
1	0,16 ± 0,02	<LOQ	0,21 ± 0,02	0,075 ± 0,008	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
2	1,01 ± 0,01	<LOQ	1,40 ± 0,20	0,132 ± 0,006	0,05 ± 0,01	0,071 ± 0,002	0,042 ± 0,002	0,23 ± 0,01	0,150 ± 0,006	0,065 ± 0,003
3	0,95 ± 0,03	0,025 ± 0,004	1,37 ± 0,07	0,12 ± 0,01	0,057 ± 0,004	0,083 ± 0,002	0,072 ± 0,003	0,29 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,060 ± 0,004
4	1,15 ± 0,03	<LOQ	1,45 ± 0,09	0,14 ± 0,01	0,065 ± 0,006	0,094 ± 0,006	0,080 ± 0,002	0,22 ± 0,02	0,100 ± 0,001	0,066 ± 0,008
5	0,89 ± 0,04	0,127 ± 0,003	1,51 ± 0,09	0,16 ± 0,01	0,053 ± 0,006	0,094 ± 0,003	0,083 ± 0,007	0,19 ± 0,02	0,147 ± 0,05	0,039 ± 0,003
6	1,43 ± 0,02	0,44 ± 0,01	1,70 ± 0,30	0,26 ± 0,02	0,074 ± 0,004	0,15 ± 0,01	0,160 ± 0,008	0,41 ± 0,01	0,087 ± 0,05	0,095 ± 0,001
7	1,64 ± 0,03	0,57 ± 0,07	2,30 ± 0,30	0,43 ± 0,03	0,079 ± 0,005	0,190 ± 0,005	0,22 ± 0,04	0,33 ± 0,02	0,148 ± 0,07	0,043 ± 0,009
8	1,07 ± 0,05	0,05 ± 0,01	1,31 ± 0,05	0,13 ± 0,04	0,060 ± 0,006	0,089 ± 0,006	0,079 ± 0,005	0,19 ± 0,03	0,129 ± 0,009	0,07 ± 0,02
9	0,091 ± 0,004	<LOQ	0,056 ± 0,002	n.b.	n.b.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.b.	n.b.
10	0,025 ± 0,002	<LOQ	0,034 ± 0,004	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
11	0,021 ± 0,002	<LOQ	0,026 ± 0,008	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
12	1,23 ± 0,05	0,089 ± 0,003	1,60 ± 0,10	0,115 ± 0,009	0,063 ± 0,005	0,120 ± 0,004	0,122 ± 0,007	0,22 ± 0,01	0,111 ± 0,003	0,048 ± 0,004
13	1,13 ± 0,04	0,19 ± 0,02	1,50 ± 0,10	0,12 ± 0,01	0,060 ± 0,003	0,144 ± 0,001	0,149 ± 0,001	0,22 ± 0,03	0,103 ± 0,009	0,08 ± 0,01
14	0,184 ± 0,003	0,027 ± 0,003	0,30 ± 0,01	0,200 ± 0,005	<LOQ	0,023 ± 0,001	0,019 ± 0,002	0,011 ± 0,001	0,032 ± 0,002	n.b.
15	0,170 ± 0,004	0,028 ± 0,005	0,28 ± 0,02	0,14 ± 0,01	<LOQ	0,022 ± 0,002	0,020 ± 0,002	0,011 ± 0,002	0,027 ± 0,002	n.b.
16	0,095 ± 0,003	0,008 ± 0,001	0,15 ± 0,01	0,093 ± 0,002	n.b.	0,01 ± 0,001	<LOQ	<LOQ	0,013 ± 0,005	n.b.
17	0,15 ± 0,01	0,023 ± 0,002	0,22 ± 0,04	0,14 ± 0,01	<LOQ	0,018 ± 0,002	0,016 ± 0,001	<LOQ	0,020 ± 0,008	n.b.
18	0,032 ± 0,002	<LOQ	0,041 ± 0,005	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
19	0,12 ± 0,01	<LOQ	0,16 ± 0,02	0,07 ± 0,02	n.b.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.b.	<LOQ
20	0,111 ± 0,001	<LOQ	0,16 ± 0,02	0,058 ± 0,005	n.b.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.b.	<LOQ
21	0,018 ± 0,001	<LOQ	0,268 ± 0,004	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
22	0,026 ± 0,004	<LOQ	0,37 ± 0,001	0,011 ± 0,004	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
23	0,028 ± 0,001	<LOQ	0,04 ± 0,01	0,010 ± 0,002	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
24	0,244 ± 0,005	<LOQ	0,32 ± 0,07	0,074 ± 0,004	n.b.	0,016 ± 0,001	0,013 ± 0,001	n.b.	<LOQ	<LOQ
25	1,17 ± 0,09	0,44 ± 0,03	1,80 ± 0,07	0,41 ± 0,01	0,063 ± 0,002	0,125 ± 0,008	0,119 ± 0,008	0,20 ± 0,01	0,116 ± 0,004	0,07 ± 0,02
26	0,030 ± 0,003	<LOQ	0,037 ± 0,009	0,010 ± 0,003	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ
27	0,208 ± 0,004	<LOQ	0,29 ± 0,01	0,10 ± 0,01	<LOQ	0,014 ± 0,001	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
28	0,032 ± 0,001	<LOQ	0,039 ± 0,009	0,010 ± 0,001	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	<LOQ

ANMERKUNGEN
 Carbamazepin (CBZ), Oxcarbazepin (OXC), Humanmetabolite Dihydro-dihydroxy-CBZ [DiOHCBZ], 10-Hydroxy-CBZ (100HCBZ), epoxy-CBZ (epCBZ), 1-, 2, 3-Hydroxy-CBZ (1/20HCBZ, 30HCBZ) BaQD, 9-CA-ADIN und ADIN in ausgewählten Oberflächengewässern im Hessischen Ried (<LOQ: Konzentration unterhalb der Bestimmungsgrenze; n. b.: nicht bestimmt)

3.3.3 Beispiel Antivirenmittel

Antivirenmittel werden vor allem gegen Herpes, Hepatitis B und HIV eingesetzt. Zu der wichtigsten Wirkstoffgruppe gehören hierbei die nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI), zu denen Lamivudin, Emtricitabin, Abacavir und Zidovudin mit Verschreibungsmengen < 1 t/a in Deutschland (Arzneiverordnungsreport) zählen. Zu den Antivirenmitteln für die Behandlung von Herpes-Infektionen gehören Acyclovir und Ganciclovir. Die Verschreibungsmenge von Acyclovir liegt mit > 10 t/a deutlich über den der genannten NRTI. Darüber hinaus ist Acyclovir in Cremes < 2 g auch ohne Rezept verfügbar, sodass die tatsächlich verwendeten Mengen deutlich höher sind.

In den Abbauprobungen mit Klärschlamm konnte eine Eliminierung aller Antivirenmittel beobachtet werden. Abacavir zeigte die schnellste Umsetzung mit einer Halbwertszeit von 0,4 h, während die Halbwertszeiten der anderen Antivirenmittel zwischen 8 h (Lamivudin) und 54 h (Zidovudin) lagen (Bild 9) (FUNKE et al. 2016). Die Ergebnisse lassen somit auf eine signifikante Reduktion aller untersuchten Antivirenmittel in der biologischen Abwasserreinigung schließen. Dies konnte durch die Analyse einer Reihe von Kläranlagenzu- und -abläufen bestätigt werden.

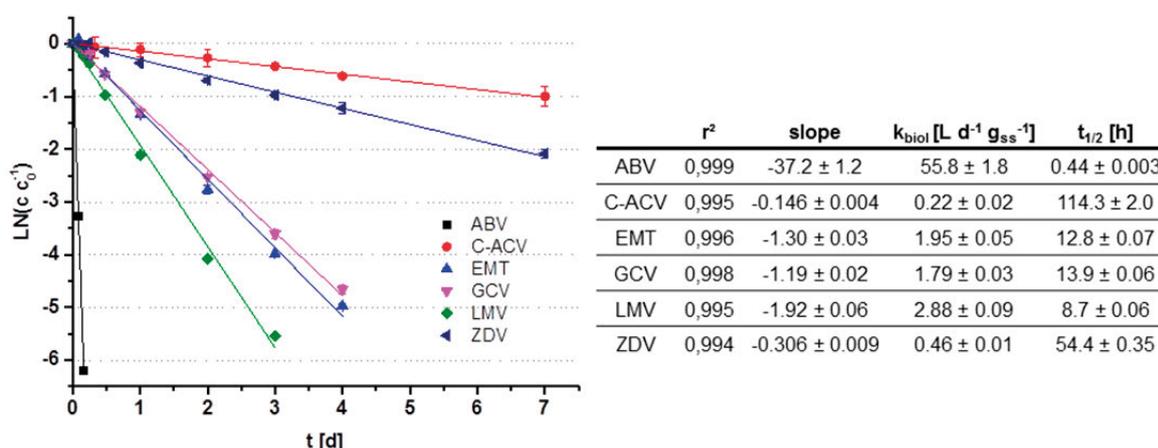


Bild 9: Abbau der Virostatika Abacavir (ABV), Emtricitabin (EMT), Ganciclovir (GCV), Lamivudin (LMV) und Zidovudin (ZDV) in Klärschlamm bei einer Konzentration von $10 \mu\text{g/L}$; links sind die linearen Regressionen des Abbaus dargestellt, rechts die entsprechenden Steigungen, Reaktionskonstanten und Halbwertszeiten

Wie in den weiteren Untersuchungen gezeigt, kommt es beim Abbau der untersuchten Antivirenmittel zur Bildung unterschiedlicher TPs (Bild 10). Die Oxidation von primären Alkoholen zu den korrespondierenden Säuren stellt den Haupttransformationsweg aller untersuchter Virostatika (Abacavir, Emtricitabin, Ganciclovir, Lamivudin, Zidovudin) dar. Ein ähnliches Verhalten wurde auch für das Herpes-Medikament Acyclovir beobachtet (PRASSE et al. 2011). Weiterhin wurden für Lamivudin und Emtricitabin die Bildung von S-Oxiden, für Abacavir die Abspaltung der Cyclopropylgruppe und für Zidovudin die Hydroxylierung in β -Stellung zur Azid-Gruppe beobachtet. Für Ganciclovir wurde neben der Oxidation beider OH-Gruppen der Seitenkette zur Dicarbonsäure auch eine Acetatabspaltung beobachtet. Diese führt zur Bildung von Carboxy-Acyclovir, dem Haupttransformationsprodukt des Herpes-Medikamentes Acyclovir.

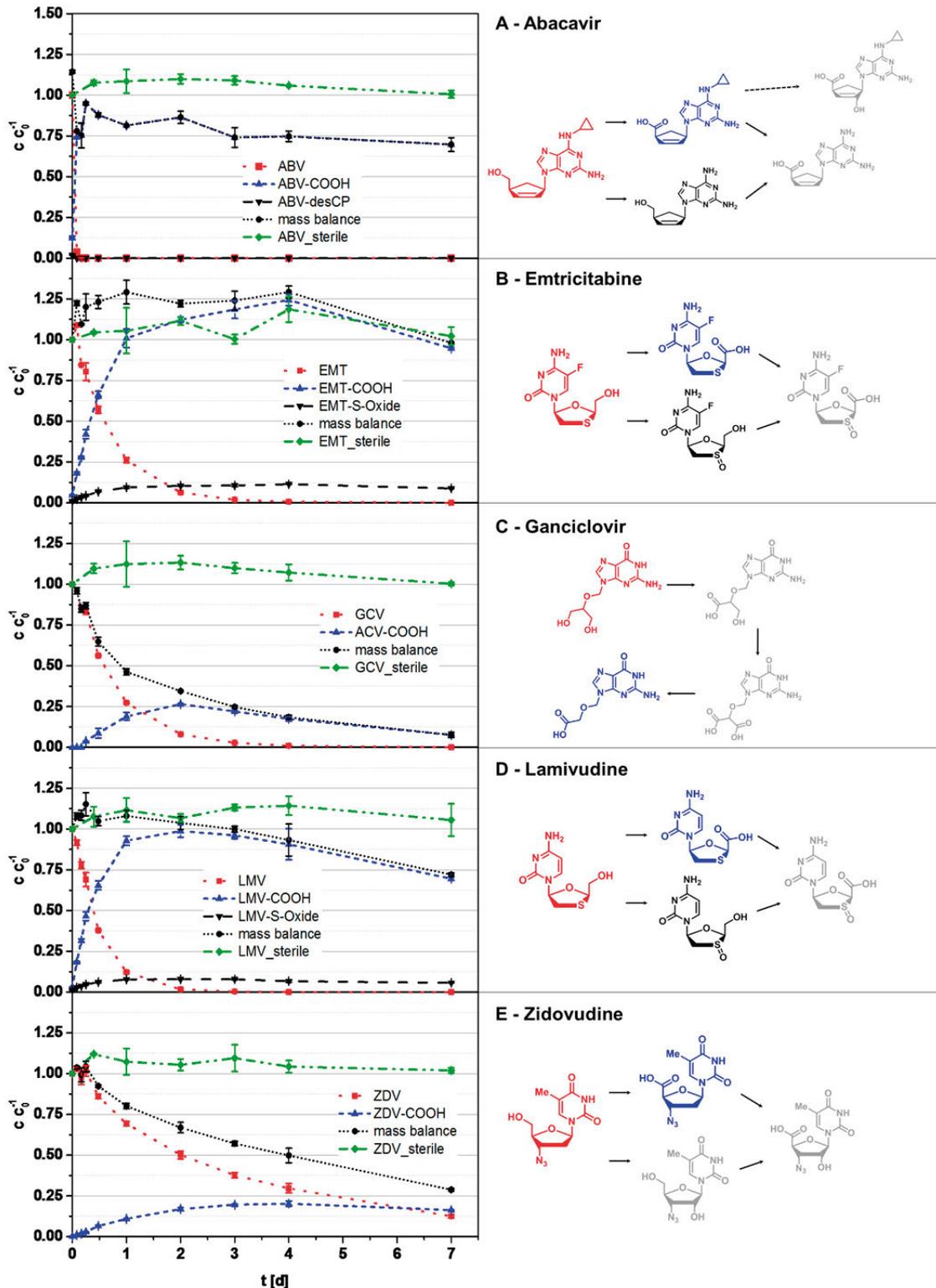


Bild 10: Transformation der untersuchten Antivirenmittel ($c_0 = 10 \mu\text{g L}^{-1}$) in Laborstudien mit Belebtschlamm und Bildung der identifizierten Transformationsprodukte

Vorkommen in der Umwelt

Das Vorkommen von Antivirenmitteln in Kläranlagenzu- und -abläufen in der Modellregion Donauried wurde im Jahr 2013 in zwei Probenahmenkampagnen (Juli & Oktober 2013) untersucht. Hierfür wurden die Zu- und Abläufe von insgesamt vier Kläranlagen analysiert. Um tageszeitliche Schwankungen kompensieren zu können und repräsentative Aussagen treffen zu können, wurden die Proben als 24h-Mischproben entnommen. Des Weiteren wurden die Zuläufe zweier Kliniken (Klinik Ulm und Klinik

Langenau) als mögliche ‚Hotspots‘ für den Eintrag von Arzneimitteln untersucht. Die Antivirenmittel wurden mittels Festphasenextraktion (SPE) aus den wässrigen Matrices extrahiert und im Anschluss mittels Flüssigchromatografie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) quantifiziert.

In den Kläranlagenabläufen konnten von den untersuchten Antivirenmitteln Acyclovir, Lamivudin, Nevirapin und Zidovudin detektiert werden (Bild 11). Während Acyclovir in den Zu- und Abläufen aller untersuchten Kläranlagen in Konzentrationen bis zu $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ detektiert wurde, waren Lamivudin, Nevirapin und Zidovudin im Juni 2013 nur in der Kläranlage Langenau und Steinhäule sowie im Oktober 2013 nur in der Kläranlage Steinhäule über der Bestimmungsgrenze nachweisbar. Zudem waren die Konzentrationen dieser Antivirenmittel im Vergleich zu Acyclovir deutlich geringer ($< 100 \text{ ng L}^{-1}$). Das Vorkommen der genannten Antivirenmittel in den Kläranlagenabläufen verdeutlicht, dass diese nur unzureichend in der konventionellen Abwasserbehandlung entfernt werden. Besonders bemerkenswert waren außerdem die sehr hohen Konzentrationen von Acyclovir im Abwasser der Klinik Ulm, die oberhalb von $20 \mu\text{g L}^{-1}$ lagen.

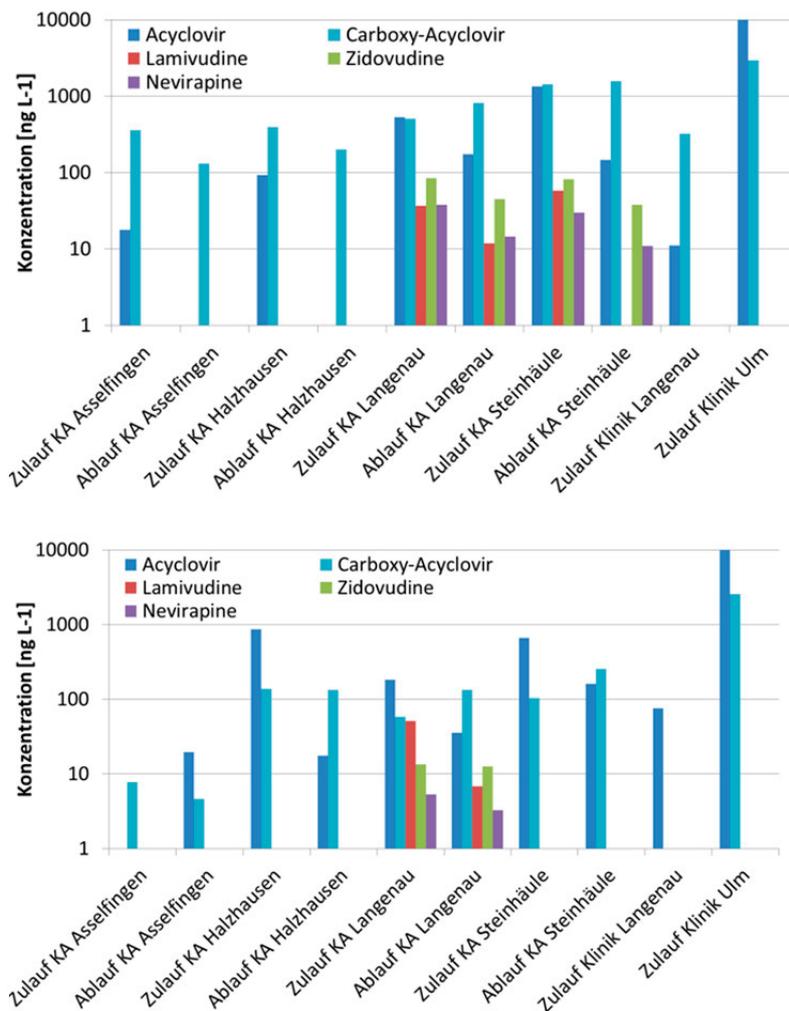


Bild 11: Konzentrationen der Antivirenmittel in den untersuchten Kläranlagen (KA) sowie den beiden Klinikabwässern in der Modellregion Donauried im Juni 2013 (oben) und Oktober 2013 (unten)

Neben den Antivirenmitteln wurde auch das biologische Transformationsprodukt (TP) Carboxy-Acyclovir in allen Zu- und Abläufen der untersuchten Kläranlagen detektiert. Carboxy-Acyclovir bildet sich in der biologischen Abwasserreinigung (Nitrifikation) aus Acyclovir. Wie auch für Acyclovir wurden die höchsten Konzentrationen von Carboxy-Acyclovir im Zulauf der Klinik Ulm gemessen. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass Carboxy-Acyclovir zu geringen Teilen bereits im menschlichen Körper als Metabolit von Acyclovir gebildet wird. Die hohen Konzentrationen von Carboxy-Acyclovir in den Kläranlagenausläufen verdeutlichen die Bedeutung der TPs bei der Untersuchung

anthropogener Spurenstoffe, da diese häufig eine hohe Stabilität aufweisen und durch ihre oft höhere Polarität potenziell grund- und trinkwassergängig sind.

3.3.4 Beispiel Biozide

Irgarol (Cybutryn) und Terbutryn gehören zu den s-Triazininen und werden als biozide Wirkstoffe verwendet. Irgarol wird als Algizid in Antifoulingfarben u. a. für Bootsanstriche eingesetzt, um den Aufwuchs durch Algen zu verhindern. Terbutryn und Irgarol werden zudem in Fassadenanstrichen sowie als Herbizid verwendet. Die auf Oberflächen eingesetzten Antifoulinganstriche entfalten ihre aufwuchshemmende Wirkung, indem sich der biozide Wirkstoff kontinuierlich aus der Farbe löst. Aus dem umgebenden Wasser werden die Biozide von Organismen aufgenommen. Ein Auswaschen (Leaching) der bioziden Wirkstoffe Irgarol und Terbutryn ist daher gewollt. Über die Schwemmkanalisation gelangen die Biozide in kommunale Kläranlagen (KA), von wo sie aufgrund der unvollständigen Eliminierung in die Gewässer emittiert werden. Zusätzlich wird Irgarol diffus durch Leaching von Schiffsrümpfen in die Fließgewässer eingetragen. Irgarol und Terbutryn sind hochtoxisch für höhere Pflanzen, Algen und aquatische Aufwuchsorganismen, indem sie die Photosynthese hemmen. Zusätzlich werden sie als biologisch schwer abbaubar eingestuft.

Das Verhalten der Biozide Irgarol und Terbutryn wurde in Kontakt mit Klärschlamm analysiert (LUFT et al. 2014). Dabei wurden aerobe Abbauprobe mit Klärschlamm und gereinigtem Abwasser aus der Kläranlage Koblenz durchgeführt. Die Abbaukurven für Irgarol und Terbutryn in umweltrelevanten Konzentrationen sind in Bild 12 dargestellt. Hierbei ist eine stetige Abnahme der Konzentration über die Zeit erkennbar. Beide Kurven können mit einer Kinetik pseudo 1. Ordnung beschrieben werden. Die biologischen Transformationskonstanten sind mit $k_{\text{biol}} = 0.9 \pm 0.1 \text{ L g}_{\text{ss}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ für Irgarol und $k_{\text{biol}} = 0.8 \pm 0.1 \text{ L g}_{\text{ss}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ für Terbutryn vergleichbar. Die entsprechenden Halbwertszeiten von $t_{1/2} = 2 \text{ d}$ verdeutlichen, dass in der Kläranlage nur eine Teilelimination zu erwarten ist.

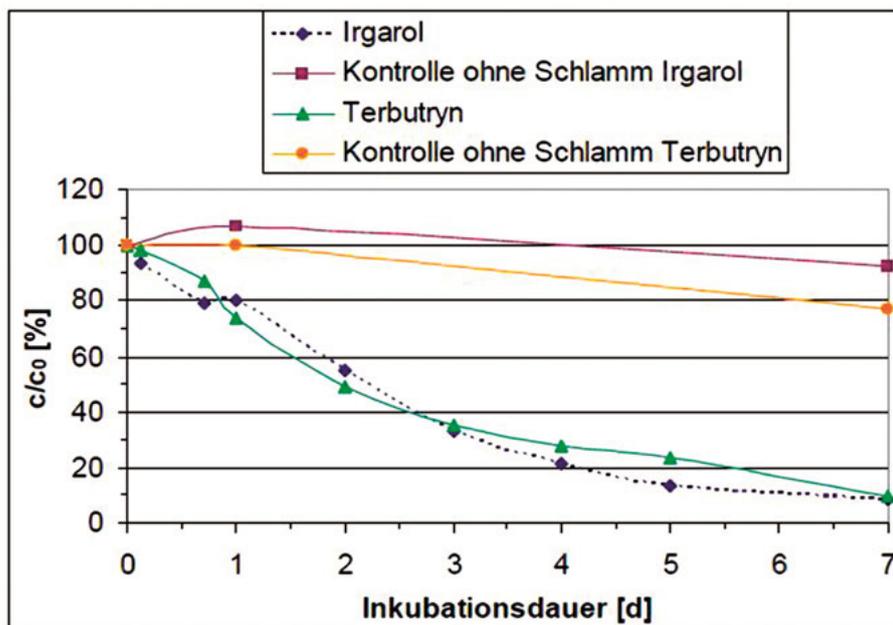


Bild 12: Eliminierung von Irgarol [dotiert $2 \mu\text{g L}^{-1}$] in Belebtschlamm der Kläranlage Koblenz (Klärschlamm wurde 1/10 mit Kläranlagenablauf verdünnt)

Sowohl für Irgarol als auch für Terbutryn konnte in den aeroben Laboransätzen mit Belebtschlamm die Bildung eines mengenmäßig bedeutenden TP beobachtet werden, nämlich Irgarol TP269 und Terbutryn TP257. In beiden Fällen handelt es sich um eine einfache Oxidation des Ausgangsstoffes, in dem sich die Summenformel um ein Sauerstoffatom erhöht (siehe Irgarol und TP269). Aus den MSⁿ-Fragmentierungen kann eindeutig geschlossen werden, dass bei den beobachteten biologi-

schen Transformationsreaktionen der Triazin-Ring unverändert bleibt. Weitere Charakterisierungen zeigten schließlich, dass es sich in beiden Fällen um die Ausbildung eines Sulfoxides handelt. Durch Quantifizierung beider TP's konnte die Konzentrationsabnahme der Biozide erklärt werden, d. h. die Massenbilanz war geschlossen. Eine Mineralisierung der Biozide fand bei der biologischen Abwasserreinigung daher nicht statt.

In den untersuchten Oberflächengewässern der Modellregion Hessisches Ried konnten sowohl Irgarol und Terbutryn, als auch deren biologische TP's nachgewiesen werden (Bild 13). Terbutryn war in allen Probenahmestellen mit Konzentrationen von 10 bis 100 ng L⁻¹ enthalten, während für Irgarol maximal 22 ng L⁻¹ detektiert wurden. Für die TP's Irgarolsulfoxid und Terbutrynsulfoxid wurden im Kläranlagenablauf Konzentrationen von bis zu 22 bzw. 61 ng L⁻¹ und in den Fließgewässern bis zu 14 bzw. 34 ng L⁻¹ detektiert. In Tests mit den Leuchtbakterien *Vibrio fischeri* zeigten die TP's eine vergleichbare Hemmwirkung wie die Ausgangsstoffe Irgarol und Terbutryn. Nachweislich besitzen die TP's noch biozide Wirkungen. Die von der EU vorgeschlagenen Umweltqualitätsnormen (JD-UQN, Revision Liste der prioritären Schadstoffe nach WRRL, Stand 31.01.2012) für Oberflächengewässer berücksichtigen jedoch ausschließlich die Ausgangsstoffe. Aufgrund der bioziden Wirkung der TP's sollten die TP-Konzentrationen der Gewässer zu denen der Ausgangsstoffe addiert werden und für eine Bewertung des Gewässerzustands die Summe der Konzentrationen von Ausgangssubstanz und TP's herangezogen werden. Dies würde bei einigen untersuchten Fließgewässern zu einer Überschreitung der derzeitigen UQN-Vorschläge für Terbutryn (UQN = 65 ng L⁻¹) führen. Die UQN von Irgarol mit 2,5 ng L⁻¹ war bis auf zwei Fließgewässer schon ohne die Berücksichtigung der TP-Konzentrationen überschritten.

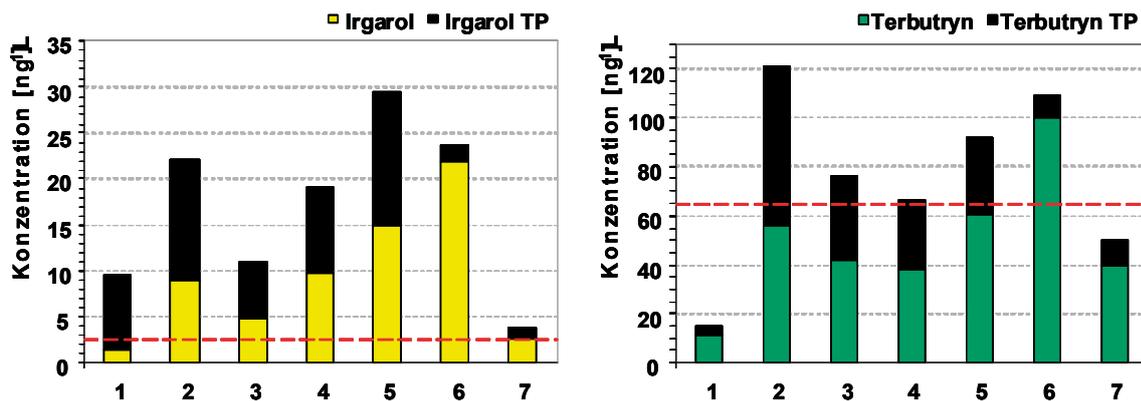


Bild 13: Konzentrationen von Irgarol, Terbutryn und deren TP's in Kläranlagenablauf und Oberflächengewässern (Probenahmestellen Nr.1 Hengstbach vor KA Dreieich, 2 KA Dreieich, 3 Schwarzbach nach KA Dreieich, 4 Gerathsbach, 5 Bieber, 6 Weschnitz, 7 Winkelbach). Die Probenahme fand am 28.06.2012 statt; die hervorgehobene Markierung stellt den derzeitigen Vorschlag (31.01.2012) der Umweltqualitätsnorm im Jahresdurchschnitt (JD-UQN) der WRRL für Irgarol und Terbutryn dar

3.4 Nachweis von resistenten Bakterien und Krankheitserregern im Abwasser und aquatischen Ökosystem

Bakterien leben weltweit in fast allen Umweltkompartimenten und zeichnen sich durch eine außerordentlich hohe Anpassungsfähigkeit an vielfältigste Lebensbedingungen aus. Diese Anpassungsfähigkeit beruht auf einer großen genetischen und metabolischen Flexibilität und Vielfalt. Rund 200 Bakterienarten sind als Krankheitserreger oder als fakultativ pathogene Bakterien (bedingt krankmachende Bakterien, z. B. bei geschwächtem Immunsystem) des Menschen bekannt. Diese Krankheitserreger oder opportunistische Bakterien können über Abwasserwege oder landwirtschaftliche Abschwemmungen zu einer Kontamination von Wasserressourcen führen und z. B. über direkten Kontakt mit dem Menschen dessen Gesundheit negativ beeinflussen.

Innerhalb des TransRisk-Forschungsvorhabens liegt der Schwerpunkt auf der Detektion von Enterokokken (Vancomycinresistenz-Träger), *Pseudomonas aeruginosa* (Imipenemresistenz-Träger), Methicillin-resistenten Staphylokokken und Enterobakterien (Ampicillinresistenz-Träger). Um festzustellen, inwieweit eine Kontamination durch diese hygienisch relevanten Mikroorganismen in den verschiedenen aquatischen Systemen in der Modellregion vorliegt, wurde eine Reihe von Klinikabwässern, Kläranlagenabläufen, Oberflächengewässern, Regenüberlauf- und Klärbecken sowie Grundwassermessstellen mit Hilfe von Kultivierungsexperimenten und überwiegend molekularbiologischen Verfahren untersucht. Die im Untersuchungszeitraum ermittelten Monitoring-Daten zur Belastung der einzelnen Wasserkompartimente sind in Bild 14 zusammengefasst und werden in den folgenden Abschnitten ausführlicher dargestellt. In den Klinikabwässern und Kläranlagen wurde die stärkste Keimbelastung festgestellt, aber auch Regenklär- und Überlaufbecken tragen deutlich zur Keimfracht der Oberflächengewässer bei. Die mikro- und molekularbiologischen Befunde aus den Grundwassermessstellen nahe ausgewählter Deponien deuten auf den Einfluss von Sickerwasser hin.



Bild 14: Zusammenfassung des mikro-/molekularbiologischen Monitorings im Untersuchungsgebiet. Hohe Belastungen werden in Klinik- und Kläranlagenabwässern gefunden. In nachfolgenden Kompartimenten nehmen die Häufigkeiten für Antibiotikaresistenzen und hygienisch relevante Bakterien bis hin zum Grundwasser, welches zur Trinkwassergewinnung verwendet wird (Rohwasser), ab

3.4.1 Klinisches und kommunales Abwasser

Aquatische Systeme spielen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung und Verbreitung von opportunistischen Bakterien (bedingt krankmachende Erreger, bei geschwächtem Immunsystem) und Antibiotikaresistenzen. Daher wurden in dem BMBF-Projekt TransRisk klinisch und hygienisch relevante Mikroorganismen und Antibiotikaresistenzgene ausgewählt, um eine mikrobiologische Risikocharakterisierung kritischer aquatischer Systeme durchzuführen. Durch molekularbiologische Untersuchungen wurden spezifische Gene identifiziert, die nachgewiesenermaßen für die Antibiotikaresistenzen in Krankenhauskeimen verantwortlich sind. Das bedeutet, dass die gefundenen Gene entweder aus klinisch relevanten Mikroorganismen stammen, oder auf diese übertragen werden können. Dadurch ist es möglich, klinisch relevante Antibiotikaresistenzen von natürlich vorkommenden Antibiotikaresistenzen in der Population zu unterscheiden. Die Verminderung solcher Gene in der bakteriellen Population ist deshalb in der Abwasseraufbereitung genauso wünschenswert wie die Reduktion der hygienisch relevanten Zielorganismen.

Pseudomonas aeruginosa ist ein ubiquitär verbreitetes Wasserbakterium. Er besitzt eine Vielzahl an intrinsischen sowie erworbenen Antibiotikaresistenzgenen und wird häufig mit nosokomialen Infektionen (Krankenhausinfektionen) in Verbindung gebracht. Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* und Coagulase-negative Staphylokokken (CNS) gehören zu den am häufigsten gefundenen bakteriellen Pathogenen im Krankenhaus und wurden auch schon im Kläranlagenablauf des konventionell gereinigten Abwassers gefunden. Des Weiteren wurden Enterokokken ausgewählt, da sie nicht nur als Fäkal-Indikator eine Wasserkontamination anzeigen können, sondern auch ein breites

Spektrum an erworbenen Antibiotikaresistenzen aufweisen. Enterobakterien stellen eine weitere Klasse an Bakterien dar, die vermehrt nosokomiale Infektionen auslösen. Zu den häufigsten Erregern gehören *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* und zu einem geringeren Anteil auch *Escherichia coli* sowie *Enterobacter cloacae*. Diese opportunistischen Bakterien können die β -Lactam-Antibiotikaresistenz (ampC) sowohl intrinsisch, also in ihrem Bakteriengenom, tragen, als auch lokalisiert auf einem mobilen genetischen Element fähig zur horizontalen Übertragung. Das bedeutet, dass solche mobilen genetischen Elemente über extrazellulären Transfer an andere noch nicht resistente Bakterien weitergegeben werden können.

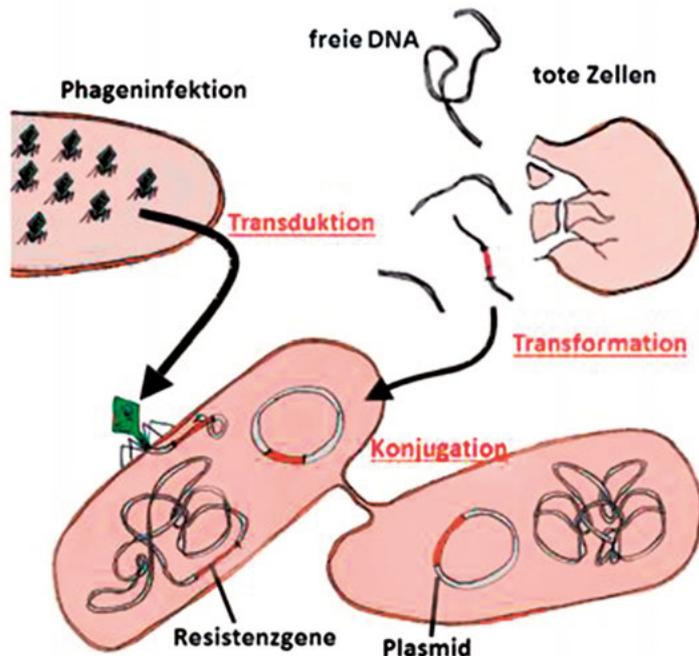


Bild 15: Mechanismen des horizontalen Gentransfers (RiSKWa-Statuspapier: Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen, 2015)

Vancomycin ist ein Reserveantibiotikum und wird in schweren Fällen von Infektionen mit multiresistenten gram-positiven Bakterien verabreicht. Trotz wachsender Verbreitung der Vancomycinresistenz (*vanA*), wird es noch immer zur Behandlung von schweren Infektionen eingesetzt. Eine weitere Zunahme an Antibiotikaresistenzen ist seit 2012 in der Klasse der Carbapeneme zu verzeichnen. Vor allem resistente *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* weisen verschiedene Formen der Carbapenemasen auf. Dabei handelt es sich um Bakterienenzyme, die Antibiotika der Klasse der Carbapeneme unwirksam machen können. Ein Enzym aus der Gruppe der Carbapenemasen ist für die Imipenemresistenz (*blaVIM-1*) verantwortlich und ist ein weiterer wichtiger Parameter für die mikrobiologische Charakterisierung. Auch die Gruppe der Makrolid-Antibiotika, zu der das Erythromycin zählt, erweist sich innerhalb der letzten Jahre als zunehmend unwirksam. Beispielsweise werden Makrolide zur Behandlung von Atemwegserkrankungen, die durch *Streptococcus pneumoniae* ausgelöst werden, eingesetzt. Daher wurde dieses Resistenzgen (*ermB*) ebenfalls in das Untersuchungsprogramm mit aufgenommen.

In den Abwässern der beiden untersuchten Kliniken der Modellregion von TransRisk wurden alle untersuchten Antibiotikaresistenzgene und opportunistische Bakterien in hohem Maße nachgewiesen. Dabei wurde deutlich, dass der Anteil der Antibiotikaresistenzgene in der Abwasserpopulation um ein Vielfaches höher lag als der Anteil an opportunistischen Bakterien in denen ursprünglich die Antibiotikaresistenzgene nachgewiesen wurden. Aus Studien ist bekannt, dass die Antibiotikaresistenzgene *vanA* und *blaVIM-1* auf mobilen genetischen Elementen liegen (s. Bild 15) und ihre hohe Anzahl im Vergleich zu den untersuchten Zielorganismen auf eine starke Verbreitung innerhalb der Abwasserpopulation hinweist.

In allen untersuchten kommunalen Kläranlagen wurde sogar ein Anstieg von 3 der 4 untersuchten Antibiotikaresistenzgene (*vanA*, *blaVIM*, *ampC*) im Ablauf gegenüber dem Zulauf festgestellt (ALEXANDER et al. 2015). Allerdings wies jede untersuchte Kläranlage eine andere Anfangskonzentration und einen unterschiedlichen Anstieg der Antibiotikaresistenzgene auf. Auch die Reduktionspotenziale für opportunistische Bakterien wichen voneinander ab. Im Detail wurde das Erythromycin-Resistenzgen in der bakteriellen Abwasserpopulation in allen Kläranlagen zwischen 90 % und 99,9 % reduziert. Dafür stiegen die anderen 3 untersuchten Antibiotikaresistenzgene um das 4- bis 12,5-fache an. In allen Kläranlagen nahmen die Häufigkeiten der Enterokokken im Ablauf um mehr als 90 % ab. Der Anteil an *Pseudomonas aeruginosa* an der Abwasserpopulation blieb jedoch in 3 von 4 Kläranlagen unverändert oder stieg an. Nur in einer Kläranlage wurde eine Reduktion aller untersuchten Bakterienspezies festgestellt. Auf Basis dieser Ergebnisse muss von einem Einfluss des Kläranlagenablaufs auf die Zusammensetzung der Bakterienpopulation und die Verbreitung von Resistenzen im aufnehmenden Gewässer ausgegangen werden.

Dies wird durch die Verteilung von Antibiotikaresistenzgenen und opportunistischen Bakterien in der Bakterienpopulation aus Klinikabwasser im Vergleich zur Population aus der nachgeschalteten Kläranlage bestätigt. Die Verteilungsmuster ähneln sich und sind auch mit dem im angrenzenden Vorfluter beobachteten Muster vergleichbar. Diese Beobachtung ist ein weiterer Hinweis auf den Einfluss von Abwässern auf die natürlichen Bakterienpopulationen in nachfolgenden Gewässern.

3.4.2 Oberflächengewässer, Regenüberlaufbecken und Grundwässer

Drei Oberflächengewässer, vier Regenüberlauf- und Regenklärbecken sowie drei Grundwässer wurden im Rahmen von TransRisk analysiert. Bei Donau und Nau lagen die Messstellen flussabwärts der lokalen Kläranlagen, während die Lone nahe des Quelltopfs untersucht wurde. In allen Oberflächengewässern fanden sich Resistenzgene gegen die Antibiotika Vancomycin, Imipenem, Erythromycin und Ampicillin. Im Unterschied zu den Messstellen der Donau und Nau (mit Abwassereinfluss) waren die Abundanzen (Häufigkeiten) der Antibiotikaresistenzgene in der Bakterienpopulation der Lone um bis zu 70 % geringer.

Alle drei Oberflächengewässer waren positiv für die untersuchten opportunistischen Bakterien, wiesen aber eine bis zu 10-fach geringere Häufigkeit in der Population auf als die Antibiotikaresistenz-Zelläquivalente. Die Anteile der Antibiotikaresistenzen und bakteriellen Zelläquivalente der Oberflächengewässer weisen eine ähnliche Verteilung auf, wie die Abundanzen in den Ausläufen der lokalen Kläranlagen. Dieser Effekt weist auf den Einfluss von Abwasser auf die lokale Bakterien- und Resistenzlage in den Vorflutern hin. Unter Berücksichtigung des aufgearbeiteten Volumens reduziert sich die Antibiotikaresistenzhäufigkeit im Kläranlagenauslauf zum Vorfluter um bis zu 1,7 log-Stufen. In der Lone waren weniger als 10 antibiotikaresistente Zelläquivalente pro 100 mL und in Nau und Donau weniger als 20 Zelläquivalente pro 100 mL messbar. Allerdings ist zu beachten, dass auch bei diesen relativ geringen mikrobiologischen Kontaminationen von Oberflächengewässern immer die Gefahr besteht, dass Bakterien, anders als chemische Schadstoffe, ihre Zellzahl unter geeigneten Bedingungen erheblich vergrößern können (Zellteilung *E. coli* alle 20 min). Daher sind bei volumenbezogenen Konzentrationsangaben immer der Verdünnungseffekt sowie der Durchfluss des Vorfluters bei der Bewertung des Restrisikos zu berücksichtigen. Die Belastungssituation stellt sich deutlich erhöht dar, wenn die Zelläquivalente volumenunabhängig als Anteile in der Gesamtpopulation auf 100 ng DNA bezogen werden (ALEXANDER et al. 2015).

Nach schweren Regenfällen wurden vier der lokalen Regenklär- und Regenüberlaufbecken in der Modellregion von TransRisk untersucht. Die Häufigkeiten der opportunistischen Bakterien in den Populationen der vier Regenklär- und Regenüberlaufbecken reichten von $10^{2,3}$ Zelläquivalente für Staphylokokken, bis zu $10^{4,83}$ Zelläquivalente pro 100 ng DNA für Enterokokken. Neben der Imipenem-Resistenz (*blaVIM*) war die Vancomycin-Resistenz (*vanA*) die am häufigsten detektierte Antibiotikaresistenz in allen vier Regenentlastungsbecken. Einflüsse von umliegenden Neubaugebieten und Abschwemmungen der umliegenden Felder (Gülle) können ein Grund für diese Befunde sein und

würden beim Überlauf ins angrenzende Gewässer einen merklichen Beitrag zur Antibiotikaresistenz- und Bakterienlage leisten.

Im Rahmen des Langzeit-Monitorings in der TransRisk-Modellregion Donauried stand auch im Fokus, welchen Einfluss Sickerwasser aus Oberflächengewässern oder nahe gelegenen Deponien auf Mikroorganismen von drei ausgewählten Grundwässern ausübt. Alle drei untersuchten Grundwässer wiesen niederschlagsabhängige mikrobielle Kontaminationen auf. In jedem der drei Grundwässer fanden sich alle untersuchten Antibiotikaresistenzgene und Bakterienmarker. Die höchsten Häufigkeiten in 100 ng Gesamt-DNA wurden im Grundwasser nahe einer aktiven Deponie gefunden, kurz nach einem starken Regenereignis. Dies weist auf einen Einfluss durch Sickerwässer, auch von umliegenden Nutzflächen, hin.

Das Risiko einer mikrobiellen Kontamination des Grundwassers ist gerade in Karstregionen, wie es das Einzugsgebiet des Donaurieds darstellt, aufgrund der geringen oder fehlenden Filterwirkung, der Verweilzeiten und Dispersion erhöht. Das mikrobiologische Monitoring verschiedener aquatischer Habitate im Untersuchungsgebiet Donauried hat gezeigt, dass Konzentrationsangaben in gängigen Volumen (100 mL) dazu neigen, kritische Befunde zu unterschätzen. Daher sollten Untersuchungen von aquatischen Umwelthabitaten neben volumenbasierten Konzentrationsangaben auch die Anteile an der Gesamtpopulation berücksichtigen. Bei Mikroorganismen ist die Besonderheit zu berücksichtigen, dass sie unter einem sinkenden Selektionsdruck ein gesteigertes Vermehrungspotenzial besitzen, was die Auswertung gegenüber chemischen Parametern erschwert.

Diese Beobachtung ist besonders wichtig, da Kläranlagen kontinuierlich zum mikrobiellen Geschehen der angrenzenden Gewässer beitragen und die Selektion von Antibiotikaresistenzen dazu führen kann, dass diese Gene gehäuft auch auf autochthone (einheimische) Bakterien übertragen werden und dadurch nachfolgende Wassersysteme beeinträchtigen können. Da Oberflächenwässer anteilig in der Trinkwasseraufbereitung genutzt werden, ist dieser beobachtete Effekt auch für das Trinkwasser wichtig, denn klinisch relevante Antibiotikaresistenzgene wurden in früheren Untersuchungen sowohl in Trinkwasserbiofilmen nachgewiesen, als auch deren Übertragung auf Bakterien der Darmflora beobachtet.

Fazit aus dem Monitoring der Modellregion Donauried:

Die Ergebnisse belegen, dass Klinikabwässer und kommunale Kläranlagen unterschiedlicher Dimensionierung als ein Hotspot der Verbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien mit klinischer Relevanz anzusehen sind. Kommunale konventionell betriebene Kläranlagen sind nicht dafür ausgelegt, Antibiotikaresistenzen bzw. Resistenzträger effektiv zu reduzieren. *Pseudomonas aeruginosa* zeigte sogar eine Zunahme nach konventioneller Abwasseraufbereitung. Zu der Belastungssituation in den nachfolgenden Oberflächenwässern und teilweise von Grundwässern tragen auch Regenüberlaufbecken bei, die gerade bei Starkregenereignissen hohe Belastungszahlen und Emissionen aufwiesen.

Generell wurden unterschiedliche Dynamiken im Auftreten der spezifischen Resistenz- und Taxonmarker nachgewiesen. Teilweise zeigten die Resistenzmarker höhere Befunde als die zugehörigen Bakterienmarker. Dies deutet auf einen horizontalen Gentransfer in der nativen Bakterienpopulation hin.

4 Strategien zum Monitoring von Einzugsgebieten

4.1 Non-Target-Screening zur Identifizierung neuer Schadstoffe

Unter dem Begriff **Non-Target-Screening** versteht man ein analytisches Screening-Verfahren, bei dem jeweils eine möglichst große Anzahl an Probenbestandteilen erfasst werden soll. Dabei sind die gemessenen Stoffe nur zu einem untergeordneten Anteil bekannt. Das Screening-Verfahren wird meist ergänzend zur zielgerichteten und quantitativen Analytik (Target-Analytik) einzelner Stoffe eingesetzt.

Eine Realprobe, z. B. eines Kläranlagenablaufes, setzt sich aus bekannten und unbekanntem Mikroverunreinigungen sowie aus natürlich vorkommenden Substanzen zusammen (s. Bild 16). Für bekannte Mikroverunreinigungen ist in der Regel ein Standard verfügbar, der in der chemischen Analytik als Referenz eingesetzt werden kann. Das ist allerdings nicht für die unbekanntem Bestandteile einer Probe der Fall. Hierbei kann es sich entweder um neue Substanzen handeln, die bisher noch nicht analytisch erfasst worden sind, oder es sind die durch biologische Umwandlung und abiotische Abbauprozesse aus anthropogenen Spurenstoffen gebildeten Transformationsprodukte. Manche Spurenstoffe bilden zahlreiche Transformationsprodukte. Für das Antibiotikum Sulfamethoxazol sind z. B. 53 und für das Antiepileptikum Carbamazepin sind 31 Transformationsprodukte bekannt. An dieser Stelle sei auch auf den DWA-Themenband „Bedeutung von TP für den Wasserkreislauf“, der im August 2014 veröffentlicht wurde, hingewiesen.

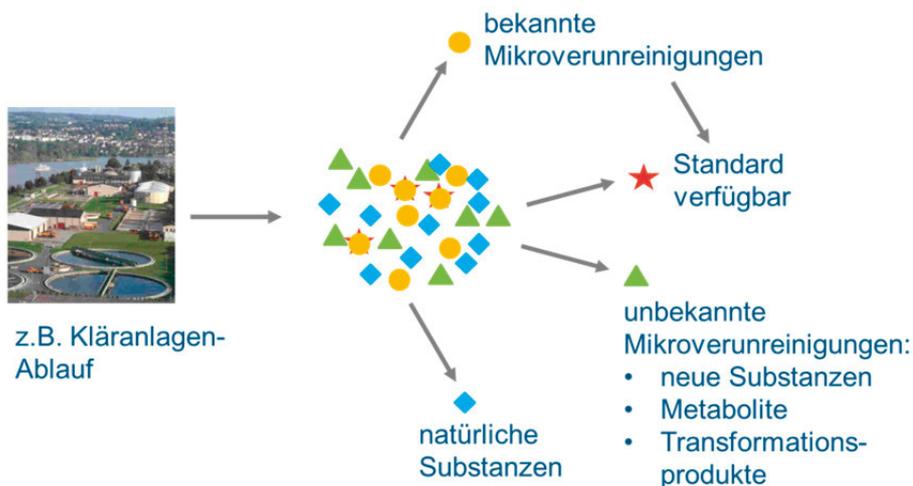


Bild 16: Zusammensetzung einer Realprobe, z. B. Abwassermatrix

Als Messtechnik kommt bei der Non-Target-Analytik häufig eine Kombination aus Flüssigkeitschromatografie (auch Gaschromatografie) mit hochauflösender Massenspektrometrie zum Einsatz. Dabei dient die Chromatografie der Auftrennung von Molekülen in einem Gemisch. Das Trennprinzip beruht auf der Wechselwirkung der zu analysierenden Stoffe in der mobilen Phase (Flüssigkeit oder Gas) mit dem Material der stationären Phase. Die Aufenthaltszeit der Stoffe ist dabei ein Maß für die Intensität der Wechselwirkung. Verschiedene Substanzen verlassen die stationäre Phase nach unterschiedlichen Retentionszeiten und verursachen ein Signal in einem Detektor. Die Elutionskraft der mobilen Phase hängt von der Polarität des Lösungsmittels ab. Die anschließende Massenspektrometrie dient der Identifizierung und/oder Quantifizierung der Substanzen. Dazu wird die zu untersuchende Verbindung (Analyt) in die Gasphase überführt und ionisiert. Die entstehenden Ionen werden in einem elektrischen Feld beschleunigt und nach ihrem Masse/Ladung-Verhältnis in räumliche Teilstrahlen aufgetrennt.

Im Ergebnis erzeugt jeder Stoff in Abhängigkeit von der Intensität ein Signal (auch als Peak bezeichnet). Während bei der Target-Analytik mit bekannten Standards jeder Einzelstoff einen klar abgegrenzten Peak bildet, zeigt sich bei der Non-Target-Analytik ein „Rauschen“, das durch die in der

Mischung enthaltenen natürlichen Substanzen bedingt ist (s. Bild 17). Die Target-Analytik lässt eine Quantifizierung der bekannten Substanzen zu, während die Non-Target-Analytik die Möglichkeit bietet, Hinweise auf neue, noch unbekannte Substanzen zu erhalten. Diese können dann anschließend identifiziert werden.

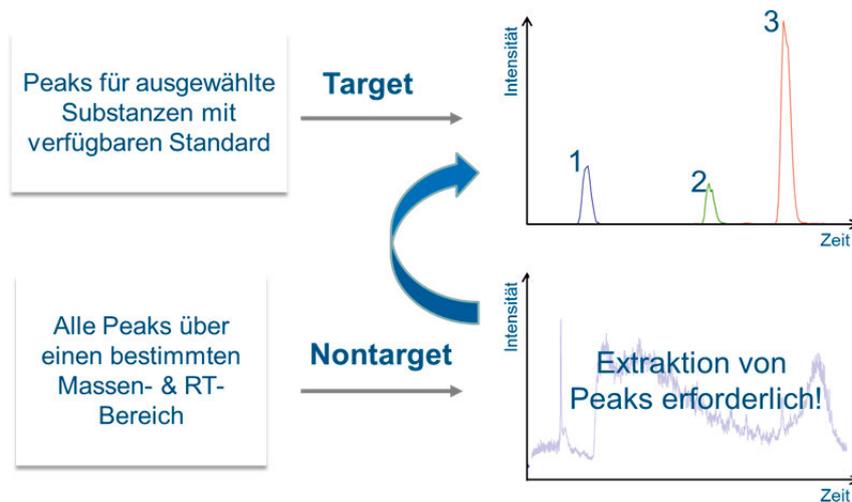


Bild 17: Vergleich Target-/Non-Target-Analytik (RT = Retention)

Non-Target-Screening kann ergänzend zur Einzelstoffanalytik für die Bewertung von untersuchten Abwasserreinigungsprozessen genutzt werden. Ohne die Stoffzusammensetzung einer Wasser-/Abwasserprobe zu kennen, bietet das Non-Target-Screening die Möglichkeit, den Zustand vor und nach einer Reinigungsmaßnahme zu vergleichen und den Grad der Veränderungen in den Proben zu bestimmen. Bei der Abwasserreinigung können prinzipiell neue Spurenstoffe durch physikalisch-chemische oder mikrobielle Transformation gebildet werden. Das Non-Target-Screening gibt Aufschluss über die Bildung unerwünschter Nebenprodukte und ermöglicht eine vergleichende Betrachtung der verschiedenen Reinigungsprozesse.

Die durch den jeweiligen Reinigungsprozess bedingten Veränderungen im Hinblick auf die mittels Non-Target-Screening erfassbaren Spurenstoffe konnten durch den Vergleich der entsprechenden Zu- und Ablaufproben qualitativ bestimmt werden. Die möglichen Veränderungen wurden den Kategorien „Elimination“, „Unverändert vorhanden“ und „Bildung“ zugeordnet und in Form eines ternären Diagramms dargestellt (s. Bild 18). Veränderungen der Konzentrationen der Spurenstoffe innerhalb des messbaren Bereichs spielten dabei jedoch keine Rolle und wurden der Kategorie „Unverändert vorhanden“ zugeordnet.

Die Anteile der eliminierten, gebildeten und unverändert vorhandenen Spurenstoffe im Zu- und Ablauf von verschiedenen erweiterten Abwasserreinigungsprozessen sind beispielhaft in Bild 18 gezeigt. In Blau dargestellt das Verfahren der Ozonung und in Grün Ozonung mit anschließender Aktivkohlefiltration. Die Ansiedlung der grünen Punkte in der linken Spitze des ternären Diagrammes bedeutet eine hohe Eliminationsrate und kaum Bildung von TPs. Es zeigt sich, dass bei der Ozonung durch Transformation zusätzliche Stoffe gebildet werden, die durch die folgende Stufe der Aktivkohlefiltration reduziert werden.

Je mehr die Messergebnisse zu der oberen Spitze des ternären Diagrammes tendieren, umso geringer ist die Eliminationsleistung des betrachteten Behandlungsverfahrens. Gleichzeitig ist die Bildung von TPs aus den scheinbar eliminierten anthropogenen Spurenstoffen als hoch zu bezeichnen. Die im Zu- und Ablauf vorhandenen Spurenstoffe unterscheiden sich deutlich. Das heißt also: Abbau ja, aber keine vollständige Mineralisierung und Bildung von unerwünschten TPs.

Sind die ermittelten Daten in der rechten Spitze des Diagramms angesiedelt, bedeutet dies, dass fast keine Veränderung durch das Behandlungsverfahren bewirkt werden konnte. Fast alle in der Zulaufprobe enthaltenen Substanzen finden sich im Ablauf wieder: Also geringe Eliminationsleistung und kaum Bildung von TPs.

Die Ergebnisse machen deutlich, dass sich mit Hilfe des Non-Target-Screenings die Reinigungsprozesse unter einem neuen analytischen Blickwinkel betrachten lassen. Ein wesentlicher Vorteil ist, dass eine große Anzahl messbarer Substanzen in die Prozessbetrachtung einbezogen werden kann, obwohl deren Identität vielfach nicht bekannt ist. Künftige Arbeiten zum Non-Target-Screening zielen u. a. auf die Messgrenzen des Verfahrens ab. Beispielsweise können sehr polare Stoffe, die z. B. bei der Ozonung primär gebildet werden, nicht oder nur sehr schwierig mit einbezogen werden. Das derzeitige Non-Target-Screening-Verfahren ist für eine umfassende Bewertung der Ozonung daher noch nicht geeignet, weil die gebildeten polaren TPs nicht erfasst werden. Der nach der Ozonung unveränderte DOC belegt, dass die Stoffe nicht vollständig eliminiert, sondern lediglich in polare TPs transformiert werden.

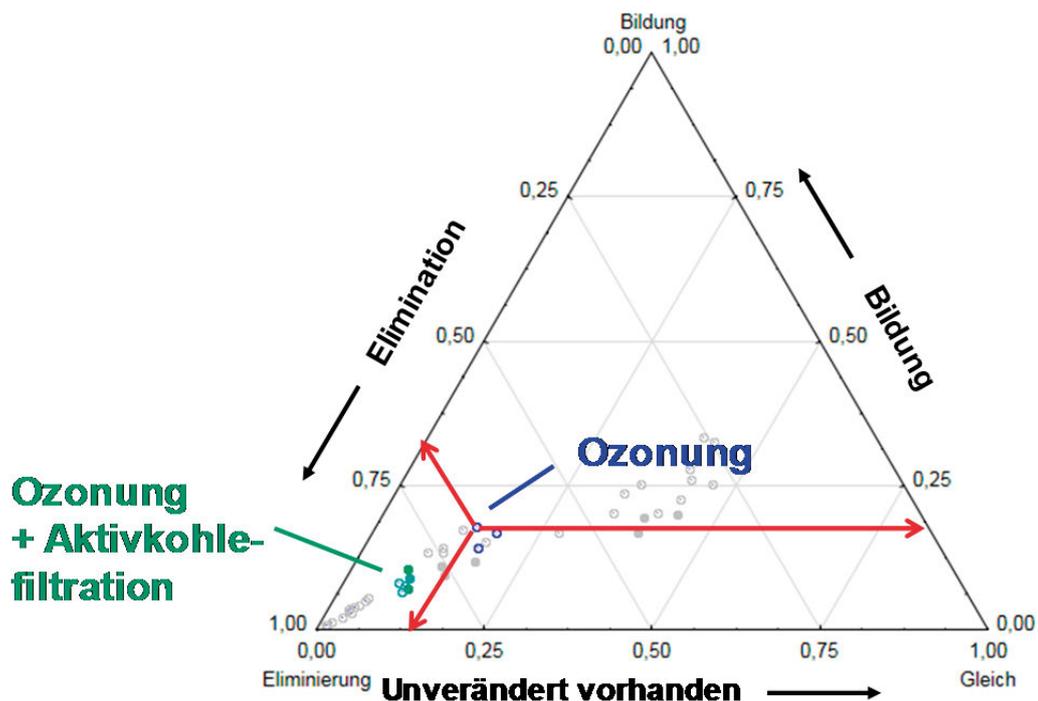
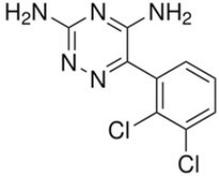
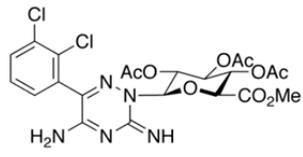
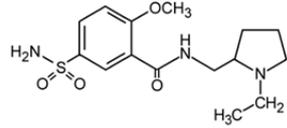
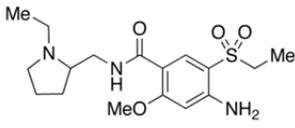


Bild 18: Erfassung der Anteile von eliminierten, gebildeten und unverändert vorhandenen Spurenstoffen mittels Non-Target-Screening für die erweiterte Reinigung von Abwasser mittels Ozonung bzw. Ozonung mit Aktivkohlefiltration

4.2 Durch Non-Target-Screening identifizierte umweltrelevante Arzneistoffe

Mit Hilfe der Non-Target-Analytik (s. hierzu Abschnitt 4.1) gelang es zudem, bisher nicht in kommunalem Abwasser gemessene Spurenstoffe zu identifizieren. Für die neu entdeckten Verbindungen wurde zunächst die exakte Molekülmasse mittels hochauflösender Massenspektrometrie ermittelt, um daraus mit der Unterstützung von Datenbanken (z. B. ChemSpider) Summen- und Strukturformeln abzuleiten. Die neuen Stoffe konnten schließlich mit Hilfe von Referenzsubstanzen analytisch nachgewiesen werden. Es handelte sich um die Arzneimittelwirkstoffe Lamotrigin, Lamotrigin-N2-Glucuronid (Antiepileptika), Sulpirid und Amisulprid (Neuroleptika) (s. nachfolgende Tabelle 3).

Tabelle 3: Identifizierte Arzneistoffe

Substanz, Summenformel, CAS-Nummer, Verschreibungsmenge **	Strukturformel	Physikalisch-chemische Parameter *	Pharmakologische Parameter
Lamotrigin C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅ CAS: 84057-84-1 7,3 t/a		log K _{OW} 1.19 (pH 7.6) pKa 5.7 (LEVY et al. 2002)	Weniger als 10 % der Applikationsmenge werden unverändert über die Nieren ausgeschieden. (RAMBECK & WOLF 1993)
Lamotrigin-N2-Glucuronid C ₁₅ H ₁₅ Cl ₂ N ₅ O ₆ CAS: 133310-19-7 -		log K _{OW} 2.01	Ca. 85 % von Lamotrigin als Glucuronid im Urin nach oraler Aufnahme gefunden. (ROWLAND et al. 2006); Pharmakologisch nicht aktiv (RAMBECK & WOLF 1993)
Sulpirid C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S CAS: 23672-07-3 2,9 t/a		log K _{OW} 0.78 (Dorwald 2012) pKa 9.12 (EL TAYAR et al. 1985)	Ca. 93 % der Applikationsmenge werden unverändert über die Nieren ausgeschieden. (BRESSOLLE et al. 1984)
Amisulprid C ₁₇ H ₂₇ N ₃ O ₄ S CAS: 71675-85-9 3,6 t/a		log K _{OW} 1.06 (MANNHOLD et al. 1990) pKa 9.37 (EL TAYAR et al. 1985)	Wird überwiegend unverändert über die Nieren ausgeschieden. (ROSENZWEIG et al. 2002)
* log K _{OW} = Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient; Wenn nicht anders angegeben, berechnet mittels Estimation Program Interface (EPI) Suite™, KOWWIN™ v1.68 developed by EPA's Office of Pollution Prevention Toxics and Syracuse Research Corporation (SRC) ** Verschreibungsmenge in Deutschland 2011 (= Anzahl der verschriebenen Tagesdosen × Tagesdosis) (SCHWABE & PAFFRATH 2012) Referenz: ANNA BOLLMANN et al., 2016			

Die Tatsache, dass die Konzentrationen von Lamotrigin im Ablauf der kommunalen Kläranlagen größer waren als im Zulauf deutete auf eine Vorstufe hin, die während der Abwasserreinigung zu Lamotrigin transformiert wird. Als Hypothese wurde der Humanmetabolit Lamotrigin-N2-Glucuronid vorgeschlagen, der wieder in die Ausgangsverbindung Lamotrigin gespalten werden kann. Weitere Untersuchungen konnten bestätigen, dass Lamotrigin-N2-Glucuronid in den kommunalen Kläranlagen auftritt und die Konzentrationen im Ablauf geringer sind als im Zulauf. Die ermittelten Konzentrationen im Ablauf der kommunalen Kläranlagen in der Modellregion lagen im Bereich von 0,4 µg/L – 1,6 µg/L für Lamotrigin, 0,1 µg/L – 0,3 µg/L für Sulpirid und 0,1 µg/L – 1,1 µg/L für Amisulprid.

Weiterhin wurde festgestellt, dass die jeweiligen N-Oxide von Lamotrigin, Sulpirid und Amisulprid bei der oxidativen Behandlung mittels Ozon gebildet werden. N-Oxide stehen im Verdacht, genotoxisch zu sein und wurden bisher bei Untersuchungsprogrammen nicht oder nur wenig beachtet.

4.3 Triphenylphosphonium-Verbindungen: neue durch Non-Target-Screening identifizierte umweltrelevante Verbindungen

Mit Hilfe der „Non-Target-Analytik“ konnte eine neue gewässerrelevante Substanzgruppe identifiziert werden. Zu den identifizierten Substanzen gehören Methyltriphenylphosphonium-Kation (Me-), Ethyltriphenylphosphonium-Kation (Et- Ph_3P^+), und Methoxymethyltriphenylphosphonium-Kation (MeOMe- Ph_3P^+). Für diese quartären Phosphonium-Verbindungen (QPVs) wurden quantitative LC-MS Methoden entwickelt und validiert. Details zur Identifizierung, Methodenentwicklung und Validierung finden sich in SCHLUESENER et al. [2015]. QPVs wurden in erhöhten Konzentrationen in den Flüssen gefunden, in die Kläranlagen der chemischen Industrie einleiten (Tabelle 4). Besonders die kleinen Flüsse des hessischen Rieds sind mit QPVs hoch kontaminiert. Beispielsweise stiegen im Landgraben während des Probenahmezeitraumes die Konzentrationen von Et- Ph_3P^+ auf bis zu 2,5 $\mu\text{g/L}$. Der Einleiter der QPVs im hessischen Ried liegt in der Nähe der Stadt Darmstadt, die QPVs waren nur im Landgraben sowie in dem Schwarzbach nach dessen Zusammenfluss mit dem Landgraben zu finden. In den anderen kleinen Flüssen des hessischen Rieds, wie dem Mühlbach oder dem Schwarzbach oberhalb des Zusammenflusses mit dem Landgraben (bei Trebur und Nauheim) konnten keine QPVs nachgewiesen werden, obwohl diese Flüsse einen hohen Abwasseranteil (> 50 %) aufweisen. Das Abwasser in diesen Flüssen stammt vornehmlich aus kommunalen Kläranlagen, was an den hohen Carbamazepin-Konzentrationen zu erkennen ist (Tabelle 4).

Tabelle 4: Konzentrationen von identifizierten QPVs sowie von Carbamazepin (CBZ) in Oberflächengewässern des Rheineinzugsgebietes

Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$) von identifizierten QPVs sowie von Carbamazepin (CBZ) in Oberflächengewässern des Rheineinzugsgebietes.						
Fluss	Flusskilometer	Stadt	Me- Ph_3P^+	Et- Ph_3P^+	MeOMe- Ph_3P^+	CBZ
BG			0,015	0,01	0,01	0,02
Rhein	410	Brühl	< BG	0,014	< BG	0,024
Rhein	443 l	Worms	0,13	0,018	< BG	0,026
Rhein	443 r	Worms	< BG	0,015	< BG	0,040
Rhein	483 l	Nierstein	0,055	0,014	0,017	0,029
Rhein	483 r	Kornsand	0,020	0,017	0,56	0,033
Rhein	520	Bingen	0,049	0,018	0,16	0,041
Rhein	550	Oberwesel	0,045	0,015	0,22	0,036
Rhein	590.3	Koblenz	0,031	0,016	0,26	0,037
Main	1	Mainz	< BG	< BG	< BG	0,16
Lahn	128	Nievern	< BG	< BG	< BG	0,23
Nahe	2	Bingen	< BG	< BG	< BG	0,27
Neckar	24	Heidelberg	< BG	< BG	< BG	0,11
Neckar	13	Ladenburg	< BG	0,020	0,021	0,11
Landgraben	n.a.	Weiterstadt	1,1	2,5	0,046	1,1
Landgraben	n.a.	Griesheim	1,0	2,4	0,092	1,1
Landgraben	n.a.	Berkach	1,4	2,3	0,43	0,98
Landgraben	n.a.	Trebur	1,1	1,3	0,63	1
Mühlbach	n.a.	Groß-Gerau	< BG	< BG	< BG	1,2
Schwarzbach	n.a.	Nauheim	< BG	< BG	< BG	0,80

Tabelle 4 (Ende)

Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$) von identifizierten QPVs sowie von Carbamazepin (CBZ) in Oberflächengewässern des Rheineinzugsgebietes						
Fluss	Flusskilometer	Stadt	Me- Ph_3P^+	Et- Ph_3P^+	MeOMe- Ph_3P^+	CBZ
Schwarzbach	n.a.	Trebur	< BG	< BG	< BG	0,89
Schwarzbach	n.a.	Ginsheim	0,031	0,016	0,26	0,037
Scheidgraben	n.a.	Dornheim	0,025	< BG	< BG	0,098
Schlimmer Graben	n.a.	Büttelborn	< BG	< BG	< BG	1,4
ANMERKUNGEN						
Carbamazepin (CBZ), l, r: Probenahme an der linken oder rechten Flussseite, n.a.: nicht verfügbar						
Abkürzungen: Me- Ph_3P^+ : Methyltriphenylphosphonium, MeOMe- Ph_3P^+ : Methoxymethyltriphenylphosphonium, Et- Ph_3P^+ : Ethyltriphenylphosphonium, TPPO: Triphenylphosphinoxide, DPPO: Diphenylphosphinoxide, CBZ: Carbamazepin						

Die Untersuchung von vier weiteren kommunalen Kläranlagenabläufen unterstreicht die Annahme, dass die QPVs hauptsächlich über Industriekläranlagen in die Gewässer eingeleitet werden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$; n = 1) von QPVs in Kläranlagenabläufen

Konzentrationen ($\mu\text{g/L}$; n = 1) von QPVs in Kläranlagenabläufen					
Kläranlage	Probenahmedatum	Me- Ph_3P^+	Et- Ph_3P^+	MeOMe- Ph_3P^+	CBZ
BG		0.015	0.01	0.01	0.02
A	22.04.2015 29.07.2015	0,70 < BG	< BG < BG	< BG < BG	0,5 n.a.
B	22.04.2015 03.08.2015	< BG < BG	< BG < BG	< BG < BG	1,0 n.a.
C	23.04.2015	< BG	< BG	< BG	1,3
D	17.06.2015	< BG	< BG	< BG	1,1
ANMERKUNGEN					
BG = Bestimmungsgrenze, n.a.: nicht verfügbar					

Nur einmal konnte ein QPV in einem Kläranlagenablauf detektiert werden, während in einer wiederholten zweiten Probenahmekampagne diese Substanz nicht mehr nachweisbar war. Es ist anzumerken, dass die QPVs hauptsächlich als Wittig-Reagenz in der chemischen Industrie Verwendung finden, aber auch Anwendungen als Phasentransferkatalysator oder zur Aufreinigung von radioaktiven Flüssigkeiten bekannt sind. Daher sollten die QPVs in der Regel nicht in Abwässern von kommunalen Kläranlagen zu finden sein. Eine Kontamination einer kommunalen Kläranlage mit einem QPV kann aber nicht ganz ausgeschlossen werden wie das zuvor erwähnte Ergebnis belegt. Bei der Probenahme am 22. April 2015 wurden $0.7 \mu\text{g/L}$ Me- Ph_3P^+ in Kläranlage A quantifiziert. Diese Kläranlage ist an eine Universität angeschlossen. Es ist bekannt, dass Universitäten mit chemischen Fachbereichen sowohl in der Ausbildung als auch in der Forschung die Wittig-Reaktionen einsetzen.

Tägliche Frachten von $\text{Me-Ph}_3\text{P}^+$, $\text{MeOMe-Ph}_3\text{P}^+$ und $\text{Et-Ph}_3\text{P}^+$ wurden von Januar 2014 bis März 2015 an der Rheinmessstation Koblenz ermittelt (Bild 19). Die jährlichen Frachten variierten zwischen 740 kg/a ($\text{Et-Ph}_3\text{P}^+$) bis zu 5.900 kg/a ($\text{MeOMe-Ph}_3\text{P}^+$). Die Frachten von $\text{MeOMe-Ph}_3\text{P}^+$ unterliegen starken Fluktuationen, da diese Ph_3P^+ Substanz eher diskontinuierlich während Produktionsspitzen über eine Industriekläranlage in den Rhein eingeleitet wird (Bild 19B). Die Fluktuationen für $\text{Me-Ph}_3\text{P}^+$ und $\text{Et-Ph}_3\text{P}^+$ sind weniger stark ausgeprägt (Bild 19A und 19C), was auf eine kontinuierliche Einleitung verteilt über mehrere Industriekläranlagen hindeutet.

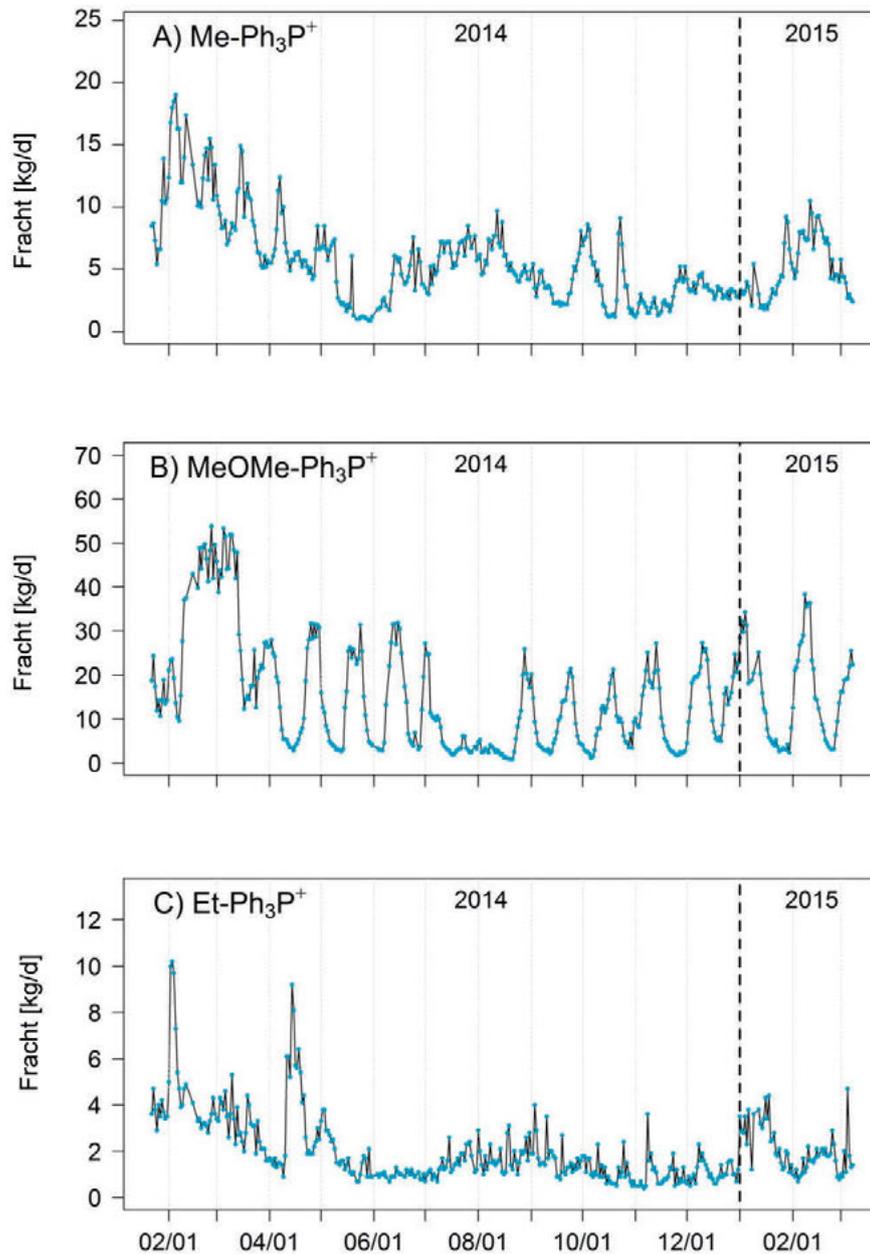


Bild19: Tägliche Frachten der gelösten QPV in der Wasserphase im Rhein bei Koblenz (km 590,3) von 22. Januar 2014 bis 8. März 2015; A) $\text{Me-Ph}_3\text{P}^+$, B) $\text{MeOMe-Ph}_3\text{P}^+$, C) $\text{Et-Ph}_3\text{P}^+$

Als Fazit ist festzuhalten, dass mit Hilfe der Non-Target-Analytik auch bislang unbekannte Substanzen in Gewässern detektiert und in einzelnen Fällen sogar identifiziert werden können. Zum anderen kann über einen längeren Zeitraum retrospektiv das Auftreten der Substanzen in dem Gewässer verfolgt werden. Die Non-Target-Analytik ist demnach ein leistungsstarkes Instrument der Gewässerüberwachung, mit deren Hilfe nicht nur das Vorkommen, sondern auch die Eintragsorte bzw. Verursacher der Belastungen ermittelt werden können. Zur Identifizierung unbekannter Substanzen sind zwar größere Anstrengungen erforderlich, diese können aber sehr erfolgreich verlaufen.

4.4 Nachweis toxikologisch relevanter Spurenstoffe

Die Beurteilung der Reinigungsleistung von Abwassertechniken erfolgt klassischerweise chemisch-analytisch, indem die Reduktion der Konzentration von Nährstoffen (Stickstoff, Kohlenstoff und Phosphor) sowie ausgewählter organischer Spurenstoffe im Verlauf der Abwasserbehandlung quantifiziert wird.

Im Vergleich zu einer allein auf chemisch-analytischen Daten beruhenden Bewertung bieten Biotests zusätzliche Vorteile. Der wichtigste Vorteil von Biotests besteht darin, dass sie summarisch die Wirkung aller vorhandenen Substanzen erfassen, also auch derjenigen Substanzen, die nicht durch die chemische Analytik abgedeckt werden. Das schließt auch TPs ein, die bereits mit dem Abwasser in die Kläranlage gelangen oder erst dort gebildet werden.

Die Biotests zur Bewertung neuer Abwasserbehandlungstechniken wurden an einer Pilotanlage in Südhessen im Durchflusssystem unter realen Bedingungen durchgeführt, wodurch temporäre Schwankungen in der Abwasserzusammensetzung über einen längeren Zeitverlauf ebenfalls Berücksichtigung fanden. Aufgrund der großen Anzahl an verschiedenen Spurenstoffen ist es wichtig, ein breites Spektrum an Testorganismen einzusetzen, um spezifische Effekte auf verschiedene trophische Ebenen (Stufen in der Nahrungskette), unterschiedliche Lebensformen und taxonomische Gruppen (Artenzugehörigkeit) abzubilden.

Parallel wurden In vitro-Tests durchgeführt. Die Vorteile von In vitro-Tests für die Abwasserbewertung bestehen darin, dass die Tests sensitiv, spezifisch für einen gegebenen Wirkmechanismus (z. B. Gentoxizität oder östrogene Wirkung) sowie einfach und kostengünstig anzuwenden und damit für Routineuntersuchungen geeignet sind. Andererseits ist die ökologische Relevanz der Befunde von In vitro-Tests eingeschränkt, da lediglich Wirkpotenziale, aber keine Effekte in intakten Organismen erfasst werden. Zudem reduziert die hohe Spezifität der In vitro-Tests die Möglichkeiten des Nachweises von unbekanntem TPs in Mischproben, und es sind umfangreiche Testbatterien erforderlich, um eine ausreichende Zahl relevanter Wirkmechanismen abbilden zu können.

Der Fokus der Untersuchungen mit ökotoxikologischen Tests im Projekt TransRisk lag auf der vergleichenden Bewertung der Abwasserreinigungstechniken, und nicht auf der ökotoxikologischen oder ökologischen Bewertung des gereinigten Abwassers. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang eine Verschlechterung der Qualität, wie sie z. B. von STALTER et al. (2010) und MAGDEBURG et al. (2012) für ozontes Abwasser berichtet wurde. Die Bildung von toxischen TPs kann dafür ein Grund sein und sollte bei der Bewertung einer neuen Technik im Hinblick auf potenzielle Wirkungen in der Umwelt berücksichtigt werden.

4.4.1 In vitro-Testverfahren

Für die Erfassung endokriner Wirkpotenziale wurden gentechnisch veränderte Zellen der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* angewendet. Den Hefezellen wurde für den Test auf östrogene und anti-östrogene Wirkpotenziale (YES und YAES) das Gen für den menschlichen (humanen) Östrogenrezeptor α (hER α) in das Genom eingebaut. Für den Test auf androgene und anti-androgene Wirkpotenziale (YAS und YAAS) enthalten die Hefezellen das Gen für den menschlichen Androgenrezeptor (hAR) in ihrem Genom. Sind endokrin wirksame Substanzen in einer Probe enthalten, zeigen die Testsysteme dies durch einen fotometrisch messbaren Farbwechsel quantitativ an.

Um gentoxische und mutagene Wirkpotenziale von Testsubstanzen zu identifizieren, wurden gentechnisch veränderte Bakterien der Art *Salmonella typhimurium* als Testsysteme ausgewählt. Der Umu-Test für Gentoxizität erfasst primäre DNA-Schäden, die reversibel oder irreversibel sein können, wobei das SOS-Reparatursystem der Bakterien aktiviert wird. Sind gentoxische Substanzen in einer Probe enthalten, wird dies durch einen fotometrisch messbaren Farbwechsel angezeigt. Der Ames-Fluktuationstest identifiziert mutagene Wirkpotenziale und erfasst irreversible, vererbare DNA-Schäden. Der Test beruht darauf, dass verschiedene Bakterienstämme der Art *Salmonella typhimurium*, die bereits eine DNA-Schädigung besitzen, durch mutagene Substanzen zurückmutieren. Der Farbumschlag eines zugegebenen pH-Indikators zeigt mutagene Substanzen in einer Probe an. Die In vitro-Testsysteme sind in Tabelle 6 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 6: In vitro-Testsysteme

Test-Spezies	Angezeigtes Wirkpotenzial	Bezeichnung des Test-Systems
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe)	östrogen	YES
	anti-östrogen	YAES
	androgen	YAS
	anti-androgen	YAAS
<i>Salmonella thyphimurium</i> (Bakterium, Durchfallerreger)	gentoxisch	Umu
	mutagen	Ames-Fluktuationstest

4.4.2 In vivo-Testverfahren

Als Testorganismen eignen sich z. B. Zwergdeckelschnecken (*Potamopyrgus antipodarum*) oder Bachflohkrebse (*Gammarus fossarum*). In beiden Fällen können mögliche Schadstoffeffekte über die Mortalität, das somatische Wachstum (Wachstum von Gewebezellen, ungeschlechtlich) und die Fortpflanzungsleistung der Versuchstiere als sogenannte Endpunkte erfasst werden.

Ein anderer Testorganismus ist der Glanzwurm *Lumbriculus variegatus* (s. Bild 20), der als Sedi- mentbewohner in der Natur hauptsächlich in seichten Gewässern, wie kleinen Seen oder Tümpeln vorkommt. Mit dem Glanzwurm lassen sich potenziell toxische Effekte von Substanzen und anthro- pogenen Spurenstoffen aufzeigen, die aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften vorzugsweise an Feststoffe wie Sedimente oder Bodenpartikel binden. Als biologische Endpunkte werden bei diesem Testsystem die Reproduktion und die Biomasse der Würmer nach Testende erfasst.



Bild 20: Glanzwurm *Lumbriculus variegatus*

Der Große Wasserfloh *Daphnia magna* Straus (s. Bild 21) ist ein Standard Testorganismus und gilt als Vertreter der limnischen Primärkonsumenten. Er ist Bestandteil des Zooplanktons in stehenden Gewässern und stellt eine wichtige Nahrungsquelle für Fische dar (Peters & De Bernardi 1987). Der Bioassay mit *Daphnia magna* ist ein Reproduktionstest, bei dem die Gesamtzahl der Nachkommen über den Testzeitraum von 21 Tagen ermittelt wird. Unter Einbeziehung der Mortalität der eingesetzten Daphnien kann daraus die Populationswachstumsrate als weiterer Endpunkt berechnet werden.



Bild 21: Großer Wasserfloh *Daphnia magna* Straus

Um mögliche schädigende Auswirkungen von toxischen Substanzen auf aquatische Primärproduzenten einzuschätzen, kann die Kleine Wasserlinse *Lemna minor* (s. Bild 22) als Testorganismus ver-

wendet werden. Im Bioassay mit der Kleinen Wasserlinse werden die Effekte auf das Wachstum der Pflanzen erfasst. Dies geschieht über die Anzahl der Fronds (Blättchen) und mit Hilfe der Biomasse.

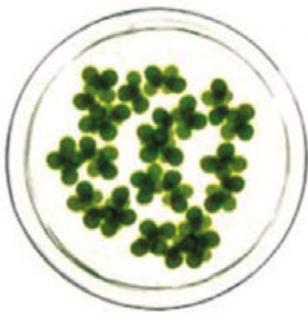


Bild 22: Kleine Wasserlinse *Lemna minor*

4.5 Nachweis von mikrobiologischen Belastungen und Antibiotikaresistenzen

Der Anstieg antibiotikaresistenter Krankheitserreger wurde von der WHO vor allem im klinischen Bereich als zunehmendes Problem erkannt, das zukünftig die Gesundheitsvorsorge der Weltbevölkerung vor große Herausforderungen stellen wird. Selbst gegen neue Antibiotika sind bereits Resistenzen in Bakterien nachweisbar.

Das im Rahmen des BMBF-geförderten TransRisk-Vorhabens entwickelte Konzept zur Erfassung von Resistenzlagen in aquatischen Systemen ist in Bild 23 dargestellt. Es ermöglicht die Identifizierung von Verbreitungswegen antibiotikaresistenter Bakterien. Durch eine Kombination von Molekularbiologie, die es ermöglicht, die Resistenzlage in einer Biozönose zu untersuchen, mit kulturellen Verfahren zur Erfassung spezifischer Bakterien, können unterschiedliche Messstellen nach mikrobiologischen Gesichtspunkten bewertet werden (siehe auch RiSKWa-Statuspapier: Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen, 2015). Somit lassen sich Risikopotenziale sowohl in der Umwelt als auch bei technischen Verfahren erkennen und daraus Empfehlungen für eine weitergehende Wasseraufbereitung ableiten, um die Emission von Resistenzgenen bzw. multiresistenter Bakterien zu minimieren. Dieses Konzept ist die Grundlage für die biologische Bewertung eines aquatischen Habitats und auch für Aufbereitungstechniken in Bezug auf Antibiotikaresistenzen.



Bild 23: Strategie für die mikrobiologische Bewertung eines aquatischen Habitats in Bezug auf Antibiotikaresistenzen und Krankheitserreger (aus: RiSKWa-Statuspapier: Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen, 2015)

5 Strategien zur Risikocharakterisierung von Abwasserreinigungstechnologien

Zur Eliminierung von anthropogenen Spurenstoffen aus konventionell gereinigtem Abwasser werden verschiedene nachgeschaltete Verfahren diskutiert. Die Ozonung ist eines der vielversprechendsten Verfahren, das Spurenstoffe durch die Oxidation mittels Ozon eliminiert. Auch die Abundanz fakultativ pathogener Bakterien wird durch Ozon reduziert (ABEGGLEN & SIEGRIST 2012). Unter üblichen Betriebsbedingungen werden die meisten Spurenstoffe jedoch zu sogenannten Transformationsprodukten (TPs) umgewandelt, die in ihren stofflichen Eigenschaften und ihrer Wirkung unbekannt sind und damit eine potenzielle Gefährdung für die aquatische Umwelt darstellen (PRASSE et al. 2012; HÜBNER et al. 2014). Die Bestimmung der (Öko)toxizität von TPs ist in vielen Fällen allerdings stark durch die Nicht-Verfügbarkeit der TPs als testfähige Reinsubstanzen eingeschränkt. Im Rahmen von TransRisk wurde eine Strategie entwickelt (SCHLÜTER-VORBERG et al. 2015), die im Abwasserreinigungsprozess entstehenden TPs dennoch zu untersuchen (s. Abschnitt 5.3). Zur Minderung ökotoxikologisch bedenklicher Effekte, die möglicherweise von TPs hervorgerufen werden, erweisen sich biologisch aktive Behandlungsverfahren wie beispielsweise Sandfilter als geeignete Lösung (ABEGGLEN et al. 2009; ESCHER et al. 2009).

Im Rahmen des BMBF-Projektes TransRisk wurde die Eliminierung von Mikroverunreinigungen und fakultativ pathogenen Bakterien durch die konventionelle Abwasserreinigung, durch eine Membranbiologie (Membranbioreaktor, MBR) und durch die weitergehende Abwasserreinigung mittels Ozonung untersucht. Dabei wurde auch die Eliminierung von in der Ozonung nicht eliminierten Spurenstoffen sowie der während der Ozonung gebildeten TPs durch biologische und adsorptive Abwasserreinigungstechniken berücksichtigt. Zur Bewertung der Verfahren kamen sowohl chemisch-analytische als auch ökotoxikologische Methoden zum Einsatz, um den tatsächlichen Effekt für das aufnehmende Gewässer beurteilen zu können.

Techniken zur gezielten Elimination von anthropogenen Spurenstoffen aus Abwasser sind in dem DWA-Themenband „Möglichkeiten der Elimination von anthropogenen Spurenstoffen“ (April 2015) beschrieben.

5.1 Verfahrenskombinationen für die zielgerichtete Entfernung von Spurenstoffen und Transformationsprodukten

Zur weitergehenden Behandlung von biologisch gereinigtem Kommunalabwasser wurden in dem BMBF-Projekt TransRisk unterschiedliche Verfahrenskombinationen mit realem Abwasser erprobt. Zwei verschiedene Behandlungssysteme mit strategisch angeordneten Probenahmestellen bildeten die Grundlage für die Untersuchungen im Projekt.

5.1.1 Konventionelle Belebung, Ozonung und Filtration (Behandlungssystem 1)

Behandlungssystem 1 umfasste die in Reihe geschalteten Behandlungsstufen a) konventionelle Belebung, b) Ozonung und c) der Ozonung nachgeschaltete parallel betriebene, belüftete und unbelüftete Bio- und Aktivkohlefilter (s. Bild 24).

Nach der konventionellen biologischen Abwasserbehandlung (mittleres Schlammalter: 12,5 Tage) wurde ein Teilstrom entnommen, mit einem Mikrosieb (10 µm) gesiebt und schließlich der Ozonung zugeführt. Der ozonte Ablauf speiste je zwei Aktivkohlefilter und zwei Biofilter. Im Aktivkohlefilter kam granuliert Aktivkohle (GAK) zum Einsatz. Der GAK-Filter 1 und Biofilter 1 blieben jeweils unbelüftet, GAK-Filter 2 und Biofilter 2 wurden belüftet. Die GAK-Filter waren mit gebrochener Kornaktivkohle, die Biofilter mit rundem Blähton ausgestattet. Vor und nach jeder Behandlungsstufe befanden sich Probenahmestellen zur Entnahme von 24 h-Mischproben.

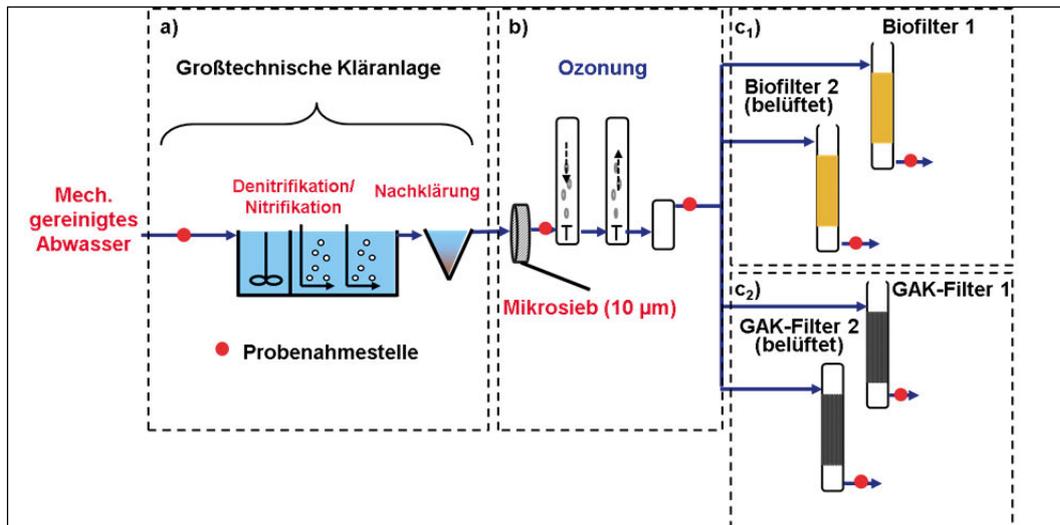


Bild 24: Behandlungssystem 1 bestehend aus a) konventioneller Belebungsanlage (50.000 EW) mit anschließender Mikrosiebung, b) Ozonung sowie c₁) Aktivkohle- und c₂) Biofiltration im halbtechnischen Maßstab

Für Behandlungssystem 1 wurde das Langzeitpotenzial zur Eliminierung von ausgewählten Mikroverunreinigungen untersucht. Dabei wurden auch ausgewählte, aus der jeweiligen Ausgangsverbindung gebildete TPs analysiert. Aus der Differenz der Eliminierung in den Biofiltern und an biologisch aktiver Aktivkohle kann das Adsorptionspotenzial abgeschätzt werden. Zusätzlich richtete sich der Blick auf das Auftreten und Verhalten fakultativ pathogener Bakterien. Als Zielgrößen für die Ozonung wurden eine spezifische Ozonzehrung [z] im Bereich von 0,7 bis 1,0 g O₃/g DOC und eine hydraulische Verweilzeit (HRT) in den Reaktoren von ca. 17 min eingestellt. Für die Aktivkohle- und Biofilter wurde eine Filtergeschwindigkeit (v_F) von ca. 4-5 m/h und eine Leerbettverweilzeit (EBCT) von ca. 28 min – 35 min gewählt.

5.1.2 Membranbioreaktor und Ozonung (Behandlungssystem 2)

Das Behandlungssystem 2 (s. Bild 25) bestand aus zwei parallel betriebenen Membranbioreaktoren (MBR), die bei einem Schlammalter von im Mittel 51 Tagen betrieben wurden. MBR 1 verfügte über eine nachgeschaltete Ozonung, die durch Rückführung eines Teilstroms des ozonten Permeats in den Versuchs-MBR in das MBR-System integriert wurde. Die Membranbioreaktoren waren identisch aufgebaut, verfügten über eine vorgeschaltete Denitrifikation und einen Nitrifikationsreaktor. Die teilintegrierte Ozonanlage bestand aus einem Ozonreaktor, einem Ausgasungsbehälter sowie einem Ozonerzeuger.

Mit Behandlungssystem 2 konnte der Einfluss des Rücklaufverhältnisses auf die Elimination von Spurenstoffen untersucht werden. Diesen Untersuchungen lag die Hypothese zugrunde, dass durch die Teiloxidation bei der Ozonung die biologische Abbaubarkeit im MBR erhöht wird. Der Anteil des zurückgeführten ozonten Volumenstroms am zugeführten Rohabwasservolumenstrom gibt das Rücklaufverhältnis (RV) an. Es wurden Rücklaufverhältnisse von 0, 1 und 2 gewählt. Als Bezugspunkt der Ozondosierung wurde Zulauf zum Versuchs-MBR gewählt. Die Auswahl der Verfahrensparameter orientierte sich an Behandlungssystem 1.

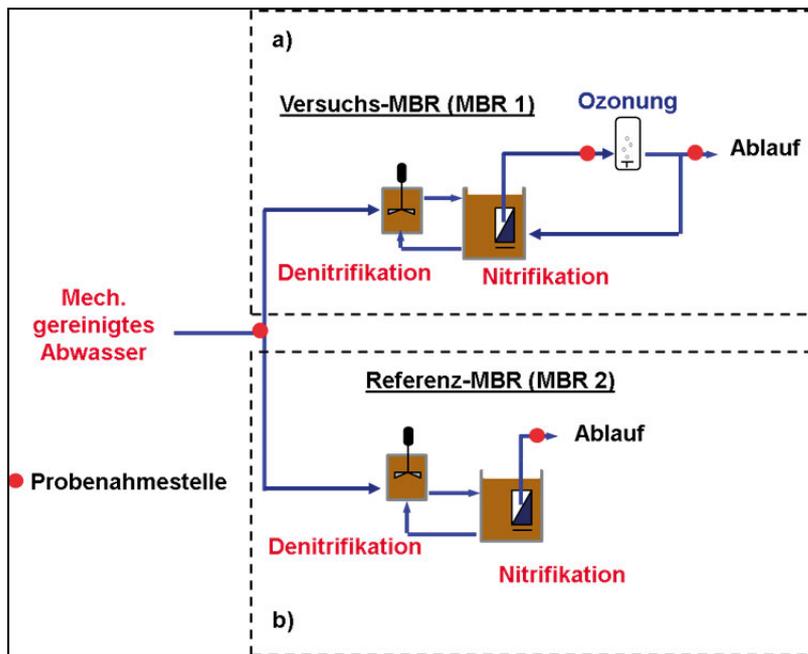


Bild 25: Behandlungssystem 2 bestehend aus zwei parallel geschalteten Membranbioreaktoren (MBR): a) Versuchs-MBR (MBR 1) mit angeschlossener Ozonung und Teilrückführung und b) Referenz-MBR (MBR 2) ohne Nachbehandlung

5.2 Bewertung der Leistungsfähigkeit von Abwasserreinigungsverfahren zur zielgerichteten Spurenstoffelimination auf Basis chemisch-analytischer und mikrobiologischer Befunde

Zur Bewertung der in Abschnitt 5.1 beschriebenen Abwasserbehandlungssysteme wurden 30 Indikatortsubstanzen aus unterschiedlichen Anwendungsbereichen (Medizin, Industrie etc.) ausgewählt, hierunter zwei Substanzen, die bekannte stabile Transformationsprodukte bilden: das Schmerzmittel Tramadol und sein Transformationsprodukt Tramadol-N-Oxid sowie das Virostatikum Acyclovir und seine Transformationsprodukte Carboxy-Acyclovir und N-[4-carbamoyl-2-imino-5-oxoimidazolidin]-formamido-N-methoxyessigsäure (COFA). Die Bildung von Tramadol-N-Oxid erfolgt ausschließlich in der Ozonung, während Acyclovir in der biologischen Abwasserreinigung zu Carboxy-Acyclovir und in der Ozonung zu COFA transformiert wird (PRASSE et al. 2011; ZIMMERMANN et al. 2011a; PRASSE et al. 2012).

Die Darstellung der nachfolgenden Ergebnisse basiert auf den fünf ausgewählten Substanzen 1H-Benzotriazol, Diclofenac, Diatrizoat, Carbamazepin und Sulfamethoxazol. Zusätzlich richtet sich der Fokus auf die beiden oben genannten Ausgangssubstanz-Transformationsprodukt-Paare. Die Konzentrationen im Zulauf und im Ablauf der konventionellen Kläranlage, der Ozonung sowie der MBR sind als Mittelwert angegeben. Die Konzentrationsangaben im Ablauf der Filter stellen über den Durchsatz integrierte Werte dar, d. h. das Verhältnis der emittierten Gesamtmasse einer Substanz zu (behandeltem) Gesamtvolumen eines Filters.

5.2.1 Leistungsfähigkeit der konventionellen Abwasserreinigung und der nachgeschalteten Ozonung

Anthropogene Spurenstoffe

Die meisten Spurenstoffe wurden in dem konventionellen Abwasserreinigungsprozess (KA) nicht oder nur teilweise eliminiert. Das Antiepileptikum Carbamazepin wird praktisch nicht biologisch abgebaut (s. Bild 26) [KNOPP et al. 2016]. Auch das Schmerzmittel Diclofenac wurde nur mäßig, d. h. zu < 30 % eliminiert (24 %). Lediglich eine mäßige Eliminierung (30-80 %) konnte für die Substanzen 1H-Benzotriazol (Korrosionsschutzmittel) mit 68 %, Sulfamethoxazol (Antibiotikum) mit 57 % und Diatrizoat (Röntgenkontrastmittel) mit 43 % erreicht werden. In Kombination mit der nachgeschalteten Ozonung (KA+O₃) ließen sich die meisten Mikroverunreinigungen zu über 80 % auf Konzentrationen im Bereich der Bestimmungsgrenze bzw. unter die Bestimmungsgrenze (0,025 µg/L) reduzieren (s. Bild 26). Eine Ausnahme bildete das schwer eliminierbare Röntgenkontrastmittel Diatrizoat (58 %).

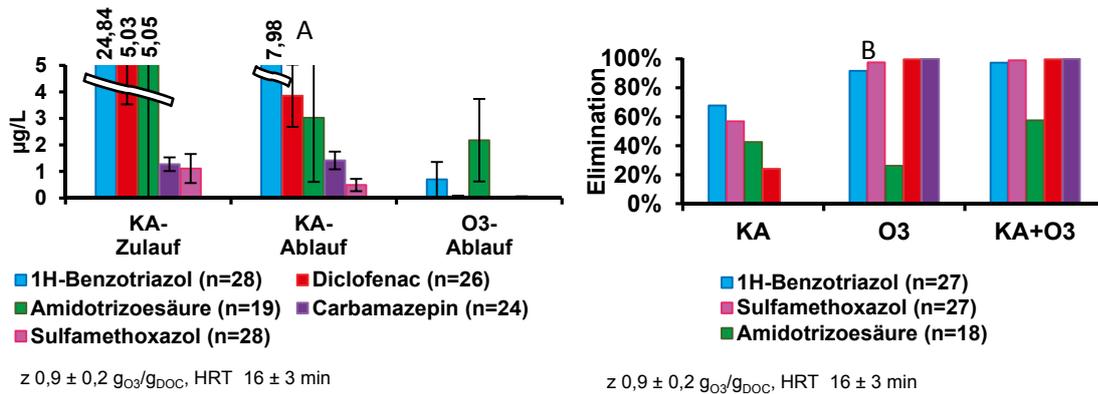


Bild 26: Konzentrationen (A) und Eliminationsgrade (B) ausgewählter Mikroverunreinigungen für die konventionelle Abwasserreinigung (KA), die nachgeschaltete Ozonung (O₃) und die Kombination der konventionellen Abwasserreinigung mit nachgeschalteter Ozonung (KA+O₃)

Transformationsprodukte

Das Schmerzmittel Tramadol wurde durch Ozonung teilweise in Tramadol-N-Oxid transformiert (s. Bild 26A). Unter Realbedingungen wurden im Mittel etwa 4 % der Ausgangssubstanz transformiert. In der biologischen Reinigungsstufe finden biotische und abiotische Oxidations- bzw. Transformationsprozesse statt. So wurde das Virostatikum Acyclovir in der biologischen Stufe zu Carboxy-Acyclovir und in der nachfolgenden Ozonung weiter zu COFA transformiert (s. Bild 26B). Es zeigten sich mittlere Transformationsraten von 69 % für die Transformation von Acyclovir zu Carboxy-Acyclovir und 68 % für die Transformation von Carboxy-Acyclovir zu COFA.

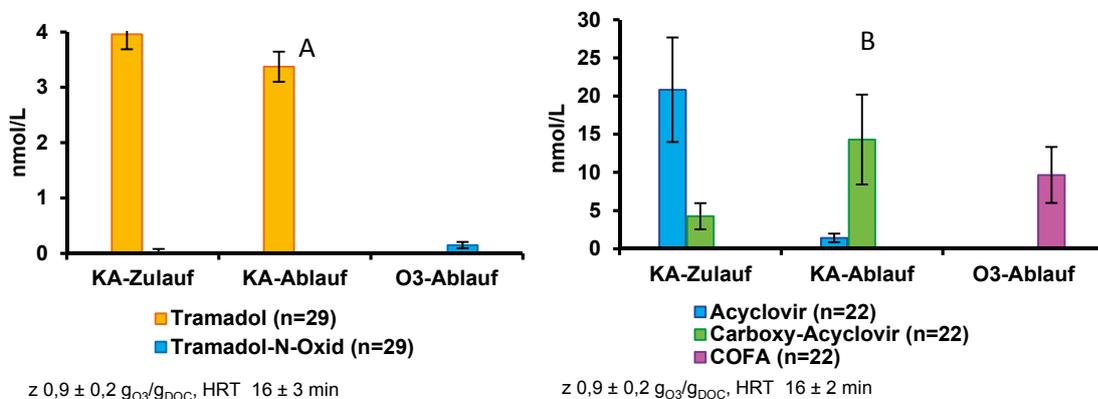


Bild 27: Eliminierung und Bildung der Ausgangssubstanz/TP-Paare Tramadol/Tramadol-N-Oxid (A) und Acyclovir/Carboxy-Acyclovir/COFA (B)

Summenparameter und (fakultativ) pathogene Bakterien

Der CSB der filtrierten Probe (CSB_f) und der DOC des Kläranlagenablaufs wurden durch die Ozonung im Mittel zu 16 % resp. 6 % gesenkt (s. Bild 28A). Die Anzahl der fakultativ pathogenen Bakterien beruht auf der Bestimmung durch kultur-basierte Verfahren (MPN-Verfahren, DIN EN ISO 9308-2 und DIN EN ISO 7899-1). Diese Bestimmungen sind als Ergänzung zu genaueren, in Abschnitt 5.6 angewandten Bestimmungsverfahren, zu sehen. Auf Grundlage dessen konnten die betrachteten fakultativ pathogenen Bakterien durch den konventionellen Klärprozess um 3 log₁₀-Stufen reduziert werden (s. Bild 28B). Durch die Ozonung erfolgte eine weitere Absenkung um 3-4 log₁₀-Stufen (s. Bild 28B).

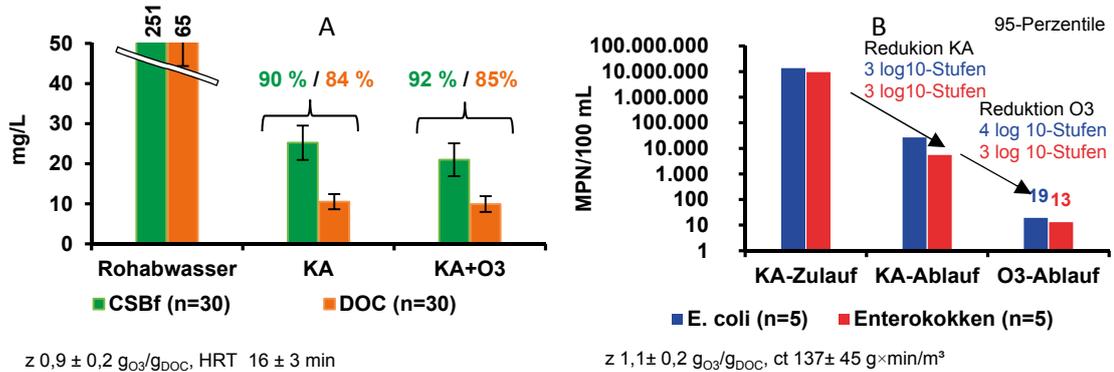


Bild 28: Elimination der organischen Summenparameter CSB_f und DOC (A) sowie Reduktion der (fakultativ) pathogenen Bakterien *Escherichia coli* und Enterokokken (B)

5.2.2 Leistungsfähigkeit der Ozonung nachgeschalteter Verfahrensstufen

Anthropogene Spurenstoffe

Die Konzentrationen der nach der Ozonung noch nachweisbaren Spurenstoffe konnten durch die nachgeschalteten Aktivkohlefilter weiter vermindert werden (s. Bild 29A und 29B). Die Biofilter zeigten im Rahmen der Messgenauigkeit dagegen keine messbare Eliminierung. Generell konnte zwischen unbelüfteten und belüfteten Filtern kein Unterschied in der Abbauleistung festgestellt werden, da das Wasser durch die Ozonung schon an Sauerstoff gesättigt war. Die Konzentration der Industriechemikalie 1H-Benzotriazol (Korrosionsschutzmittel) konnte durch die Aktivkohlefilter im Mittel auf die Größenordnung der Bestimmungsgrenze (0,025 µg/L) gesenkt werden. Bezogen auf den Ablauf der Ozonung ergaben sich Eliminationsgrade von 93 % (GAKu) und 97 % (GAKb). Das Röntgenkontrastmittel Diatrizoat erfuhr durch die Aktivkohlefilter eine Minderung um 29 % (GAKu) resp. 25 % (GAKb).

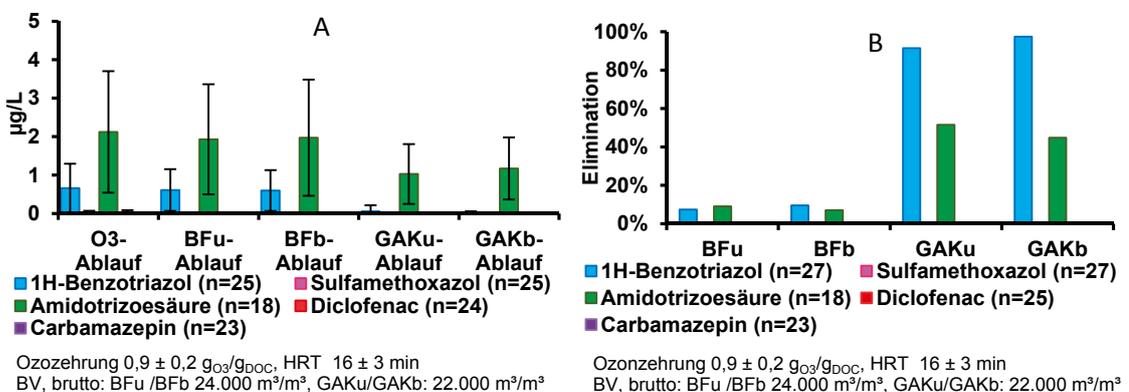


Bild 29: Eliminierung ausgewählter Mikroverunreinigungen durch der Ozonung nachgeschaltete Bio- bzw. Aktivkohlefilter (BF= Biofilter, GAK = Aktivkohlefilter, u = unbelüftet, b = belüftet, BV = behandelte Bettvolumina): A – Minderung der Konzentration, B – Elimination

Transformationsprodukte

Das in der Ozonung aus dem Schmerzmittel Tramadol gebildete TP Tramadol-N-Oxid konnte durch die granulierten Aktivkohlefilter eliminiert werden (s. Bild 30A), nicht jedoch durch die Biofilter. COFA, ein Transformationsprodukt des Virostatikums Acyclovir, wurde weder durch die Biofilter noch durch die Aktivkohlefilter eliminiert (s. Bild 30B). Zwischen den unbelüfteten und belüfteten Filtern konnte im Rahmen der Messgenauigkeit kein Unterschied festgestellt werden.

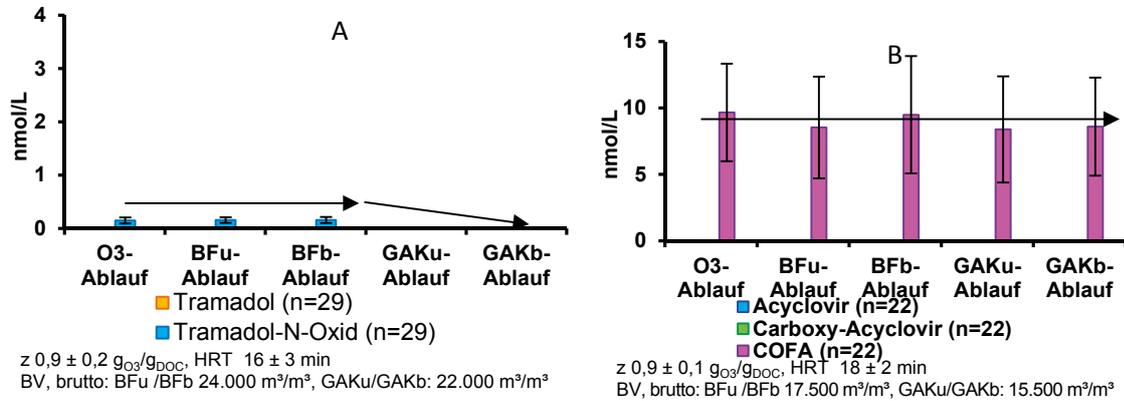


Bild 30: Elimination der gebildeten Transformationsprodukte Tramadol-N-Oxid (Ausgangssubstanz Tramadol) (A) und COFA (Ausgangssubstanzen Acyclovir/Carboxy-Acyclovir) (B) durch nachgeschaltete Bio- bzw. Aktivkohlefilter (BF = Biofilter, GAK = Aktivkohlefilter, u = unbelüftet, b = belüftet, BV = behandelte Bettvolumina)

Summenparameter und fakultativ pathogene Bakterien

Durch die Filtersysteme können die Restkonzentrationen des CSB in der filtrierten Probe (CSB_f ; Porendurchmesser: $0,45 \mu\text{m}$) und des DOC weiter eliminiert werden. Während die Biofilter den CSB_f und den DOC um rd. 20 % eliminierten, war für die Aktivkohlefilter eine deutlich stärker ausgeprägte Eliminierung von 47 % zu beobachten (behandelte Bettvolumina Biofilter: $22.000 \text{ m}^3/\text{m}^3$, GAK-Filter: $24.000 \text{ m}^3/\text{m}^3$). Der CSB konnte durch die Aktivkohlefilter unter $15\text{-}20 \text{ mg/L}$ gesenkt werden (s. Bild 31A). Die fakultativ pathogenen Bakterien (Kultur-Methode, MPN-Verfahren) wurden durch die Filter weiter reduziert (s. Bild 31B). Allerdings bewegte sich die Anzahl an *Escherichia coli* und Enterokokken bereits nach der Ozonung im Bereich der Bestimmungsgrenze ($1,0 \text{ MPN}/100 \text{ mL}$).

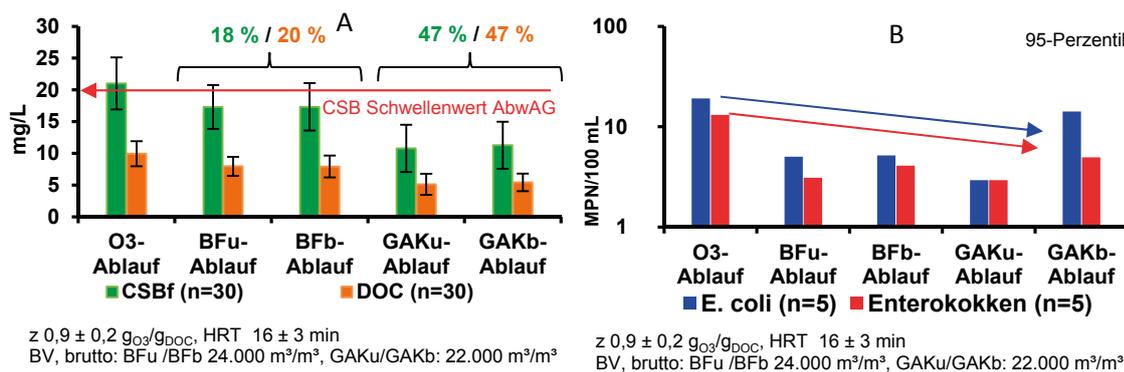


Bild 31: Eliminierung organischer Summenparameter CSB, und DOC (A) sowie Reduktion der fakultativ pathogenen Bakterien *Escherichia coli* und Enterokokken (B) durch die der Ozonung nachgeschalteten Bio- bzw. Aktivkohlefilter (BF = Biofilter, GAK = Aktivkohlefilter, u = unbelüftet, b = belüftet)

5.2.3 Leistungsfähigkeit der in ein biologisches Abwasserreinigungssystem integrierten Ozonung

Anthropogene Spurenstoffe

Der ozonte Ablauf eines Membranbioreaktors (MBR) führte erwartungsgemäß zu einer besseren Eliminierung von Spurenstoffen als im nicht ozonten Ablauf der Referenzanlage (s. Bild 32A). Durch die Rückführung von ozontem Abwasser in den MBR ließ sich die Eliminierung des biologischen Systems jedoch nicht weiter steigern (s. Bild 32B). Die niedrigeren gemessenen Ablaufwerte im Versuchs-MBR waren lediglich Folge der Verdünnung durch die Rückführung.

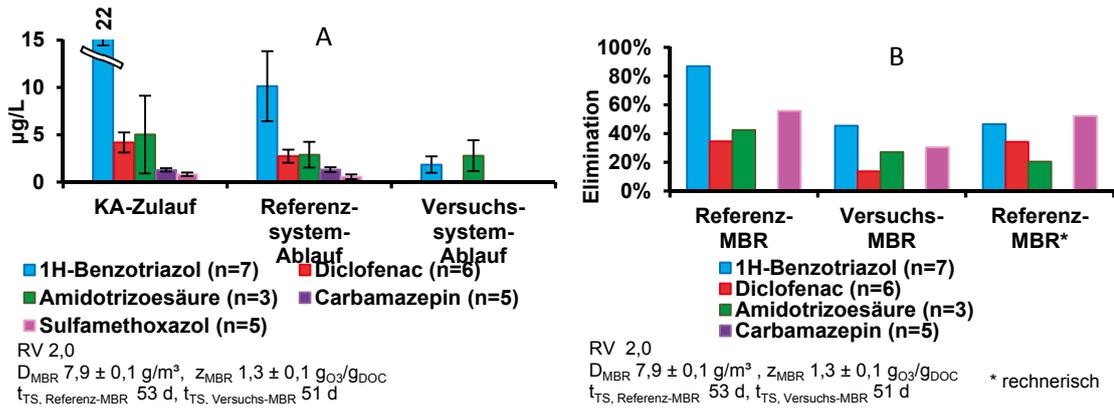


Bild 32: Gegenüberstellung der Konzentrationen im Zulauf und Ablauf des Referenz- und Versuchssystems (A) sowie Eliminierung der Referenz- und Versuchssystem-MBR (B) für ausgewählte Spurenstoffen

Transformationsprodukte

Auch für die ausgewählten Transformationsprodukte konnte durch die Rückführung keine Steigerung der Eliminierung beobachtet werden. Exemplarisch sind in Bild 33 die für das Versuchs- und das Referenzsystem maßgeblichen Stoffströme für das Schmerzmittel Tramadol und sein Transformationsprodukt Tramadol-N-Oxid an einem Probenahmekampagnen-Tag dargestellt. Deutlich zu erkennen ist, dass das in der Ozonung gebildete Tramadol-N-Oxid durch die Rückführung in das biologische System eingetragen wurde [Zulauf fracht Versuchssystem-MBR (inkl. Rückführung, RF) = Rückführung fracht Versuchssystem-MBR]. Im Rahmen der Messungenauigkeit entsprach die Minderung der Zulauf fracht an Tramadol-N-Oxid der durch das eingestellte Rücklaufverhältnis zu erwartenden Reduktion ($RV = 1,9 \rightarrow$ Verdünnung $1,9/2,9 \approx 0,66 \approx 31/45$).

Eine Minderung des zugeführten Tramadol-N-Oxid-Stromes durch die MBR-Biologie war nicht zu beobachten.

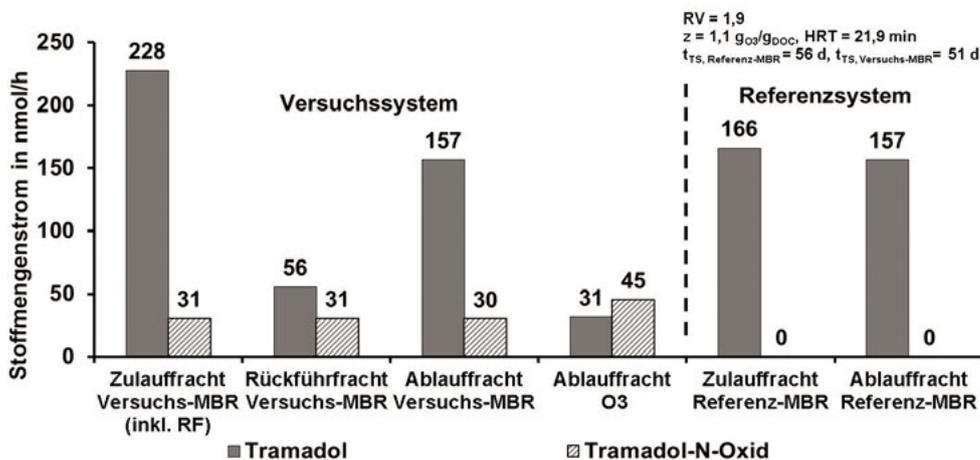


Bild 33: Aufteilung Stoffströme für Versuchs- und Referenzsystem für Tramadol und Tramadol-N-Oxid am Tag der Probenahmekampagne

Summenparameter und fakultativ pathogene Bakterien

Durch die eingesetzte Membrantechnik konnte erwartungsgemäß eine gute Abscheidung der hier untersuchten fakultativ pathogenen Bakterien erzielt werden (Kultur-Methode, MPN-Verfahren, nicht dargestellt). Eine nachgeschaltete/integrierte Ozonung ist für den Zweck der weiteren Reduktion von Bakterien nicht notwendig. Durch die nachgeschaltete/integrierte Ozonung können die DOC und CSB_f-Konzentrationen im Vergleich zum Referenzsystem weiter gesenkt werden (s. Bild 34A). Für das Referenzsystem konnte der filtrierte CSB (= Gesamt-CSB) im Mittel auf 15 mg/L und somit deutlich unter den CSB-Schwellenwert des Abwasserabgabegesetzes (AbwAG) von 20 mg/L gesenkt werden. Die Rückführung von ozontem Abwasser führte zu keiner erhöhten biologischen Elimination von CSB_f und DOC (s. Bild 34B). Die niedrigen Ablaufwerte sind auf die Verdünnung mit ozontem Abwasser zurückzuführen.

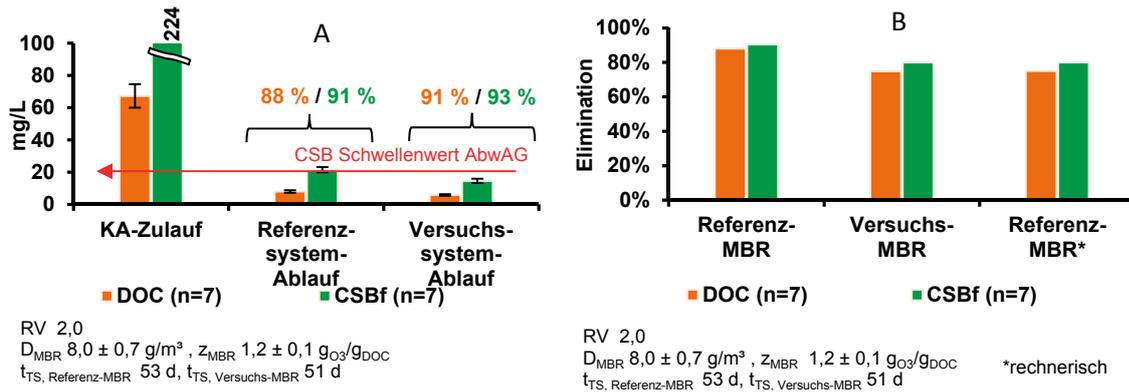


Bild 34: CSB_f und DOC Konzentrationen im Zu- und Ablauf des Referenz- und Versuchssystems (A) sowie Elimination der Summenparameter CSB_f und DOC für Referenz- und Versuchssystem-MBR

5.2.4 Zusammenfassende Schlussfolgerungen zur Leistungsfähigkeit zielgerichteter Verfahren der Spurenstoff- und Bakterienelimination auf Basis chemisch-analytischer und mikrobiologischer Untersuchungen

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die biologische Abwasserreinigung eine Vielzahl von anthropogenen Spurenstoffen nur unzureichend eliminiert.

Die erweiterte Abwasserbehandlung mittels Ozonung (spezifische Ozonzehrung 0,7-1,0 g_{O3}/g_{DOC}) trägt wesentlich zur zielgerichteten Eliminierung zahlreicher Mikroverunreinigungen bei. Allerdings führt die Ozonung in der Regel lediglich zu einer Transformation der Spurenstoffe. TPs müssen also unbedingt bei der Bewertung der Leistungsfähigkeit der Ozonung berücksichtigt werden. Mit zunehmender Ozondosis konnten die untersuchten Spurenstoffe effektiver entfernt werden (nicht dargestellt).

Eine Nachbehandlung mittels Biofilter ist nicht in der Lage die gebildeten TPs Tramadol-N-Oxid und COFA zu eliminieren. Dies steht im Widerspruch zu der Annahme, dass in der Ozonung vor allem Substanzen gebildet werden, die leicht biologisch abbaubar sind (RICHARDSON et al. 1999; HAMMES et al. 2006; ZIMMERMANN et al. 2011b). Durch die Aktivkohlefilter konnte Tramadol-N-Oxid über den gesamten Betriebszeitraum der Aktivkohlefilter (rd. 27.000 Bettvolumen) komplett zurückgehalten werden. Das TP COFA konnte auch durch die Aktivkohlefilter nicht eliminiert werden. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass durch die Ozonung die Polarität der Verbindungen erhöht wird und sich somit deren Adsorbierbarkeit an der Aktivkohle tendenziell verschlechtern kann (VON SONNTAG & VON GUNTEN 2012; WORCH 2012).

Die nachgeschaltete Ozonung reduziert zusätzlich zu den Spurenstoffen kultivierbare fakultativ pathogene Bakterien. *Escherichia coli* und Enterokokken können um 2 bis 3 Zehnerpotenzen abgesenkt werden.

Die nachgeschalteten Aktivkohlefilter sind in der Lage, den CSB in der filtrierte Probe (CSB_f) unter den CSB-Schwellenwert des Abwasserabgabengesetzes (AbwAG) zu senken.

Die Rückführung von ozontem Abwasser in einen Membranbioreaktor führt zu keiner verbesserten Eliminierung von Mikroverunreinigungen und abwasserspezifischen Summenparametern im Vergleich zu einem herkömmlichen Membranbioreaktor mit anschließender Ozonung. Die beiden betrachteten TP's Tramadol-N-Oxid und COFA weisen zwar darauf hin, dass die Kopplung keine Verbesserung bringt, allerdings lässt sich diese Beobachtung nicht verallgemeinern.

5.3 Toxifizierung durch Transformation in konventioneller Abwasserreinigung und zielgerichteter Spurenstoffelimination am Beispiel von Acyclovir

Die Ozonung als Verfahren der zielgerichteten Spurenstoffelimination birgt das Risiko der Bildung von polaren TP's mit unbekannter Toxizität. Das belegen die im vorausgegangenen Abschnitt 5.2 dargestellten Ergebnisse. Das Antivirenmittel Acyclovir, das von den Patienten zu 45 % bis 75 % unverändert ausgeschieden wird, ist ein Beispiel für ein Arzneimittel, dessen TP's strukturell identifiziert sind. Während der biologischen Abwasserreinigung entsteht aus Acyclovir im Zuge der Nitrifikation Carboxy-Acyclovir. Durch den Prozess der Ozonung wird daraus COFA (N-(4-carbamoyl-2-imino-5-oxoimidazolidin)-formamido-N-methoxyessigsäure) gebildet. Als besonders stabiles und polares Molekül lässt sich COFA weder durch Bio- noch durch Aktivkohlefiltration aus dem Abwasser entfernen.

Beide oben genannten TP's von Acyclovir wurden bereits in Flüssen, im Zu- und Ablauf von Kläranlagen sowie im Trinkwasser gefunden. Um ihre aquatische Toxizität zu untersuchen, wären ausreichende Mengen der Reinsubstanzen erforderlich, die aber nur kostspielig zu synthetisieren sind. Stattdessen wählte man in TransRisk eine Methode, bei der sich die TP's im Labormaßstab durch Inkubation von Acyclovir mit behandeltem Abwasser und Klärschlamm unter aeroben Bedingungen und anschließender Ozonung bildeten. Ein paralleler Ansatz ohne Zusatz von Acyclovir diente als Kontrolle. Mit der Grünalge *Raphidocelis subcapitata* und dem Großen Wasserfloh *Daphnia magna* wurden die Proben des Laboransatzes untersucht. Unterschiede in der aquatischen Toxizität zwischen dem Ansatz mit Acyclovir und dem Kontrollansatz ohne Acyclovir konnten so auf die analytisch nachgewiesenen TP's zurückgeführt werden. Die Untersuchungen belegen, dass die Reproduktion und das Populationswachstum des Großen Wasserfloh *Daphnia magna* von Acyclovir bis zu einer Konzentration von 92 mg/l nicht beeinträchtigt wird. Die beobachtete Zunahme von Reproduktion und Populationswachstum in den Prozesskontrollen B (biologische Abwasserreinigung) und B+O (biologische Abwasserreinigung + Ozonung) im Vergleich zur Mediumkontrolle ist sehr wahrscheinlich auf die bessere Nährstoffversorgung durch die im Belebtschlamm lebenden Bakterien zurückzuführen. Für das TP Carboxy-Acyclovir (C-ACV) war eine signifikante Hemmung von Reproduktion und Populationswachstum nachweisbar, während das in der Ozonungsstufe gebildete COFA keinen toxischen Effekt auf den Wasserfloh zeigte.

Bei der Grünalge *Raphidocelis subcapitata* verkehrte sich jedoch das Bild. Der Zellertrag und die Wachstumsrate der Alge wurden durch COFA signifikant inhibiert, während Carboxy-Acyclovir keine Hemmung verursachte ebenso wie die Ausgangssubstanz Acyclovir. Die effektiven toxischen Konzentrationen der beiden TP's lagen jeweils oberhalb von 1mg/l und geben im Hinblick auf die gemessenen Umweltkonzentrationen damit keinen unmittelbaren Anlass zur Besorgnis. Allerdings belegen diese Untersuchungen an einem konkreten Einzelfall eines Arzneimittels, dass grundsätzlich im Verlauf der (weitergehenden) Abwasserreinigung die Ökotoxizität eines Spurenstoffes durch die Transformation zunehmen kann [SCHLÜTER-VORBERG et al. 2015].

5.4 Ökotoxikologische Bewertung von Abwasserreinigungsverfahren

Der Entwicklung des ökotoxikologischen Bewertungskonzeptes gingen im Rahmen des BMBF-Projektes TransRisk zahlreiche Biotestverfahren in einer eigens dafür errichteten Versuchsanordnung auf dem Versuchsfeld der TU Darmstadt voraus, deren Ergebnisse hier kurz dargestellt werden. Das Ziel der Untersuchungen bestand darin, die Effizienz von Verfahren der zielgerichteten Spurenstoffeli-

mination zu bewerten. Dies schließt die mögliche oxidative Bildung von TPs mit potenziell toxischer Wirkung ein. Bislang wurde meist nur die Eliminierung der Ausgangssubstanz chemisch-analytisch beobachtet, ohne nach möglichen Folgeprodukten mit unerwünschter toxischer Wirkung zu fahnden.

Für die ökotoxikologischen Effektstudien zu den eingesetzten technischen Verfahrenskombinationen (s. Abschnitt 5.2) kamen die in Abschnitt 4.2.1 und 4.2.2 vorgestellten Bioassays zum Einsatz. Für das chemisch-ökotoxikologische Bewertungskonzept (Abschnitt 5.6.1) wurden jedoch ausschließlich die In vitro-Verfahren (Abschnitt 4.2.1) herangezogen.

5.4.1 Ergebnisse der In vitro-Testverfahren

Die In vitro-Testverfahren sind in Abschnitt 4.4.1 vorgestellt worden.

Im konventionell gereinigten Abwasser der Versuchsanlage konnten hauptsächlich anti-östrogene und anti-androgene Aktivitäten nachgewiesen werden. Die Nachschaltung eines Mikrosiebs (\varnothing 10 μ m) hatte keinen relevanten Einfluss auf die gemessenen endokrinen und mutagenen/gentoxischen Aktivitäten.

Im Anschluss wurde konventionell gereinigtes Abwasser mit Ozon behandelt und die Effektivität verschiedener, der Ozonung nachgeschalteter Filtrationsverfahren bewertet. Vor der Ozonung wies das Abwasser vorwiegend östrogene, anti-östrogene und anti-androgene Aktivitäten auf. Nach der Ozonung traten keine östrogenen, jedoch anti-östrogene und anti-androgene Aktivitäten im behandelten Abwasser auf.

Die Bestimmungen der optimalen Ozonkonzentration und Ozonkontaktzeit zur Entfernung von Mikroschadstoffen ergaben für die untersuchten ökotoxikologischen Parameter, dass die östrogene Aktivität bei konstanter hydraulischer Verweilzeit mit steigender Ozonkonzentration sank, während die anti-östrogene Aktivität anstieg (s. Bild 35, 3A). Eine Verlängerung der hydraulischen Verweilzeit führte bei der gewählten Ozonkonzentration von 0,53 g O_3 , gezehrt/g DOC zu keiner weiteren Reduktion östrogenen Aktivitäten. Die anti-östrogene Aktivität stieg zunächst an, bis sie ein konstantes Niveau erreichte (s. Bild 35, 3B). Die Proben wurden jeweils als 10-fach angereicherte SPE-Extrakte getestet.

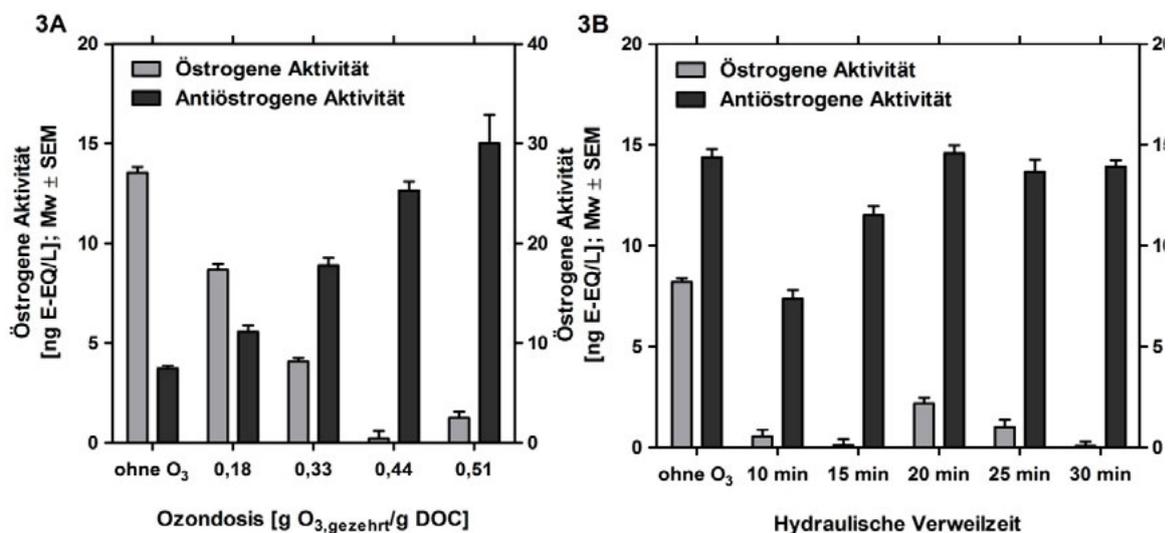


Bild 35: Östrogene und anti-östrogene Aktivitäten in den konventionell gereinigten („ohne O_3 “) und ozonten Abwasserproben der Versuchskläranlage; 3A: Aktivitäten in Abhängigkeit von der Ozondosis (0,18 bis 0,51 g O_3 , gezehrt/g DOC) bei konstanter hydraulischer Verweilzeit von 12,6 Minuten; 3B: Aktivitäten in Abhängigkeit von der hydraulischen Verweilzeit (4,6 bis 15,1 Minuten) bei konstanter Ozondosis von 0,53 g O_3 , gezehrt/g DOC; dargestellt sind die 17 β -Estradiol-Äquivalente (E-EQ) in ng/L bzw. die 4-Hydroxytamoxifen-Äquivalente (OHT-EQ) in mg/L, jeweils als Mittelwert (Mw) \pm Standardfehler (SEM)

Im Anschluss an die Optimierung der Ozonkonzentration und der Ozonkontaktzeit folgten Experimente zur weiterführenden Behandlung des ozonten Abwassers. Dazu wurde das konventionell gereinigte und ozonte Abwasser durch belüftete und unbelüftete Filtersysteme geleitet, die mit granulierter Aktivkohle (GAK) oder einem Biofilter (mit Blähton als Trägermaterial) ausgestattet waren.

Ein weiterer Technologieansatz bestand in der Verwendung von zwei Membranbioreaktoren (MBR), die mit mechanisch behandeltem Rohabwasser gespeist wurden. Der Ablauf des ersten MBR wurde anschließend ozont, und Teilmengen wurden wieder zurück in den MBR geführt. Das Abwasser des zweiten MBR wurde nicht nachbehandelt und diente als Referenz.

Bild 36 bezieht sich auf native Proben und zeigt, dass im Rohabwasser enthaltene östrogene und anti-östrogene Aktivitäten schon durch eine konventionelle Reinigung deutlich um 44,8 % bzw. 97,9 % reduziert, aber nicht vollständig eliminiert wurden. Nach der Ozonung mit $1,0 \text{ g O}_{3,\text{gezehrt}}/\text{g DOC}$ und einer hydraulischen Verweilzeit (HRT) von ~ 18 Minuten, sank die östrogene Aktivität in geringem Umfang (18,2 %) weiter ab, wohingegen die anti-östrogene Aktivität konstant blieb (Zunahme um weniger als 1 %). In Proben mit unbelüfteten bzw. belüfteten granulierten Aktivkohlefiltern und Biofiltern blieben die östrogenen Aktivitäten im Vergleich zum ozonierten Abwasser konstant niedrig, mit Änderungen der Aktivitäten zwischen 3,23 % und 17,1 %, während die anti-östrogenen Aktivitäten deutlich zwischen 15,9 % und 18,6 % anstiegen. Die Behandlungen in den Membranbioreaktoren reduzierten die östrogenen und anti-östrogenen Aktivitäten im Vergleich zum Rohabwasser mit 33,5-39,2 % bzw. 96,4-97,4 % ähnlich effizient wie die konventionelle Reinigung.

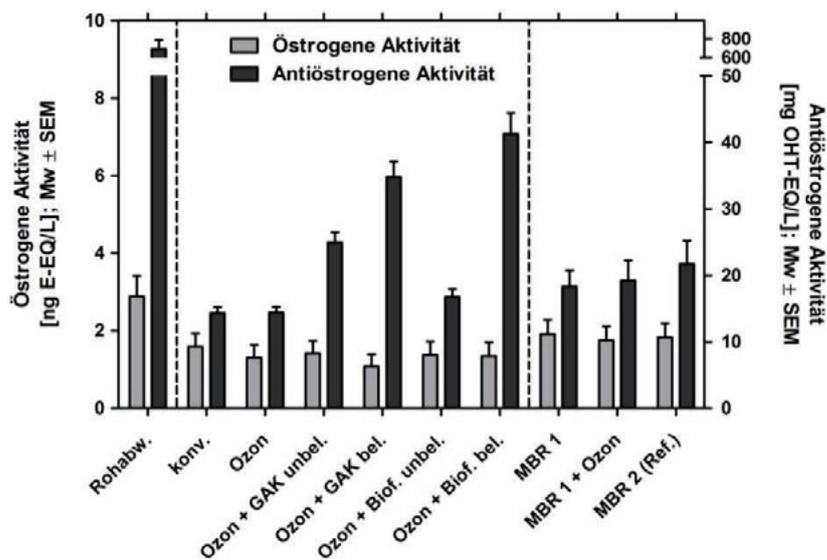


Bild 36: Östrogene und anti-östrogene Aktivitäten in nativen 24 h-Mischproben des Abwassers der Versuchskläranlage; dargestellt sind die 17β -Estradiol-Äquivalente (E-EQ) in ng/L bzw. die 4-Hydroxytamoxifen-Äquivalente (OHT-EQ) in mg/L, jeweils als Mittelwert \pm Standardfehler (Mw \pm SEM); Abkürzungen: Rohabw., Rohabwasser; konv., konventionell gereinigtes Abwasser; Ozon, ozoniertes Abwasser; GAK, granulierte Aktivkohle; unbel., unbelüftet; bel., belüftet; Biof., Biofilter; MBR, Membranbioreaktor; Ref., Referenz

Im Rohabwasser konnten ebenfalls hohe androgene Aktivitäten ($117 \pm 15,5 \text{ ng Testosteron-Äquivalente (T-EQ)}$) nachgewiesen werden, die jedoch durch die konventionelle Reinigung um 89,7 % reduziert wurden. Die Ozonung mit $1,0 \text{ g O}_{3,\text{gezehrt}}/\text{g DOC}$ und einer hydraulischen Verweilzeit (HRT) von ~ 18 Minuten bewirkte eine Zunahme der androgenen Aktivität um 32,4 %, wobei die weiteren Behandlungen des ozonten Abwassers mit unbelüfteten bzw. belüfteten granulierten Aktivkohlefiltern und Biofiltern die androgenen Aktivitäten zwischen 10,1 % und 22,3 % wieder reduzierten. Die Membranbioreaktoren reduzierten die androgenen Aktivitäten des Rohabwassers um Werte zwischen 90,3 % und 93,4 % erneut ähnlich effizient wie die konventionelle Reinigung. Anti-androgene Wirkpotenziale konnten mit dem Hefetest YAAS in keiner Probe detektiert werden.

Die Ergebnisse der Ames-Fluktuationstests mit dem *Salmonella typhimurium*-Stamm YG7108 und 10-fach angereicherten SPE-Extrakten ergaben keine Mutagenität im konventionell gereinigten Abwasser. Der Revertantenanteil, also die durch mutagene Substanzen ausgelösten Rückmutationen, erreichte 1,39 % bei einem Schwellenwert für mutagene Wirkpotenziale von > 20,8 % (s. Bild 37). Nach der Ozonung ließ sich dagegen eine Mutagenität mit einem Revertantenanteil von 89 % feststellen. Je höher der Revertantenanteil, umso größer ist das mutagene Wirkpotenzial der Substanzen in der Probe. Die Behandlung des ozonten Abwassers mit unbelüfteten und belüfteten Biofiltern reduzierte die Mutagenität um 36,4 % bzw. 41,9 %, jedoch nicht so effektiv wie die Behandlung mit unbelüfteter (82,9 %) und belüfteter (85,3 %) granulierter Aktivkohle. Im Abfluss der Membranbioreaktoren 1 und 2 konnte kein mutagenes Wirkpotenzial nachgewiesen werden (Revertantenanteil 1,39 % bzw. 0 %), die Proben des MBR 1 mit Ozonung hingegen wiesen eine hohe Mutagenität (Revertantenanteil: 63,2 %) auf.

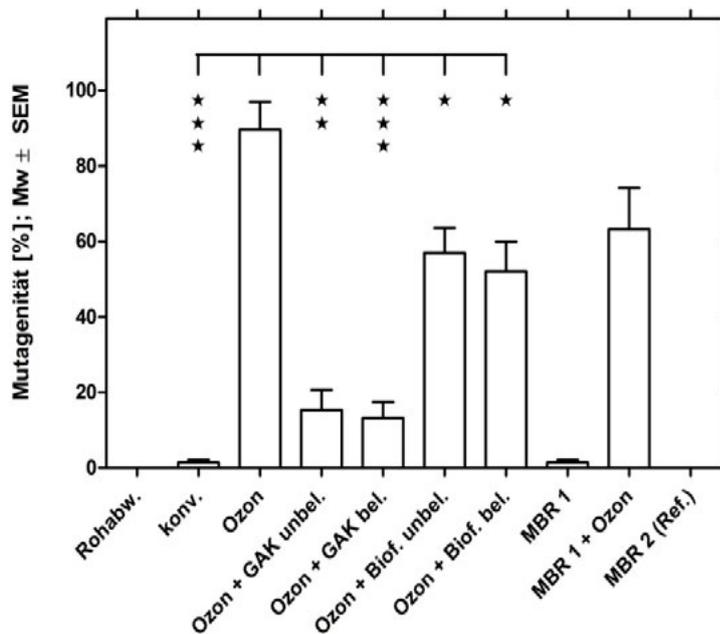


Bild 37: Mutagenität [Revertantenanteil in %] (Mittelwert ± Standardfehler (Mw ± SEM)) in 10-fach angereicherten SPE-Extrakten von 24 h-Mischproben des Abwassers der Versuchskläranlage; Abkürzungen: Rohabw., Rohabwasser; konv., konventionell gereinigtes Abwasser; Ozon, ozoniertes Abwasser; GAK, granulierte Aktivkohle; unbel., unbelüftet; bel., belüftet; Biof., Biofilter; MBR, Membranbioreaktor; Ref., Referenz. Signifikante Unterschiede zum ozonierten Abwasser sind mit Sternen gekennzeichnet (Ungepaarter t-Test: ★, $p \leq 0,05$; ★★, $p \leq 0,01$; ★★★, $p \leq 0,001$)

5.4.2 Ergebnisse der In vivo-Testverfahren

Die Beschreibung der In vivo-Testverfahren erfolgte in Abschnitt 4.4.2.

Zwergdeckelschnecken-Test

Bei gleicher Ausgangsgröße zeigten die im konventionell gereinigten Abwasser für 28 Tage gehaltenen Zwergdeckelschnecken eine signifikant größere Schale als die Tiere der Kontrollgruppe. Das stärkere Wachstum der Schnecken in der Abwasserprobe ist möglicherweise auf die zusätzliche Nährstoffversorgung durch das Abwasser zurückzuführen. Im ozonten Abwasser (mit und ohne nachgeschaltete Filtrationsverfahren) und in den Abläufen der beiden Membranbioreaktoren 1 blieb die Schalenhöhe der Schnecken dagegen auf dem Niveau der Kontrolltiere. Im Ablauf des Membranbioreaktors (MBR 2) wiesen die Schnecken ein signifikant vermindertes Wachstum im Vergleich zum konventionell gereinigten Abwasser auf.

Die Sensitivität der Zwergdeckelschnecken gegenüber östrogenartig wirkenden Substanzen wurde mit einer Positivkontrolle überprüft (PK: 50 ng/L 17 α -Ethinylestradiol (EE2)). Da die Tiere der Posi-

tivkontrolle mehr Nachkommen produzierten als die Kontrolltiere (K), die in östrogenfreiem Wasser gehalten wurden, konnte die Empfindlichkeit der eingesetzten Tiere für östrogenartig wirkende Substanzen gezeigt werden. Die Embryonenzahl von Tieren, die gegenüber konventionell gereinigtem Abwasser exponiert waren, war mit denen östrogenexponierter Tiere aus der Positivkontrolle vergleichbar. Im ozonten Abwasser sank die Embryonenzahl jedoch signifikant im Vergleich zum konventionell gereinigten Abwasser auf den Wert der Kontrollschnecken (s. Bild 38). Das ließ sich auch für Tiere, die in ozontem Abwasser mit nachgeschalteten, belüfteten Filtrationsschritten gehalten wurden, beobachten. Wurden der Aktivkohle- bzw. Biofilter nicht belüftet, war die Anzahl der Embryonen auf dem Niveau der Positivkontrolle bzw. der konventionellen Reinigung. Versuchstiere, die in MBR-behandeltem Wasser gehalten wurden, produzierten signifikant weniger Nachkommen als Tiere in konventionell gereinigtem Abwasser oder Tiere der Positivkontrolle. Ihre Embryonenzahl war durchschnittlich noch niedriger als die Embryonenzahl der Kontrolltiere, die in Hälterungswasser (Wasser, in dem die Organismen unter Kontrollbedingungen gehalten werden) gehalten wurden.

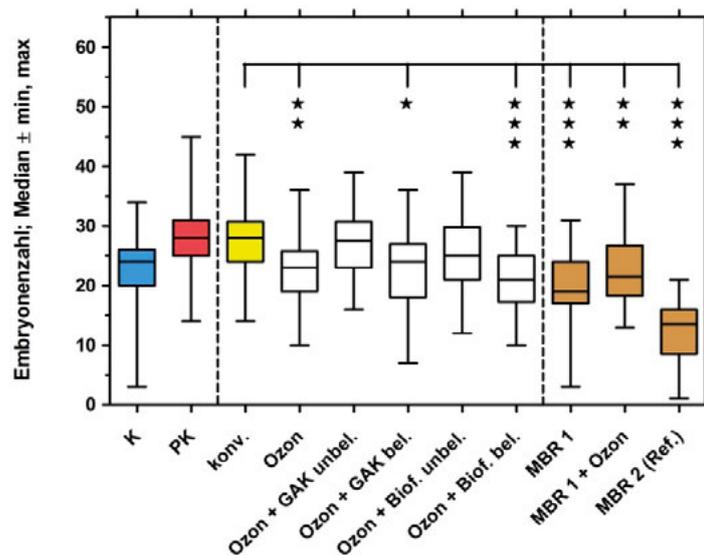


Bild 38: Gesamtzahl der Embryonen individueller Zwergdeckelschnecken (*Potamopyrgus antipodarum*) am Ende des 28-tägigen on site-Reproduktionstests an der Versuchskläranlage; dargestellt sind der Median (Querstrich), das 1. und 3. Quartil (obere und untere Grenze der Boxen) sowie das Minimum und das Maximum (obere und untere Grenze der Fehlerbalken); signifikante Unterschiede zum konventionell gereinigten Abwasser sind mit Sternen gekennzeichnet (Kruskal-Wallis mit Dunn's post hoc-Test: ★: $p < 0,05$; ★★: $p < 0,01$; ★★★: $p < 0,001$); Abkürzungen: K, Hälterungskontrolle; PK, Positivkontrolle; konv., konventionell gereinigtes Abwasser; Ozon, ozontes Abwasser; GAK, granulierte Aktivkohle; unbel., unbelüftet; bel., belüftet; Biof., Biofilter; MBR, Membranbioreaktor; Ref., Referenz

Bachflohkrebs-Test

Die Sterblichkeit von Bachflohkrebsen (Gammariden), die in konventionell gereinigtem Abwasser exponiert waren, war im Vergleich zur Hälterungswasser-Kontrolle signifikant erhöht. Im ozonten Abwasser und den mit Ozon und nachgeschalteten Filtrationsverfahren kombinierten Ansätzen sowie den Abwässern, die mit Membranbioreaktoren behandelt wurden, sank die Mortalität im Vergleich zum konventionell gereinigten Abwasser signifikant und lag auf dem Niveau der Kontrolle. Gammariden, die in ozontem Abwasser gehalten wurden, wiesen im Durchschnitt eine größere Körperlänge auf als Versuchstiere aus allen anderen Behandlungsgruppen. Die Gammariden waren in diesem Testsystem nicht sensitiv gegenüber der verwendeten Positivkontrolle, in der 50 ng 17 α -Ethinylestradiol (EE2)/L enthalten waren. Auswirkungen auf das Geschlechterverhältnis der Gammariden, den Anteil brütender Weibchen oder den Fekunditätsindex (Fruchtbarkeitsindex) im Vergleich zur Hälterungskontrolle traten nicht auf. Die technisch unterschiedlich aufbereiteten Testabwässer hatten ebenfalls keine Auswirkungen auf das Geschlechterverhältnis oder den Fekunditätsindex der Gammariden. Der Anteil brütender Weibchen sank im konventionell gereinigten Abwasser signifikant im Vergleich zu den Kontrolltieren im Hälterungswasser. Im ozonten Abwasser stieg der Anteil brütender Weibchen signifikant gegenüber dem konventionell gereinigten Abwasser

an. Im ozonten Abwasser der unbelüfteten und belüfteten Filtersysteme und in den Abwässern der Membranbioreaktoren lag der Anteil brütender Weibchen zwischen den Niveaus der Hälterungskontrolle und des konventionell gereinigten Abwassers.

Glanzwurm-Test

In beiden Tests mit dem Glanzwurm *Lumbriculus variegatus* wurde nach Exposition im Ablauf der konventionellen Reinigung eine verringerte Abundanz (Anzahl an Individuen per Gefäß) der Würmer im Vergleich zur Negativkontrolle festgestellt (s. Tabelle 7). Die erweiterten Behandlungen Ozonung und Aktivkohlefiltration (in beiden Tests) sowie Biofiltration (nur im ersten Test) führten zu einer erhöhten Anzahl an Würmern im Vergleich zum Ablauf der konventionellen Reinigung. Weil sich das Ausgangsabwasser (konventionelle Reinigung) bereits negativ auf die Abundanz von *Lumbriculus variegatus* auswirkte und dieser negative Effekte durch die nachgeschalteten Ozon- und Filterbehandlungen relativiert wurde, war eine Detektion eventuell auftretender negativer Effekte bedingt durch das Verfahren der Ozonung (Bildung von toxischen TPs) erschwert.

Wasserfloh-Test

Negative Effekte auf das Überleben der Daphnien wurden in keinem der untersuchten Abwasserteilströme festgestellt. Eine positive Wirkung des konventionell gereinigten Abwassers zeigte sich im Test mit *Daphnia magna* auf den Endpunkt Populations-Wachstumsrate im Vergleich zur Negativkontrolle. Die Abläufe der Ozonung und der Membranbioreaktoren wiesen jeweils signifikant reduzierte Populations-Wachstumsraten im Vergleich zum Ablauf der konventionellen Reinigung auf. Diese befanden sich allerdings nur knapp unter dem Niveau der Negativkontrolle. Der positive Effekt des Ablaufs der konventionellen Reinigung bzw. die negativen Effekte der Abläufe der Ozonung sowie der MBRs lassen sich durch ein erhöhtes (konventionelle Reinigung) bzw. vermindertes (Ozonung, MBRs) Angebot an Nahrung (insbesondere Bakterien) erklären. Die kumulative Anzahl an Nachkommen wurde durch die Abläufe beider MBRs im Vergleich zur konventionellen Reinigung signifikant verringert.

Wasserlinsen-Test

Ebenso wie in den Tests mit dem Glanzwurm wurde auch im Test mit der Kleinen Wasserlinse *Lemna minor* ein negativer Effekt nach Exposition in konventionell gereinigten Abwasser festgestellt, welcher sich durch eine reduzierte Anzahl der Fronds (Blättchen) im Vergleich mit der Negativkontrolle äußerte. Mit Ausnahme des Ablaufs des belüfteten Aktivkohlefilters, welcher sich negativ auf die Anzahl der Fronds auswirkte, konnten keine hemmenden oder fördernden Effekte auf *Lemna minor* durch die weitergehenden Behandlungen beobachtet werden.

Zusammenfassung von Glanzwurm-, Wasserfloh- und Wasserlinsen-Test

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Endpunkte in den Tests mit *Lumbriculus variegatus*, *Daphnia magna* und *Lemna minor* ist in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Übersicht über die Ergebnisse der verschiedenen In vivo-Tests nach Exposition gegenüber den verschieden behandelten Abwasserteilströmen

Abwasser- behandlung \ Endpunkt	<i>Lumbriculus variegatus</i> Test 1		<i>Lumbriculus variegatus</i> Test 2		<i>Daphnia magna</i>		<i>Lemna minor</i>
	Abundanz	Bio-masse	Abundanz	Bio-masse	Pop.-wachst.-rate	Reproduktion	Frondzahl
Konventionelle Reinigung	↓		↓		↑		↓
Ozonung							
Ozonung+GAK belüftet							
Ozonung+GAK unbelüftet							

Tabelle 7 (Ende)

Endpunkt	<i>Lumbriculus variegatus</i> Test 1		<i>Lumbriculus variegatus</i> Test 2		<i>Daphnia magna</i>		<i>Lemna minor</i>
	Abundanz	Biomasse	Abundanz	Biomasse	Pop.-wachst.-rate	Reproduktion	Fronzzahl
Abwasserbehandlung							
Ozonung+Biofilter belüftet							
Ozonung+Biofilter unbelüftet							
MBR1							
MBR1+Ozonung							
MBR2							
<p>ANMERKUNGEN</p> <p>Aufsteigende Pfeile (↑) zeigen einen positiven, absteigende Pfeile (↓) einen negativen Effekt des Ablaufs der konventionellen Reinigung im Vergleich zur Laborkontrolle. Grüne Felder geben eine signifikante Verbesserung, rote Felder eine signifikante Verschlechterung der Qualität der einzelnen Abwasserteilströme im Vergleich zum Ablauf der konventionellen Reinigung wieder. Abkürzungen: GAK – Granulierte Aktivkohle, MBR – Membranbioreaktor.</p>							

5.4.3 Schlussfolgerungen aus den In vitro- und In vivo-Testverfahren

Die konventionelle Reinigung des Abwassers war in der Lage, die im Kläranlagenzulauf gemessenen endokrinen Aktivitäten z. T. deutlich zu reduzieren. Es fand jedoch keine vollständige Entfernung statt. Die Ergebnisse der In vivo-on site-Tests demonstrieren, dass konventionell gereinigtes Abwasser toxisch für den Bachflohkrebs *Gammarus fossarum* sein kann, da in der Versuchsgruppe eine erhöhte Sterblichkeit auftrat. Ähnliche toxische Wirkungen auf andere, im Gewässer lebende Arten sind deshalb nicht auszuschließen. Da diese Effekte im ozonten Abwasser und den weiterführenden Behandlungen nicht mehr zu beobachten waren, könnte eine Erweiterung der konventionellen Reinigung zur Verbesserung der biologischen Gewässergüte in den Fließgewässern beitragen. Deutliche Hinweise auf die Bildung toxischer TP's ließen sich für alle Behandlungsverfahren mit Ozonung über eine signifikante Erhöhung der Mutagenität in den Proben nachweisen. In den In vivo-Versuchen wurden allerdings basierend auf den in diesen Studien untersuchten Endpunkten keine eindeutigen Hinweise auf die Bildung toxischer TP's durch weitergehende Behandlungsverfahren (speziell Ozonung) gefunden.

Eine Ozonung konventionell gereinigten Abwassers führt bei einigen Endpunkten (z. B. östrogene Aktivität) zu einer weiteren Reduktion der Effekte, bei anderen Endpunkten (anti-östrogene Aktivitäten) jedoch zu einer Erhöhung, die auch mit weiterführenden Behandlungen des ozonten Abwassers nicht vollständig entfernt werden konnte. Eine Ozonung des Abwassers wirkt sich somit nicht minimierend auf alle durch Spurenstoffe und TP's verursachten schädlichen Wirkungen aus.

Die hier untersuchten Membranbioreaktoren (MBR) stellten auf der Grundlage des Testdesigns und der Auswahl an Bioassays in TransRisk sowie den daraus resultierenden Messergebnissen aus den In vitro- und In vivo-Experimenten hinsichtlich ihrer Reinigungsleistung keine verbesserte Alternative zur konventionellen Reinigung dar. Die in den Abwasserproben gemessenen endokrinen Aktivitäten waren überwiegend höher als im konventionell gereinigten Abwasser. Zudem beeinträchtigte das Abwasser aus den MBR-Systemen das Wachstum und die Fortpflanzung der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* und des Glanzwurms *Lumbriculus variegatus*. Dieses Ergebnis ist nicht unbedingt übertragbar auf das MBR-Verfahren generell, da in den vorliegenden Untersuchungen die MBR noch keine stabile Reinigungsleistung aufwies, wie durch die unzureichende Stickstoffelimination belegt wurde.

5.5 Reduktion mikrobiologischer Belastung durch Verfahren der Abwasserreinigung

Im Gegensatz zu chemischen Belastungen, für die bereits Risikoabschätzungen anhand von toxikologischen Studien für die verschiedenen Umweltkompartimente durchgeführt werden können, ist bei bakteriellen Kontaminationen aufgrund der unterschiedlichen biologischen Aktivitäten und Verhaltensweisen der Mikroorganismen eine vergleichbare Risikoabschätzung nur schwer möglich. Um jedoch das Risiko einer Verbreitung von hygienisch relevanten Bakterien durch Kläranlagen zu senken, wird zurzeit untersucht, inwieweit zusätzliche Verfahren in der Abwasserbehandlung zu einer Reduktion von problematischen Bakterien mit Resistenzpotenzialen im Kläranlagenablauf beitragen können.

Pharmazeutika werden über Ausscheidungen von Mensch und Tier und durch unsachgemäße Entsorgung in die aquatische Umwelt eingetragen. Humanpharmazeutika wie Antibiotika gelangen über Abwasser privater Haushalte und Krankenhäuser zunächst in die kommunalen Kläranlagen. Antibiotika sind in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse, denn momentan ist noch nicht abschätzbar, ob und in welchem Ausmaß ihr Vorkommen in Abwässern zu einer Ausbreitung von Resistenzen in potenziell humanpathogenen Mikroorganismen beiträgt.

Die Spurensuche nach Haupteintragsquellen resistenter Bakterien führt von Kliniken ausgehend weiter in die kommunale Kläranlage. Kliniken mit Intensivstationen und die angeschlossenen kommunalen Kläranlagen werden als wichtige Eintragsquellen von resistenten Bakterien und als „Hotspots“ für den Transfer von Resistenzgenen unter aquatischen Bakterien angesehen. Für viele hygienisch relevante Bakterien ist im Belebtschlammbecken der biologischen Klärstufe Endstation. Nicht aber für Resistenzgene. Jede Belebtschlammflocke gleicht einem Mikrokosmos mit Abermillionen verschiedenster Bakterien. Hier steigen die Resistenzgene um. Sie liegen häufig auf kleinen Gen-Ringen, sogenannten Plasmiden, die unter Bakterien weitergegeben (s. Bild 15) werden. Nicht nur innerhalb einer Familie, sondern auch an fremde Bakterienspezies. So kommt das Resistenzgen in Bakterien, die selbst gar keinen Kontakt zu einem Antibiotikum hatten. Hohe Zelldichten und Zelldiversitäten und weitere bekannte abwasserspezifische Parameter wie z. B. relevante Magnesium/Calcium-Konzentrationen, Veränderungen in der Nährstoffversorgung, Phosphatmengen begünstigen einen solchen Gentransfer. Das gereinigte Abwasser kann somit zahlreiche Bakterien enthalten, die jetzt Resistenzgene tragen. Sie gelangen in die Flüsse, sind weitverbreitet und – wie in TransRisk gezeigt – nachweisbar (ALEXANDER et al. 2015).

Obwohl die Antibiotikakonzentrationen, die im Abwasser gefunden wurden, größtenteils deutlich niedriger waren, als die im medizinischen Bereich geltenden minimalen Hemmstoffkonzentrationen (Antibiotikakonzentration, die im Minimum erforderlich ist, um ein Bakterium in seiner Entwicklung zu hemmen), beeinflussen sie in erster Linie sensitive Bakterien und selektieren somit resistente Mikroorganismen in der aquatischen Umwelt. Versuche mit sub-letalen Konzentrationen von Antibiotika haben in früheren Arbeiten gezeigt, dass diese u. a. Mutationen induzieren, die zu einer Erhöhung der minimalen Hemmstoffkonzentration führen. Auch andere die Physiologie von Bakterien betreffende Effekte werden durch die Anwesenheit von gering konzentrierten Antibiotika induziert.

Aus diesen Gründen wurde die Effizienz der Ozonung als zusätzliche Abwasserbehandlung auf die Reduktion von antibiotikaresistenten Bakterien im aufbereiteten Abwasser einer kommunalen Kläranlage untersucht. Durch einen solchen zusätzlichen Behandlungsschritt soll dem Trend der Antibiotikaresistenzemission entgegengewirkt werden. Mit der Ozonung sollen zudem die verbliebene Gesamtbakterienzahl (inklusive antibiotikaresistente Bakterien) des gereinigten Abwassers vor dessen Einleitung in den Fluss reduziert werden. Vorläufige Untersuchungen belegen die deutliche Reduktion der Bakterienfracht, allerdings gibt es erste Hinweise auf eine Selektion von ozonrobusten Bakterien, die die Behandlung überleben. Derzeit werden diese Bakterienfraktionen genauer untersucht, um den Grund für die „Ozonresistenz“ zu ermitteln.

Fazit zur Reduktion von mikrobiologischen Belastungen durch Verfahren der Abwasserreinigung:

Im Gegensatz zu chemischen Kontaminanten besitzen Mikroorganismen ein Vermehrungspotenzial, das es ihnen erlaubt, unter geeigneten Bedingungen ihre Konzentration in wasserführenden Systemen zu erhöhen und ihr Gefahrenpotenzial zu steigern. Eine Ozonbehandlung von konventionell gereinigtem Abwasser reduziert die verbliebene Bakterienfracht deutlich, jedoch lassen sich Unterschiede in der Inaktivierungseffizienz einiger Bakterienspezies und Antibiotikaresistenzträger erkennen, dadurch werden ungewollte Selektionsereignisse hervorgerufen. Diese Entwicklung sollte bei der Einstellung von Betriebsparametern einer Ozonanlage berücksichtigt werden.

5.5.1 Untersuchungen zur Effizienz der Ozonung zur Elimination von Bakterien und Antibiotikaresistenzen

Ein weiterer Schwerpunkt des BMBF-Projektes TransRisk war die Frage, wie erfolgreich mit dem Verfahren der Ozonung Bakterien reduziert werden können. Die Effektivität der Ozonung zur Inaktivierung der Bakterienfracht wurde bei einer Konzentration von $0,9 \pm 0,1$ g Ozon pro 1 g DOC, sowie Kontaktzeiten von 10-15 min untersucht. Das Prinzip der Ozonung zur Reduktion der Keimfracht im Abwasser beruht auf der hohen Reaktivität des Ozons gegenüber elektronenreichen Molekülgruppen wie Doppelbindungen, aromatischen Systemen oder Amin-Gruppen, wie sie häufig in Lipiden der Bakterienmembran und Nukleotiden der DNA zu finden sind. Durch die beschädigte Membran gelangen Ozonmoleküle ins Innere der Bakterienzelle und reagieren mit den aromatischen Strukturen der DNA. Dadurch kommt es zum Informationsverlust des Erbguts, sodass auch eine Übertragung von Antibiotikaresistenzen durch Freisetzung und Aufnahme durch andere Bakterien verhindert werden kann.

Im Gegensatz zum Einsatz in der Trinkwasseraufbereitung wurden im Abwasser bakterielle Inaktivierungsraten von lediglich bis zu 2 log-Stufen festgestellt. Der dominanteste taxonomische Marker in der Abwasserpopulation ist der für Enterokokken, mit $10^{4,5}$ Zelläquivalenten pro 100 ng DNA im Ozonzulauf. Nach der Ozonbehandlung reduzierte sich der Enterokokken-Marker auf $10^{2,5}$ Zelläquivalente pro 100 ng DNA, was einer Reduktion von 99 % entspricht. Im Gegensatz dazu zeigten *Pseudomonas aeruginosa* und Enterobakterien nur schwache bis keine Veränderung in ihren Anteilen an der Bakterienpopulation nach der Ozonbehandlung. Methicillinresistenter *Staphylococcus aureus* und CNS (Coagulase-negative Staphylokokken) wurden nur in niedrigen Konzentrationen im Zulauf der Ozonanlage gemessen. Aufgrund der niedrigen Ausgangskonzentration und des Detektionslimits waren im Ozonablauf teilweise keine Staphylokokken mehr nachweisbar. Die Abundanzen für *Pseudomonas aeruginosa* und Enterobakterien in der Abwasserpopulation bleiben relativ stabil.

Zusätzlich zu den taxonomischen Häufigkeiten wurde der Einfluss der Ozonung auf die Verteilung einzelner klinisch relevanter Antibiotikaresistenzen in der bakteriellen Abwasserpopulation untersucht (s. Bild 39). Bei der verwendeten Ozonkonzentration kam es dabei zu einem relativen Anstieg der beiden Antibiotikaresistenzgene gegen Imipenem (*bla*VIM, 3-fach) und Vancomycin (*vanA*, 6-fach) in der überlebenden Bakterienpopulation des Ozonablaufs. Absolut erhöhten sich die Abundanzen der Antibiotikaresistenzgene jedoch nicht. Dies zeigt, dass Bakterien unterschiedlich anfällig bzw. robust gegenüber der Ozonung sind, und dass der allgemeine Wirkmechanismus von Ozon zur effizienten Inaktivierung von der jeweiligen Bakterienspezies abhängig ist. Die relative Zunahme der beiden untersuchten Antibiotikaresistenzgene lässt auf eine ozonrobustere, Vancomycin-, und Imipenemresistente Bakterienfraktion schließen, die durch die selektive Wirkung der Behandlung im Ozonablauf angereichert wird. Bei den anderen untersuchten Antibiotikaresistenzgenen trat kein solcher Effekt auf. Neben der gleich bleibenden Abundanz für die β -Lactam-Antibiotikaresistenz (*ampC*), wies das Gen der Erythromycinresistenz (*ermB*) eine deutliche Reduktion auf (15-fache Reduktion). Insgesamt lässt sich also feststellen, dass die in der Versuchskläranlage eingesetzte Ozonung zwar die Gesamtbakterienzahl im gereinigten Abwasser um mehr als 90 % reduzierte, allerdings zeigten die nach der Ozonung noch auffindbaren Bakterien prozentual erhöhte Antibiotikaresistenzen. Das lässt sich ggf. dadurch erklären, dass diejenigen Bakterien, die die Ozonung überlebt haben, erhöhten Stress ausgesetzt waren, wodurch als Stressantwort die Mutationsrate und der horizontale Gentransfer zunahm. Beide Prozesse begünstigen die Entstehung von Resistenzen.

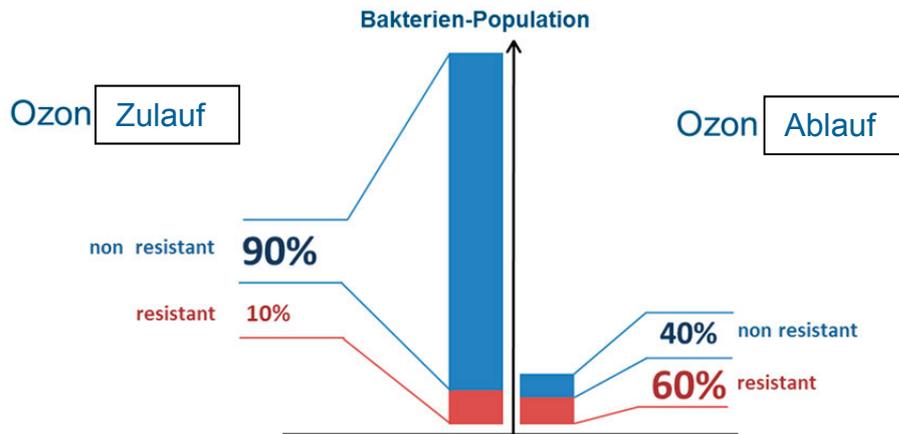


Bild 39: Einfluss der Ozonung auf Keimzahl und Antibiotikarsistenzen

Auch der Einfluss der Ozonung auf die bakterielle Diversität wurde untersucht. Zusätzlich zu der allgemeinen Reduktion der Bakterienfracht durch die Ozonbehandlung zeigten sich Populationsveränderungen und Selektionseffekte. Eine Ähnlichkeit von 39 % im Vergleich zum Ozonzulauf spiegelt dabei eine substanzielle Verschiebung der Abundanzen innerhalb der Bakterienpopulation wider. Durch die durchgeführten Populationsanalysen zeigte sich, dass Bakterien unterschiedlich anfällig bzw. robust gegenüber Ozonung sind, und dass der allgemeine Wirkmechanismus von Ozon zur effizienten Inaktivierung von der jeweiligen Bakterienspezies abhängig ist.

Fazit der mikrobiologischen Untersuchungen zur Ozonung:

Die Ozonbehandlung reduziert zwar die Gesamtbakterienfracht von konventionell gereinigtem Abwasser um fast 2 Zehnerpotenzen (96 %). Einige opportunistische Bakterien (z. B. *Pseudomonas aeruginosa*) und Antibiotikaresistenzträger mit Vancomycin- und Imipenemresistenz zeigen jedoch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber der Ozonbehandlung und reichern sich in der überlebenden Population sogar an.

5.6 Bewertungsmatrix zur Beurteilung zielgerichteter Eliminationsverfahren für neue Schadstoffe und Krankheitserreger

Die Bewertung der kommunalen Abwasserbehandlung beruht in Deutschland auf der Messung der nachfolgend genannten Parameter: biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen (BSB₅), chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) bzw. gelöste organische Kohlenstoffverbindungen (DOC), Konzentration an Ammoniumstickstoff, Summe der Konzentrationen anorganischer Stickstoffverbindungen (Ammonium, Nitrit, Nitrat) und Gesamtphosphorgehalt. Der Eintrag organischer Mikroverunreinigungen wird allenfalls summarisch über CSB/DOC und BSB₅ erfasst, wobei die Höhe der Summenparameter auch durch eine große Anzahl an natürlichen Stoffen verursacht wird. Die Erfassung möglicher ökotoxikologischer Effekte von Mikroverunreinigungen sowie die Emission von pathogenen und/oder antibiotikaresistenten Mikroorganismen über Kläranlagenabläufe in die Oberflächengewässer sind bisher nicht geregelt.

Aufgrund der großen Anzahl an chemischen Stoffen, pathogenen Mikroorganismen und klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgenen, die über das gereinigte Abwasser in die Gewässer eingeleitet werden, sind ökologische Effekte nicht auszuschließen bzw. wurden bereits nachgewiesen. Vor diesem Hintergrund wurden umfangreiche Messungen an einer Versuchskläranlage mit Ozonung und nachgeschalteter Filtration durchgeführt (s. 5.1). Die Effizienz der Nachbehandlungen (Ozon/GAC, Ozon/Biofilter) wurde in Bezug auf die Eliminierung von Mikroverunreinigungen, der durch sie verursachten ökotoxikologischen Wirkungen sowie der Eliminierung von pathogenen Mikroorganismen und klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgenen verglichen. Hierzu wurde ein Konzept entwickelt, das primär eine vergleichende Effizienzbewertung der erweiterten Abwasserbehandlungsverfahren ermöglichen soll.

Das Konzept wurde an der Versuchsanlage einer Kläranlage erprobt. Die maximale Kapazität der Kläranlage beträgt 50.000 EW (aktuell behandelt: 42.000 EW) mit einer täglichen Durchschnittsablaufmenge von 6.400 m³ Wasser. Dem Ozonungssystem vorgeschaltet war ein Mikrosieb mit einer Maschenweite von 10 µm, um größere partikuläre Bestandteile zurückzuhalten. Während des Untersuchungszeitraums wurde die Effektivität der Ozonung sowie der nachgeschalteten Behandlungstechniken bei einer Konzentration von 0,85±0,15 g Ozon je 1 g DOC sowie bei Kontaktzeiten von 10-15 min untersucht.

5.6.1 Chemisch-ökotoxisch-mikrobiologisches Bewertungskonzept

Aufgrund der extrem großen Anzahl an chemischen Substanzen ist es auch zukünftig unrealistisch, alle im Abwasser enthaltenen Mikroorganismen, organischen Mikroverunreinigungen, Metaboliten und die in der Kanalisation und der Kläranlage gebildeten TPs quantitativ zu erfassen. TransRisk verfolgt daher die Strategie, die Eliminationsleistung von Abwasserbehandlungsanlagen bzw. -verfahren sowohl durch den analytischen Nachweis von Indikatorsubstanzen und ökotoxikologische In-vitro-Tests zur Erfassung spezifischer (öko)toxikologischer Wirkpotenziale als auch durch die Reduktion von klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgenen und opportunistischen Bakterien zu charakterisieren.

Auf Basis der neuen Erkenntnisse wurde in TransRisk ein multi-disziplinäres Konzept zur Bewertung von Abwasserreinigungstechniken entwickelt, mit dessen Hilfe die am besten geeigneten Verfahrenskombinationen ausgewählt werden können. Dieses Konzept berücksichtigt neben der einfachen Eliminierung von Mikroverunreinigungen auch die Bildung von Transformationsprodukten in der biologischen Abwasserreinigung und der Ozonung. Zum anderen wurden eine Reihe an ökotoxikologischen Parametern wie die Zytotoxizität und die Mutagenität sowie die Reduktion der Abundanzen von Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzgenen integriert.

Chemisches Bewertungskonzept

Für das chemische Bewertungskonzept wird die Eliminierung der Mikroverunreinigungen, Metaboliten und TPs über sog. Indikatorsubstanzen abgebildet, die stellvertretend für die große Anzahl an Substanzen stehen. Hierbei wird davon ausgegangen, dass die Eliminierung der Indikatorsubstanzen auch die Eliminierung einer großen Anzahl weiterer Mikroverunreinigungen mit vergleichbaren physikochemischen Eigenschaften repräsentiert. Die Auswahl der Indikatorsubstanzen wurde aufgrund spezifischer Kriterien getroffen. Hierzu zählten prozessbezogene Kriterien, wie die Effizienz der aktuellen biologischen Abwasserreinigung zur Entfernung von Mikroverunreinigungen und der zusätzliche Beitrag der weitergehenden Verfahren (Gruppe A). Durch die Eliminierung regulierter bzw. zukünftig regulierter Mikroverunreinigungen werden zudem auch die aktuellen Entwicklungen der Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) und der Oberflächengewässerverordnung (OGewV) berücksichtigt (Gruppe B). Die Auswahl an Indikatorsubstanzen in dieser Gruppe ist permanent dem aktuellen Stand der WRRL und OGewV anzupassen. Ein besonderes Augenmerk in TransRisk liegt auf der Eliminierung von TPs, die in der Belebtschlammbehandlung gebildet werden (Gruppe C) und der Eliminierung der TPs (auch Oxidationsprodukte genannt), die in der Ozonung gebildet werden (Gruppe D).

Die Indikatorsubstanzen werden aus den nachfolgend genannten Kategorien ausgewählt:

- A) Stoffe, die in der biologischen Abwasserreinigung nicht oder kaum abgebaut werden**
(mindestens 6 Substanzen sind auszuwählen)
Carbamazepin; Tramadol; Venlafaxin; Primidon; Diatrizoat; Sotalol; Metoprolol; Oxypurinol; Benzotriazol; Tolyttriazol; Sulpirid; Amisulpirid; Acesulfam; Lamotrigin; Sucralose.
- B) Stoffe, die gemäß Wasserrahmenrichtlinie reguliert oder dafür vorgeschlagen sind**
(mindestens 6 Substanzen sind auszuwählen)
Sulfamethoxazol; Diclofenac; Trimetoprim; Irgarol; Terbutryn; Mecoprop; Clarithromycin; Roxithromycin; Azithromycin; PFOS; 17α-Ethinylestradiol; 17β-Estradiol.
- C) TPs, die in der biologischen Abwasserreinigung gebildet werden**
(mindestens 6 Substanzen sind auszuwählen)
Carboxy-Acyclovir; Carboxy-Emtricitabine; Carboxy-Abacavir; Carboxy-Lamivudine; Oxypurinol; Carboxy-Acridine; Valsartansäure; Iopromid-TP643; Iopromid-TP701A; Iopromid-TP701B; Diclofenac-lactam; Carboxy-Diclofenac.

D) TPs, die durch Ozonierung gebildet werden

(mindestens 4 Substanzen sind auszuwählen)

Sulpirid-N-Oxid; Amisulprid-N-Oxid; Lamotrigin-N-Oxid; COFA; Tramadol-N-Oxid; Venlafaxine-N-oxid; BQD; BQM, Bromat und NDMA. Zur Normierung sind auch die Konzentrationen der Ausgangssubstanzen zu ermitteln. Die Konzentrationen von Bromat und NDMA werden auf die Trinkwasser(grenz)werte, 10 µg/L bzw. 0,010 µg/L normiert.

Hierbei ist zu betonen, dass die den Kategorien zugeordneten Substanzen den neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen, lokalen Gegebenheiten und neu zu regulierenden Substanzen anzupassen sind. Das übergeordnete Konzept ändert sich dadurch jedoch nicht. Die Eliminierung der ausgewählten Mikroverunreinigungen der Kategorien A und B sowie der TPs von Kategorie C werden auf einer linearen Skala von $R_i = 0$ (keine Eliminierung) bis $R_i = 100$ (vollständige Eliminierung) durch Vergleich der Ablaufkonzentration der weitergehenden Reinigungsstufe (z. B. Ozonung oder Ozonung/GAK) mit dem Ablauf der konventionellen biologisch betriebenen Kläranlage berechnet (Gleichung 1). Die Bildung von TPs in der Ozonung wird auf die Konzentration der Ausgangssubstanz oder bei NDMA/Bromat auf den Trinkwasser(grenz)wert normiert (Gleichung 2).

Die Eliminierung (engl. removal) R_i der individuellen Indikatorsubstanz (S_i) und die Bildung (engl. formation) F_i der Transformationsprodukte (TP_i) werden berechnet nach:

$$R_i = \left(1 - \frac{C_{Si}(\text{weitergehende Reinigung})}{C_{Si}(KA_{\text{Ablauf}})}\right) \times 100 \text{ [\%]} \quad (1)$$

$$F_i = \left(\frac{C_{TPi}(\text{oxidative Behandlung})}{C_{Si}(KA_{\text{Ablauf}})}\right) \times 100 \text{ [\%]} \quad (2)$$

$C_{Si}(KA_{\text{Ablauf}})$: Konzentration der Substanz S_i nach konventioneller Reinigung

$C_{Si}(\text{weitergehende Reinigung})$: Konzentration der Substanz S_i nach weitergehender Reinigung

$C_{TPi}(\text{oxidative Behandlung})$: Konzentration von TP_i nach weitergehender Reinigung mit oxidativer Behandlung

Zur „chemischen“ Prozessbewertung wird neben der Eliminierung einzelner ausgewählter Indikatorsubstanzen (Gleichung 1) für die Gruppen A, B und C zusätzlich die „mittlere“ Eliminierung (Gleichung 3) berechnet, die auf der Eliminierung der ausgewählten einzelnen Indikatorsubstanzen der jeweiligen Gruppe basiert. Für die in der Ozonung gebildeten TPs wird die mittlere Bildung auf die Konzentration der Ausgangssubstanz normiert (Gleichung 4). Aufgrund der großen Bedeutung sollten auch Bromat und NDMA berücksichtigt werden, indem deren gemessene Konzentrationen auf den Trinkwassergrenzwert normiert werden. Bei zunehmender Bildung der Ozonungs-TPs wird aufgrund des negativen Vorzeichens die mittlere Bildung $\overline{FC}(D)$ zunehmend kleiner (Gleichung 4), wodurch der Prozess „schlechter“ bewertet wird. Zusätzlich wird die Entfernung des DOC (R_{DOC}) betrachtet, weil hierdurch auch viele nicht-messbare extrem polare TPs summarisch erfasst werden.

Die durchschnittliche Entfernung (Englisch: removal) $\overline{RC}(X)$ der ausgewählten Indikatorsubstanzen/TPs (Kategorie A-C) und die durchschnittliche Bildung $\overline{FC}(D)$ der TPs (Kategorie D) wird für jede Kategorie berechnet nach:

$$\overline{RC}(X) = \frac{\sum_i^n R_i(X)}{n}; X = \text{Kat. A-C}; \quad (3)$$

$$\overline{FC}(D) = -\frac{\sum_i^n F_i(D)}{n} \quad (4)$$

Der chemische Bewertungsindex (CBI) wird anschließend als Mittelwert der mittleren Eliminierungen/Bildung der Substanzen der Kategorien A, B, C, D sowie der Eliminierung des DOC berechnet (Gleichung 5 und 6). Dieses Vorgehen ermöglicht eine gleichwertige Erfassung der fünf Kategorien auch für den Fall, dass sich die Substanzanzahl in einer Kategorie vergrößern oder verkleinern sollte. Der CBI berechnet sich somit nach:

$$\text{CBI} = \frac{\overline{RC}(A) + \overline{RC}(B) + \overline{RC}(C) + R_c(\text{DOC})}{4} \quad (5) \text{ ohne Ozonung}$$

$$\text{CBI} = \frac{\overline{\text{Rc}}(\text{A}) + \overline{\text{Rc}}(\text{B}) + \overline{\text{Rc}}(\text{C}) + \overline{\text{Fc}}(\text{D}) + \text{Rc}(\text{DOC})}{5} \quad (6) \text{ mit Ozonung}$$

Ausschlusskriterien

Um zu verhindern, dass im Jahresmittel die Konzentrationen einzelner Substanzen in dem Vorfluter über den UQNs liegen, ist zusätzlich als Ausschlusskriterium zu prüfen, ob im Kläranlagenablauf die UQN bzw. die UQN-Vorschläge der in der WRRL regulierten Substanzen oder die Trinkwasser(grenz)werte von Bromat (0,01 mg/L; TrinkwV) und NDMA (0,01 µg/L, Vorschlag UBA) überschritten werden. Liegt eine Überschreitung der UQN-Werte bzw. des Trinkwasser(grenz)wertes vor, dann wird die Qualität des gereinigten Abwassers zunächst als „ungenügend“ bewertet, d. h. es wären prioritäre Maßnahmen an den Eintragsquellen oder der Kläranlage zu initiieren. Die Messung der Indikatorsubstanzen entfällt. Allerdings können die zuständigen Aufsichtsbehörden höhere Konzentrationen als die UQN/Trinkwasser(grenz)werte festlegen, wenn eine Überschreitung der UQN in dem Gewässer nicht zu erwarten ist. Dies wird jedoch fallbezogen entschieden.

Ökotoxikologisches Bewertungssystem

Für das ökotoxikologische Bewertungskonzept werden die Ergebnisse von In-vitro-Tests herangezogen, die hinsichtlich der Eliminierung von spezifischen Wirkpotenzialen eine Beurteilung der Effizienz von erweiterten Abwasserbehandlungsverfahren untereinander und im Vergleich zur konventionellen Abwasserbehandlung ermöglichen. Im Bewertungskonzept werden die Resultate aus den chronischen In-vivo-Tests mit Primärproduzenten und Vertretern der wichtigsten Wirbellosen-Gruppen in aquatischen Ökosystemen nicht berücksichtigt, weil viele der ausgewählten Testspezies auch sensitiv auf Nährstoffe (Stickstoffverbindungen, Phosphor), erhöhte Salzgehalte und abfiltrierbare Schwebstoffe reagieren. Diese Reaktionen können die Auswirkungen von Mikroverunreinigungen überlagern, sodass ohne zusätzliche Untersuchungen nicht eindeutig zu klären ist, ob eine Veränderung der untersuchten Parameter (z. B. Biomasse, Wachstum und Fortpflanzung) auf die Elimination toxischer Substanzen bzw. Bildung potenziell toxischer TPs oder auf andere Eigenschaften des Abwassers (beispielsweise Nährstoffgehalt) zurückzuführen ist.

Für das Bewertungskonzept werden daher primär standardisierte In-vitro-Testverfahren berücksichtigt, für die entweder eine ISO-/DIN-Richtlinie oder eine Standardarbeitsanweisung (SOP) vorliegen. Wenn für einen relevanten Wirkmechanismus kein entsprechendes Verfahren verfügbar ist, werden solche Tests eingesetzt, für die eine sehr gute methodische Dokumentation in Veröffentlichungen existiert. Die in TransRisk eingesetzten Testverfahren haben sich aufgrund ihrer Robustheit, des Standardisierungsgrads und der sich daraus ergebenden Reproduzierbarkeit der Befunde bewährt. Sie werden daher grundsätzlich für Untersuchungen zur Bewertung von Abwasserbehandlungsanlagen empfohlen. In anderen Projektzusammenhängen können jedoch, abhängig von den zu untersuchenden Abwasserproben und der methodischen Expertise der beteiligten Labore, auch andere Testverfahren eingesetzt werden, mit denen sich die gleichen Wirkmechanismen erfassen lassen. Die alternativ eingesetzten Verfahren sollten jedoch eine vergleichbare Sensitivität und Robustheit sowie einen zumindest gleichwertigen Standardisierungsgrad wie die in TransRisk verwendeten In-vitro-Tests besitzen.

Die Bewertung sollte grundsätzlich auf den Ergebnissen für SPE-angereicherte Proben beruhen. Lediglich wenn für einen untersuchten Wirkmechanismus nachgewiesen werden kann, dass die verursachenden Substanzen nicht oder nur unzureichend über SPE-Säulen angereichert werden, kann die Bewertung stattdessen auf Grundlage der Untersuchungsergebnisse für native Proben erfolgen.

Für das in TransRisk entwickelte Bewertungskonzept werden die folgenden fünf Kategorien berücksichtigt, die ökotoxikologisch relevante Aktivitätsgruppen repräsentieren:

Kategorien E und F: Endokrine Aktivitäten werden getrennt für agonistische (rezeptoraktivierende, Kategorie E) und antagonistische (rezeptorhemmende, Kategorie F) Wirkpotenziale am Östrogenrezeptor (ER) α und am Androgenrezeptor (AR) mit Hilfe rekombinanter Hefe-Reporterassays (YES – Yeast Estrogen Screen, YAS – Yeast Androgen Screen, YAES – Yeast Anti-estrogen Screen, YAAS – Yeast Anti-androgen Screen) erfasst. Als Alternativen zu den in TransRisk eingesetzten Testverfah-

ren können Proliferationsassays (z. B. E-Screen) oder Reporterassays auf Basis von Zelllinien eingesetzt werden (z. B. ER-Calux, AR-Calux). Die agonistischen und antagonistischen Wirkpotenziale tragen mit einem Anteil von je 15 % zur ökotoxikologischen Bewertung bei, die endokrine Aktivität in der Summe somit zu 30 %. Werden zusätzliche Testverfahren für endokrine Aktivitäten eingesetzt, um beispielsweise weitere Hormonrezeptoren abzubilden, so bleibt der Anteil der endokrinen Aktivität an der Gesamtbewertung bei 30 %.

Kategorie G: Mutagene/gentoxische Aktivitäten werden mit Hilfe des Ames-Fluktuationstests (gemäß ISO-/DIN-Richtlinie 11350) erfasst, wobei neben den in der ISO-/DIN-Richtlinie genannten Stämmen des Bakteriums *Salmonella typhimurium* für die Untersuchung ozonierter Abwässer der Stamm YG7081 zu berücksichtigen ist, weil dieser sensitiv auf alkylierende Substanzen und Nitrosamine reagiert, die bei der Ozonung gebildet werden können. Zusätzlich, oder als Alternativen zu dem in TransRisk eingesetzten Testverfahren, können andere Gentoxizitätsassays (z. B. umu-Test, Comet-Assay, Mikrokerntest) eingesetzt werden. Die mutagenen/gentoxischen Wirkpotenziale tragen mit einem Anteil von 40 % zur ökotoxikologischen Bewertung bei. Der Anteil der mutagenen/gentoxischen Wirkpotenziale an der Gesamtbewertung bleibt bei 40 %, unabhängig von der Anzahl der eingesetzten Tests.

Kategorie H: Zytotoxische Aktivitäten werden mit Hilfe von Säuger- (z. B. GH3), anderen Wirbeltierzelllinien (z. B. RTL-W1) oder mit Hilfe der Biolumineszenz-Hemmung bei Leuchtbakterien erfasst. Die zytotoxischen Wirkpotenziale tragen mit einem Anteil von 15 % zur ökotoxikologischen Bewertung bei.

Kategorie I: Weitere Aktivitäten können im Bedarfsfall berücksichtigt werden, wie beispielsweise dioxinähnliche (erfasst in TransRisk mit Hilfe des YDS (Yeast Dioxin Screen) als rekombinanter Hefe-Reporterassay), neurotoxische (z. B. Hemmung der Acetylcholinesterase) und/oder phytotoxische Wirkpotenziale (z. B. Hemmung des Photosystems II). Die weiteren Aktivitäten tragen mit einem Anteil von 15 % zur ökotoxikologischen Bewertung bei.

Sofern bei einer Untersuchung ein bis zwei Kategorien aus Kapazitätsgründen oder aufgrund methodischer Beschränkungen nicht berücksichtigt werden können, steigt der Anteil der verbleibenden Kategorien an der Gesamtbewertung proportional an. Für eine belastbare Bewertung sind im Minimum die endokrine und mutagene/gentoxische Aktivität zu berücksichtigen. Die Ergebnisse der Einzeltests werden als relative Veränderung der Aktivität A_i [%] im Ablauf des erweiterten Abwasserbehandlungsverfahrens im Vergleich zum konventionell gereinigten Abwasser angegeben und gemäß Formel (7) berechnet:

$$A_i(X) = \left(1 - \frac{a_i(\text{erweitertes Verfahren})}{a_i(\text{konventionelle Reinigung})}\right) \times 100 \text{ [%]} \quad (7)$$

a_i : ermittelte Aktivität im In-vitro-Test i ; X: Kategorie E-I

Diese Veränderungen der Aktivität werden in Bewertungspunkte (BP) transformiert:

■ Reduktion der Aktivität um mehr als 80 % ergibt	+1 BP
■ Reduktion der Aktivität um mehr als 20 % und bis zu 80 % ergibt	+0,5 BP
■ Veränderung der Aktivität um \pm 20 % ergibt	0 BP
■ Anstieg der Aktivität um mehr als 20 % und bis zu 100 % ergibt	-0,5 BP
■ Anstieg der Aktivität um mehr als 100 % ergibt	-1 BP

Im Fall des Ames-Tests werden positive Bewertungspunkte nur dann vergeben, wenn zusätzlich zur entsprechenden Aktivitätsreduktion keine signifikante Restaktivität mehr feststellbar ist, der Revertantenanteil also unter 20,8 % beträgt. Analog werden negative Bewertungspunkte für den Ames-Test nur dann vergeben, wenn zusätzlich zum entsprechenden Aktivitätsanstieg eine signifikante Aktivität feststellbar ist, der Revertantenanteil also mehr als 20,8 % beträgt. Wird innerhalb einer Aktivitätsgruppe lediglich ein Testverfahren eingesetzt, so ergibt sich die Bewertung für die Aktivitätsgruppe aus den Bewertungspunkten für dieses Testverfahren. Werden innerhalb einer Aktivitätsgruppe mehrere Test-

verfahren parallel eingesetzt, so erfolgt die Bewertung auf Basis des „worst case“, d. h. der Test mit dem negativsten Ergebnis (geringste Reduktion der Aktivität bzw. höchster Anstieg der Aktivität) geht in die Bewertung ein. Abweichend davon werden innerhalb der endokrinen Aktivitätsgruppe die Bewertungspunkte als Mittelwerte einmal für die agonistischen und einmal für die antagonistischen Wirkpotenziale ermittelt, sofern die Assays jeweils unterschiedliche Rezeptortypen abbilden.

Abschließend erfolgt die ökotoxikologische Gesamtbewertung des untersuchten Abwasserbehandlungsverfahrens. Dazu werden die Bewertungspunkte aller Aktivitätsgruppen aufsummiert, nachdem sie zuvor mit dem entsprechenden Bewertungsfaktor für die Gesamtbewertung verrechnet wurden (je 15 % für agonistische und antagonistische endokrine Aktivität, Zytotoxizität und weitere Aktivitäten; 40 % für mutagene/gentoxische Aktivität). Die resultierende Summe wird zum Effektbasierten Bewertungsindex (EBI) transformiert (Formel 8), wobei ein Wert von 100 % eine starke Reduktion aller untersuchten Aktivitätsgruppen im Vergleich zur konventionellen Behandlung anzeigt, ein Wert von -100 % dagegen eine starke Zunahme:

$$EBI = (BP_E \times 0.15 + BP_F \times 0.15 + BP_G \times 0.4 + BP_H \times 0.15 + BP_I \times 0.15) \times 100 \text{ [\%]} \quad (8)$$

BP = Bewertungspunkte der Kategorien E-I; EBI = Effekt-basierter Bewertungsindex

Mikrobiologie:

Für eine gemeinsame Betrachtungsweise nach chemischen, ökotoxikologischen und mikrobiologischen Gesichtspunkten wurde die mikrobiologische Bewertungsmatrix für ein vergleichendes Bewertungssystem angepasst. Die ausführliche mikrobiologische Bewertung wird anschließend in Abschnitt 5.2. beschrieben.

Die Bewertung der mikrobiologischen Ergebnisse des jeweiligen untersuchten Abwasserbehandlungsverfahrens wurde in Form von Bewertungspunkten auf Basis der berechneten Zelläquivalente pro 100 ng DNA und 100 mL Probenvolumen durchgeführt, sowie das Reduktionsvermögen der unterschiedlichen Verfahrenskombinationen bewertet.

Zur Bestimmung des Reduktionsvermögens wurden die untersuchten mikrobiologischen Parameter in Kategorie J (Antibiotikaresistenzgene) und K (opportunistische Bakterien) eingeteilt sowie jeder Parameter nach seiner Reduktion bzw. Erhöhung bewertet:

Kategorie J – Antibiotikaresistenzgene

1. *vanA* (Vancomycinresistenz in Enterokokken),
2. *blaVIM* (Imipenemresistenz in *Pseudomonas aeruginosa*),
3. *ampC* (Ampicillinresistenz in *Enterobacteriaceae*),
4. *ermB* (Erythromycinresistenz in *Streptococcus* spp.)

Kategorie K – opportunistische Bakterien

5. Enterokokken,
6. *Pseudomonas aeruginosa*,
7. Staphylokokken,
8. *Enterobacteriaceae*.

Veränderung:

Reduktion >99 % ergeben	1 Bewertungspunkt
Reduktion von >40 % bis <99 % ergeben	0,5 Bewertungspunkt
Reduktion von ±40 % ergeben	0 Bewertungspunkte
Zunahme von >40 % bis ≤5x ergeben	-0,5 Bewertungspunkt
Zunahme >5x ergeben	-1 Bewertungspunkt

Die Berechnung dieser angepassten MBIs für die interdisziplinäre Bewertungsmatrix erfolgt durch die Kombination der mikrobiologischen Parameter in 100 ng DNA (Populationsanteile) und in 100 mL Probenvolumen mit Berücksichtigung der jeweiligen Reduktionsleistungen bzw. Anreicherungen.

Die Reduktion $R_i(X)$ jedes mikrobiologischen Parameters wird in 100 ng DNA und 100 mL Probenvolumen durch Gleichung (9) berechnet:

$$R_i(X) = \frac{BP_{rel} + BP_{abs}}{2} \quad (9)$$

Wobei BP_{rel} die relative Abundanz pro 100 ng DNA und BP_{abs} die absolute Abundanz pro 100 mL des jeweiligen Antibiotikaresistenzgens bzw. opportunistischen Bakteriums darstellt.

Der Mittelwert zur Berechnung der Parameter aus den Kategorien J und K wurde nach Gleichung (10) berechnet:

$$\overline{RC}(X) = \frac{\sum_i^n R_i(X)}{n}, \text{ mit } X = J, K \quad (10)$$

Die Berechnung des MBI zum Vergleich unterschiedlicher Verfahrenskombinationen erfolgte nach Gleichung (11):

$$MBI = \frac{\overline{RC}(J) + \overline{RC}(K)}{2} \quad (11)$$

Dieser angepasste MBI sollte nicht mit dem MBI des nachfolgenden Abschnittes zur ausschließlich mikrobiologischen Risikocharakterisierung verwechselt werden, da für die interdisziplinäre Vorgehensweise die Parametrierung an die chemische bzw. ökotoxikologische Bewertung angepasst wurde.

5.6.2 Bewertung der von TransRisk betriebenen Pilotanlage zur weitergehenden Abwasserreinigung

Da die zu betrachtenden UQN und UQN-Vorschläge (nach Wasserrahmenrichtlinie) der gemessenen Substanzen nicht überschritten wurden, lag kein Ausschlusskriterium vor. Allerdings ist zu erwähnen, dass in TransRisk nicht alle in der WRRL enthaltenen prioritären Substanzen gemessen wurden, da dies nicht das Ziel dieses Projektes war.

Durch die Ozonung wurden die Indikatorsubstanzen der Kategorie A – C zwischen 5 % (Diatrizaot) und bis zu >99 % (Diclofenac, Benzotriazol) entfernt (Tabelle 8). Lediglich die Röntgenkontrastmittel Diatrizaot und Iopamidol, die Süßstoffe Sucralose und Acesulfam sowie die TPs Oxypurinol und Carboxy-Acridin waren nach der Ozonung noch über 0,5 µg/L nachweisbar. Als Konsequenz lag die mittlere Entfernung $\overline{RC}(X)$ für Kategorie A und B über 80 % und für Kategorie C sogar über 90 %. Die Ozonung transformierte viele Indikatorsubstanzen, sodass insgesamt eine positive Bewertung resultierte. Von Kategorie D waren COFA, Tramadol-N-oxid und Sulpirid-N-oxid nach der Ozonung in nennenswerten Konzentrationen messbar. Während COFA weder durch die nachfolgende GAK-Filtration noch durch die Biofilter signifikant entfernt wurde, war Sulpirid-N-oxid zwar nach den Biofiltern, aber nicht nach den GAK-Filtern nachweisbar. Allerdings belegt der weitgehend unveränderte DOC, dass durch die Ozonung in der Regel keine Mineralisierung der Mikroverunreinigungen erfolgte, sondern dass viele polare TPs gebildet wurden. Um dies angemessen zu berücksichtigen, wurde die Abnahme des DOC in die Bewertungsmatrix integriert. Mit Hilfe der nachgeschalteten GAK konnte die mittlere Eliminierung weiter gesteigert werden, da sich der DOC nach der GAK-Filtration um ca. 50 % verringerte. Offensichtlich werden viele der gebildeten Ozonungsprodukte durch Sorption und/oder biologischen Abbau im GAK-Filter entfernt. Nachweislich wurden die Konzentrationen von Diatrizaot, Oxypurinol, Sucralose, Tramadol-N-oxid und Sulpirid-N-oxid durch GAK weiter verringert. Die Biofiltration führte immerhin noch zu einer DOC-Reduktion um ca. 25 %, wobei eine weitere Entfernung der zuvor genannten Indikatorsubstanzen nicht zu beobachten war.

Tabelle 8: Konzentrationen von Indikatorsubstanzen und Eliminationsraten

	c ₀ [µg/L]	Ozonung		Ozon/GAC _{max}		Ozon/GAC ₅₀		Ozon/BF _{max}		Ozon/BF ₅₀	
		c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]
Kategorie A											
Benzotriazol	5,6 ± 0,58	0,040 ± 0,004	99	0,02*	100	0,030 ± 0,003	99	0,030 ± 0,003	99	0,030 ± 0,003	99
Tolyltriazol	1,0 ± 0,13	0,02*	98	0,02*	98	0,02*	98	0,02*	98	0,02*	98
Acesulfam	3,3 ± 0,64	0,080 ± 0,016	98	0,052 ± 0,010	98	0,083 ± 0,016	98	0,074 ± 0,014	98	0,06 ± 0,01	98
Sucralose	2,2 ± 0,68	0,84 ± 0,26	62	0,26 ± 0,081	88	0,40 ± 0,12	82	0,86 ± 0,27	61	1,2 ± 0,37	45
Diatrizaot	4,4 ± 0,88	4,2 ± 0,84	5	2,0 ± 0,40	55	2,6 ± 0,52	41	3,0 ± 0,60	32	4,1 ± 0,82	7
Carbamaze- pin	1,0 ± 0,13	0,01*	99	0,01*	99	0,01*	99	0,01*	99	0,01*	99
Iopamidol	0,65 ± 0,13	0,09 ± 0,018	86	0,08 ± 0,016	88	0,03 ± 0,006	95	0,05 ± 0,01	92	0,08 ± 0,02	88
Sotalol	0,57 ± 0,06	0,02*	96	0,02*	96	0,02*	96	0,02*	96	0,02*	96
Primidon	0,36 ± 0,09	0,02*	94	0,02*	94	0,02*	94	0,02*	94	0,02*	94
Mittlere Elim. Kategorie A			82		91		89		85		80
Kategorie B											
Clarith- romycin	0,04 ± 0,01	0,01*	75	0,01*	75	0,01*	75	0,01*	75	0,01*	75
Roxith- romycin	0,06 ± 0,02	0,01*	83	0,01*	83	0,01*	83	0,01*	83	0,01*	75
Trimethoprim	0,07 ± 0,02	0,01*	86	0,01*	86	0,01*	86	0,01*	86	0,01*	86
Mecoprop	0,12 ± 0,02	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92
N-Acetyl- SMX	0,05 ± 0,01	0,01*	78	0,01*	78	0,01*	78	0,01*	78	0,01*	78
Sulfamethox- azol (SMX)	0,03 ± 0,01	0,01*		0,01*		0,01*		0,01*			
Erythromycin	n.d.	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Diclofenac	1,4± 0,18	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99
Mittlere Elim. Kategorie B			86		86		86		86		86
Kategorie C											
Carboxy- Acyclovir	3,1	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99	0,02*	99
Carboxy- Lamivudin	0,18	0,01*	94	0,01*	94	0,01*	94	0,01*	94	0,01*	94
Oxypurinol	17± 3	1,6± 0,2	90	0,025*	100	0,037 ± 0,005	100	1,3± 0,2	92	1,4± 0,3	92

Tabelle 8 (fortgesetzt)

	c ₀ [µg/L]	Ozonung		Ozon/GAC _{max}		Ozon/GAC ₅₀		Ozon/BF _{max}		Ozon/BF ₅₀	
		c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]	c [µg/L]	Elim. [%]
Carboxy-Emtricitabin	0,36 ± 0,10	0,01*	97	0,01*	97	0,01*	97	0,01*	97	0,01*	97
Carboxy-Abacavir	0,12 ± 0,2	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92	0,01*	92
Carboxy-Acridin	0,53 ± 0,12	0,05 ± 0,015	91	0,01*	98	0,02 ± 0,01	97	0,11 ± 0,03	79	0,12 ± 0,03	77
Mittlere Elim. Kategorie C			94		97		97		92		92
Kategorie D											
Tramadol	0,53 ± 0,11	0,02*		0,02*		0,02*		0,02*		0,02*	
Tramadol-N-oxid	0,05 ± 0,02	0,05	9,4	0,02*	3,8	0,02*	3,8	0,05	9,4	0,05	9,4
Carboxy-Acyclovir	3,12 ± 0,37	0,02*		0,02*		0,02*		0,02*		0,02*	
COFA	0,05*	3,3 ± 0,7	106	3,1 ± 0,8	99	2,7 ± 0,8	86	2,6 ± 0,7	85	2,6 ± 0,5	85
Sulpirid	0,33 ± 0,07	0,02*		0,02*		0,02*		0,02*		0,02*	
Sulpirid-N-oxid	0,02 ± 0,00	0,10 ± 0,02	30	0,02*	6,0	0,02*	6,0	0,10 ± 0,02	30	0,10 ± 0,02	30
Lamotrigin	1,7 ± 0,3	0,57 ± 0,11		0,02*		0,02*		0,63 ± 0,13		0,69 ± 0,14	
Lamotrigin-N-oxid	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01	2,4	0,02*	1,1	0,02*	1,1	0,02*	1,1	0,02*	1,1
Mittlere Bildung Kategorie D			37		27		24		31		31
ANMERKUNGEN											
c ₀ : Konzentration im Zulauf.											
*: Konzentrationen unter LOQ, zur Berechnung der Eliminierung wurde LOQ verwendet.											
c: Konzentrationen in µg/L.											

Die Ozonung ohne Nachbehandlung erreichte trotz der deutlichen Reduktion endokriner Wirkpotenziale aufgrund des sehr starken mutagenen Wirkpotenzials im Ames-Test (Tabelle 9) einen negativen EBI von -29 und damit ein im Vergleich zur konventionellen Abwasserbehandlung schlechteres Ergebnis (Tabelle 11). Durch die nachfolgende GAK-Filtration wurden die mutagenen Aktivitäten eliminiert, sodass für das Kombinationsverfahren mit belüftetem und unbelüftetem Filter eine im Vergleich zur konventionellen Behandlung bessere Bewertung mit einem EBI von 15 bzw. 19 resultiert. Dagegen konnten im Kombinationsverfahren von Ozonung mit nachfolgendem Biofiltern die starken mutagenen Aktivitäten nach der Ozonbehandlung nicht reduziert werden, sodass die Bewertung des Verfahrens mit einem EBI von -29 bzw. -33 auf dem Niveau der Ozonung ohne Nachbehandlung verbleibt. Mit dem ökotoxikologischen Bewertungskonzept aus TransRisk steht ein Verfahren zur Verfügung, auf dessen Basis sich durch die Möglichkeit der Berücksichtigung unterschiedlicher In-vitro-Testverfahren sowie die Erweiterungsmöglichkeit um zusätzliche ökotoxikologischer Wirkpotenziale flexibel die Effizienz von erweiterten Abwasserbehandlungsverfahren im Vergleich zur konventionellen Abwasserbehandlung beurteilen lässt.

Tabelle 9: Gemessene Aktivitäten des behandelten Abwassers mit unterschiedlichen In-vitro Assays

	YES [ng E- EQ/L]	YAES [µg OHT- EQ/L]	YAS [ng T- EQ/L]	YAAS [µg Flu- EQ/L]	YDS [µg β-NF- EQ/L]	Microtox Assay	Ames YG7108 (% Revertan- ten)
Konventionelle Behandlung	8,39	446	92,0	1113	n.a.	n.a.	1,39
Ozon	0,705	1413	72,5	209	n.a.	n.a.	89,6
Ozon/GAC _{nae}	0,837	475	34,0	96,9	n.a.	n.a.	15,3
Ozon/GAC _{ae}	0,916	621	54,1	179	n.a.	n.a.	13,2
Ozon/BF _{nae}	0,836	1856	53,9	178	n.a.	n.a.	56,9
Ozon/BF _{ae}	0,876	1729	19,1	299	n.a.	n.a.	52,1

GAK_{nae}: unbelüftete granulierte Aktivkohlefiltration; GAK_{ae}: belüftete granulierte Aktivkohlefiltration; BF_{nae}: unbelüftete Biofilter, BF_{ae}: belüftete Biofilter, β-NF-EQ: β-Naphthoflavon-Equivalent, E-EQ: 17β-Estradiol-Equivalent, F-EQ: Flutamid-Equivalent, n.a.: keine gemessene Aktivität, OHT-EQ: Hydroxytamoxifen-Equivalent, t-EQ: Testosteron-Equivalent, YAAS: yeast anti-androgen screen, YAES: yeast anti-estrogen screen, YAS: yeast androgen screen, YDS: yeast dioxin screen, YES: yeast estrogen screen.

Tabelle 10: Veränderung der Abundanz ausgewählter mikrobiologischer Parameter übertragen in Bewertungspunkte.

Parameter	Veränderung der Abundanzen in Bewertungspunkten			
	bezogen auf 100 ng DNA	bezogen auf 100 mL Wasser	mittlere Veränderung je Parameter	mittlere Veränderung je Kategorie
Kategorie J (Antibiotikaresistenz)				0,19
<i>blaVIM</i>	-1	0,5	-0,25	
<i>vanA</i>	-0,5	0,5	0	
<i>ampC</i>	0	0,5	0,25	
<i>ermB</i>	1	0,5	0,75	
Kategorie K (opportun. Bakterien)				0,25
Enterokokken	0,5	1	0,75	
Staphylokokken	0,5	0	0,25	
<i>P. aeruginosa</i>	-0,5	0	-0,25	
Enterobakterien	0	0,5	0,25	

Durch die Auswahl klinisch relevanter, mikrobiologischer Parameter wurde eine Bewertungsmatrix erstellt, die die aktuelle Lage im human- und veterinärmedizinischen Bereich berücksichtigt. Mole-

kularbiologische Methoden mit der Kombination aus volumenbezogener Konzentration sowie Berücksichtigung der Populationsanteile stellen ein geeignetes Mittel dar, um sowohl mögliche Restriktionen durch auftretende Selektionseignisse in nachfolgende aquatische Systeme adäquat abschätzen zu können, als auch Reduktionsleistungen von Abwasserbehandlungsverfahren zu bewerten. Der MAI verdeutlicht, dass die Ozonung die Abundanz der opportunistischen Bakterien und der klinisch relevanten Antibiotikaresistenzen signifikant verringerte. Gleichzeitig wurden bestimmte klinisch relevante Antibiotikaresistenzen durch die Ozonung bevorzugt. Dies wird dann sichtbar, wenn auf die verbliebene DNA normiert wird. Die Nachbehandlungen mittels Biofilter oder GAK führten im Gegensatz zu der Ozonung zu keiner besseren mikrobiologischen Bewertung, da die Abnahme der Abundanz der opportunistischen Bakterien und der klinisch relevanten Antibiotikaresistenzen unter 40 % (entspricht BP=0) lag.

Tabelle 11: TransRisk-Pilotanlage: Durchschnittliche Entfernung \overline{Rc} von Indikatorsubstanzen

in %	\overline{Rc} (A)	\overline{Rc} (B)*	\overline{Rc} (C)	\overline{Fc} (D)	Rc DOC	CBI	$A_i(E)$ YES, YAS BP _E	$A_i(F)$ YAES, YAAS BP _F	$A_i(G)$ Ames BP _G	$A_i(H)$ BP _H	$A_i(I)$ YDS BP _I	EBI	\overline{Rc} (J)	\overline{Rc} (K)	MBI
Ozon	83	>86	94	-37	0	45	92; 21 0,75	-217; 81 0	-6360 -1	n.a. 0	n.a. 0	-29	19	25	22
Ozon/ GACnae	92	>86	97	-27	50	60	90; 63 0,75	-7; 91 0,5	n.a. 0	n.a. 0	n.a. 0	19	19	25	22
Ozon/ GACae	90	>86	97	-24	48	60	89; 41 0,75	-39; 84 0,25	n.a. 0	n.a. 0	n.a. 0	15	19	25	22
Ozon/ BFnae	86	>86	92	-31	24	51	90; 41 0,75	-317; 84 0	-4000 -1	n.a. 0	n.a. 0	-29	19	25	22
Ozon/ BFae	82	>86	92	-31	25	51	90; 79 0,75	-288; 73 -0,25	-3660 -1	n.a. 0	n.a. 0	-33	19	25	22

ANMERKUNGEN

Kategorie A: nicht/schwer abbaubar in der biologischen Abwasserreinigung,

Kategorie B: reguliert in WRRL,

Kategorie C: in biologischen Prozessen gebildete TPs,

Kategorie D: durchschnittliche Bildung von TPs in oxidativen Prozessen wie Ozonung. Relative Veränderung der Aktivität A_i ;

Kategorie E: agonistisch endokrin; Kategorie F: antagonistisch endokrin;

Kategorie G: mutagen/genotoxisch,

Kategorie H: zytotoxisch;

Kategorie I: andere (z. B. Dioxin-ähnlich, neurotoxisch). CBI: chemischer Bewertungsindex, EAI: effektbasierter Bewertungsindex. Negative Werte zeigen einen Anstieg der Aktivität (Kat. E-I) oder die Bildung von TPs (Kat. D). Die fettgedruckten Werte zeigen die Bewertungspunkte (BP) der ökotoxikologischen Kategorien E-I, MBI: mikrobiologischer Bewertungsindex der eine Kombination aus den berechneten Zelläquivalente pro 100 ng DNA und 100 mL Probenvolumen in der

Kategorie J (Antibiotikaresistenzen) und

Kategorie K (opportunistische Bakterien) darstellt.

GAKnae: unbelüftete granulierte Aktivkohlefiltration; GACae: belüftete granulierte Aktivkohlefiltration; BFnae: unbelüftete Biofilter, BFae: belüftete Biofilter, n.a.: keine gemessene Aktivität, YAAS: yeast anti-androgen screen, YAES: yeast anti-estrogen screen, YAS: yeast androgen screen, YES: yeast estrogen screen.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass es sinnvoll ist, chemische, ökotoxikologische und mikrobiologische Bewertungskriterien miteinander zu verknüpfen. Bei der vorliegenden Bewertung wird die Kombination aus Ozon und GAK als bestmögliche Alternative unter den gegebenen Bedingungen identifiziert. Eine derart eindeutige Abgrenzung wäre allein anhand des CBI nicht möglich gewesen. Eine Negativbewertung der Verfahren Ozon und Ozon + Biofilter einzig durch den EBI hingegen wäre dem positiven Aspekt der Spurenstoffentfernung nicht gerecht geworden. Darüber hinaus konnten durch den MBI technische Prozesse ohne mikrobiologische Relevanz identifiziert werden, wie beispielsweise BF und GAK-Filter, die im Gegensatz zur Ozonbehandlung zu keiner signifikanten Verbesserung in der mikrobiologischen Bewertung führten.

5.6.3 Erweitertes mikrobiologisches Bewertungskonzept

Innerhalb der letzten Jahrzehnte wurden zunehmend Untersuchungen zur mikrobiologischen Charakterisierung des Abwassers in Kläranlagen und angrenzenden Oberflächengewässern sowie nachgeschalteten Wassersystemen angestrebt. Mithilfe von Kultivierung und molekularbiologischen Methoden wurde dabei festgestellt, dass sowohl opportunistische Bakterien, als auch klinisch relevante Antibiotikaresistenzgene die konventionelle Abwasserreinigung überleben, in bestimmten Kompartimenten der Kläranlage akkumulieren können, und auch in nachfolgenden Wassersystemen zu finden sind. Eine Übertragung von diesen klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgenen auf autochthone Bakterien des Trinkwassers wurde ebenfalls festgestellt. Diese Kontaminationskette weist auf eine hohe Mobilität und Persistenz von Antibiotikaresistenzgenen hin. Daher werden Abwasserbehandlungsverfahren zur Reduktion der mikrobiologischen Belastung immer wichtiger, um die Verbreitung von klinisch relevanten Mikroorganismen und Antibiotikaresistenzgenen in der Umwelt zu reduzieren.

Bisherige Untersuchungen von weiterführenden Abwasserbehandlungsmaßnahmen nutzten größtenteils nur kulturelle Verfahren mit Indikatorbakterien, um die Effizienz des jeweiligen Systems zu beschreiben. Dadurch können weder das erweiterte Spektrum an opportunistisch-pathogenen Bakterien, Viren, noch das Risiko der Antibiotikaresistenzsituation und Verbreitung ausreichend erfasst werden. Im Gegensatz dazu geben DNA-bezogene Untersuchungen die Situation in der Gesamtpopulation wieder, können zwischen lebenden und toten Populationsanteilen unterscheiden und sind nicht limitiert auf die Kultivierbarkeit von Bakterien. Derzeit gibt es keine Richtlinien oder standardisierte Verfahren zur Erfassung der Antibiotikaresistenzlage im Abwasser, und so wurde in etablierten Systemen wie Ozonung und UV-Behandlung nie die mikrobiologische Gesamtpopulation im Abwasser berücksichtigt. Des Weiteren besitzen derzeitige Abwasserbehandlungsmaßnahmen nur das Potenzial zur Keimreduktion und nicht zur Bakterienelimination. Auch das Verhältnis von mikrobiellen Parametern innerhalb der Bakterienpopulation spielt eine sehr wichtige Rolle. So ist die relative Abundanz von Antibiotikaresistenzen und opportunistischen sowie pathogenen Bakterien nach einem Abwasserbehandlungsprozess genauso wichtig, wie ihre absolute Konzentration im Abwasser. Durch die Kombination von relativen/populationsbezogenen Abundanzen und absoluten/volumenbezogenen Abundanzen können Selektionen von mikrobiologischen Parametern erkannt werden, bakterielle Vermehrungspotenziale eingeschätzt, und eine Verbreitung von klinisch relevanten Mikroorganismen und Antibiotikaresistenzgenen im nachfolgenden aquatischen Systemen, ausgelöst durch eine veränderte Konkurrenzsituation, besser eingeschätzt werden.

Aufgrund der unerwünschten Verbreitung und kontinuierlichen Zunahme von Antibiotikaresistenzen im human- und veterinärmedizinischen Bereich wäre eine Hygienisierung des Abwassers generell erstrebenswert, um die Verbreitung von opportunistischen Bakterien und klinisch relevanten Antibiotikaresistenzen zu verringern. Bei der Evaluierung eines technischen Verfahrens zur Keim- und Antibiotikaresistenzreduktion sind geeignete mikrobiologische Parameter und Methoden nötig, um die Heterogenität einer Mischpopulation erfassen zu können. Hierbei bieten sich vor allem molekularbiologische Methoden an, die Antibiotikaresistenzen auch auf nicht-kultivierbare Bakterien erfassen, und auch das Antibiotikaresistenz Reservoir von autochthonen Bakterien mit einbeziehen. Beide Parameter sind wichtig für ein umfassendes mikrobiologisches Bewertungskonzept.

Derzeit werden vor allem chemische Oxidationsverfahren und UV-Behandlungen (Transmissionsabhängig, $150 - 700 \text{ J/m}^2$) eingesetzt, um große Wasservolumina, wie den Ablauf einer Kläranlage, kontinuierlich zu behandeln. Dabei werden starke Oxidationsmittel eingesetzt, die vornehmlich zur Degradierung unerwünschter chemischer Schadstoffe dienen, aber auch um bakterielle Strukturen zu schädigen und Mikroorganismen abzutöten. Am Versuchsstandort wurde ein Teilstrom des konventionell gereinigten kommunalen Abwassers genutzt, um den Einfluss der Ozonung auf ausgewählte, klinisch relevante Antibiotikaresistenzgene und opportunistische Mikroorganismen zu untersuchen.

Wirkungsweise von Ozon auf die Physiologie von Mikroorganismen

Die Ozonbehandlung zur Reduktion der Bakterienfracht im Abwasser beruht auf der hohen Reaktivität des Ozons gegenüber elektronenreichen Molekülstrukturen wie Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen, die häufig in Lipiden der Bakterienmembran und Nucleotiden der DNA zu finden sind. Durch die beschädigte Membran gelangen Ozonmoleküle in das Innere der Bakterienzelle und können daher auch mit den aromatischen Strukturen der Bakterien reagieren. Hierdurch kann es einerseits zum Informationsverlust oder zu Mutationen des Erbguts kommen, und andererseits auch eine Übertragung/Induktion von Antibiotikaresistenzen durch deren Freisetzung und Aufnahme durch andere Bakterien auslösen.

Bewertungskonzept für Abwasserprozesse: molekularbiologische Quantifizierung

Mit der Identifizierung mikrobiologischer Parameter, die sowohl von klinischer Relevanz, als auch zur Evaluierung von Abwasserbehandlungsverfahren geeignet sind, ist die Erstellung eines mikrobiellen Bewertungskonzeptes gegeben. Eine Aufstellung und Gewichtung dieser Kriterien kann bei zukünftigen Entscheidungen zur Beurteilung von Kosten und Nutzen einer 4. Reinigungsstufe helfen. Um die Effizienz der Ozonung zur Keimreduktion sowie zur Erfassung von Veränderungen in der Zusammensetzung der Abwasserpopulation zu berücksichtigen, wurden neben der absoluten Konzentration der mikrobiologischen Parameter pro 100 mL Abwasser auch die relativen Abundanzen pro 100 ng DNA berücksichtigt. Für die abschließende Charakterisierung und Eingruppierung in ein mikrobiologisches Bewertungskonzept wurden beide Betrachtungsweisen gleich gewichtet und in einem kombinierten Wert abgebildet. Dadurch werden sowohl die reine Reduktionsleistung der Ozonung als auch Selektionen/Anreicherungen bestimmter Parameter berücksichtigt. Diese Kombination ist wichtig, um das Verbreitungspotenzial in nachfolgenden Wassersystemen einzuschätzen zu können.

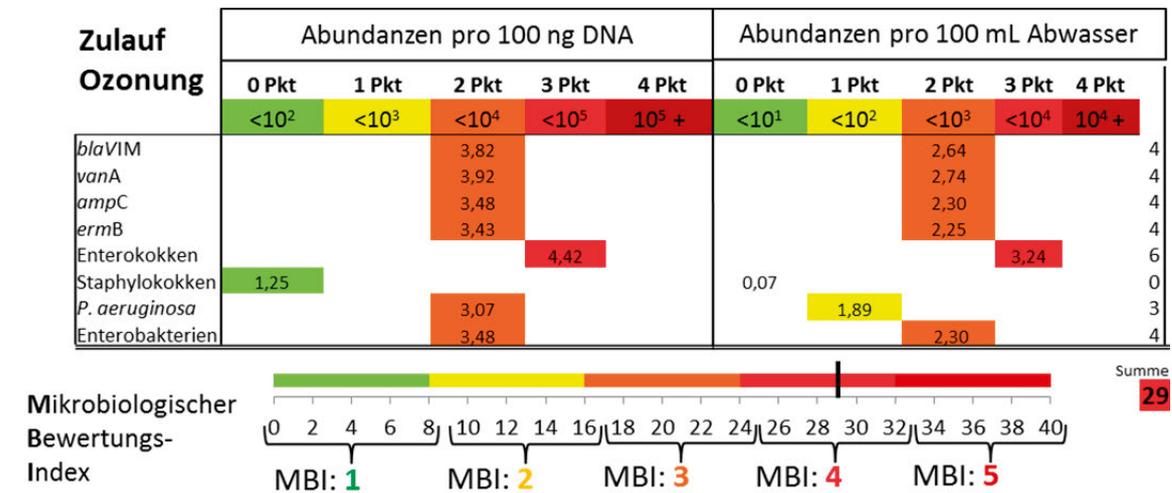
Die oben genannten Prinzipien wurden als Grundlagen für die nachfolgende Bewertungsmatrix herangezogen, um einen mikrobiologischen Bewertungsindex zu erstellen. Die Bewertung erfolgt nach der Häufigkeit der gefundenen Parameter, jeweils in 100 ng DNA und in 100 mL Volumen. Die oberen und unteren Grenzwerte einer jeden Bewertungskategorie spezifizieren einen Toleranzbereich von einer Zehnerpotenz. Durch die Skalierung der Bewertungsmatrix werden bis zu fünf Zehnerpotenzen abgedeckt. Dies ermöglicht die Bewertung und Darstellung von Abwasserprozessen bis hin zur Desinfektion (Reduktion um fünf Zehnerpotenzen). Die abgebildeten, mikrobiologischen Abundanzen stellen Median-Werte, die über einen Zeitraum von 1,5 Jahren an der Pilotanlage gemessen wurden, dar.

Die erhaltene Summe aus der Bewertungsmatrix zeigt auf einer 5-teiligen Skala den erforderlichen Handlungsbedarf in Form von Einzelkategorien an. Die Bewertungsmatrix ist durch weitere Parameter erweiterbar und auch die Bewertungsskala differenzierbarer. Neben den gemessenen Werten, die ausschlaggebend für das Bewertungskonzept sind, wurde auch der Grad der Reduktion bestimmt und in Klammern angegeben. Dadurch wird sowohl die Leistung des Ozonsystems, als auch das bestehende Restrisiko erfasst.

Tabelle 12: Mikrobiologischer Bewertungsindex (MBI)

MBI	
1	Sehr niedriges Risiko
2	Niedriges Risiko
3	Erhöhtes Risiko (Handlungsbedarf)
4	Starkes Risiko (erhöhter Handlungsbedarf)
5	Sehr starkes Risiko (deutlicher Handlungsbedarf)

Tabelle 13: Anwendung der Bewertungsmatrix auf den Zulauf des Ozonsystems



Im Gegensatz zum Einsatz der Ozonung in der Trinkwasseraufbereitung wurden im Abwasser bei den mikrobiologischen Untersuchungen allgemeine Inaktivierungsraten der Bakterienfracht von maximal 1,5 log-Stufen festgestellt. Um den Einfluss der unterschiedlichen Wassertemperaturen zu berücksichtigen, wurden die quantitativen Ergebnisse in Winterzeit (von Oktober bis März) und Sommerzeit (von April bis September) unterteilt. Dabei traten Unterschiede in den Inaktivierungsraten einzelner untersuchter Mikroorganismen und Antibiotikaresistenzgenen abhängig von der jeweiligen Jahreszeit und Wassertemperatur auf. Generell wurde eine erhöhte Keimfracht im Abwasser innerhalb der Sommerzeit festgestellt, während die Antibiotikaresistenzgene keinem jahreszeitlichen Trend gefolgt sind.

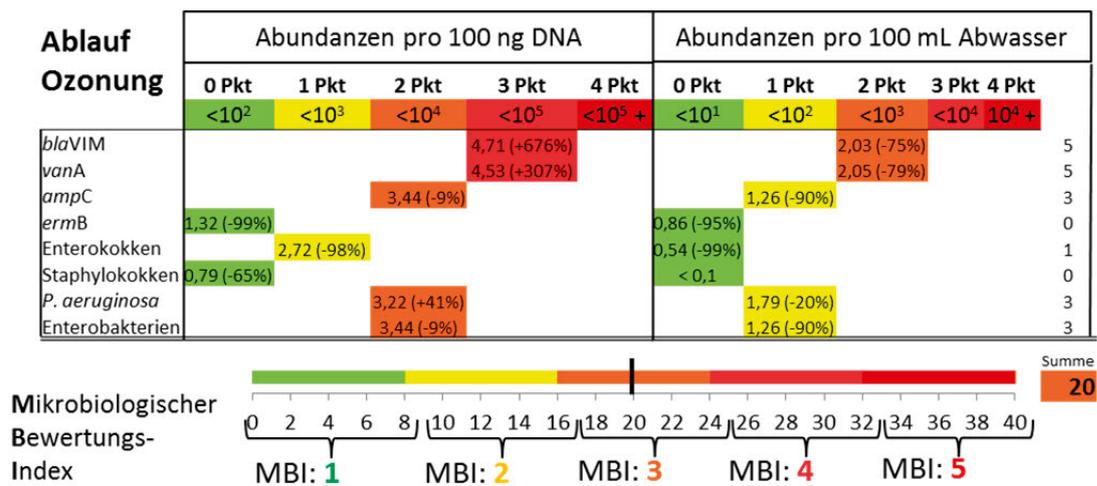
Mit der aufgestellten Bewertungsmatrix wurde der konventionelle Ablauf der Kläranlage, vor der Ozonung, charakterisiert (Tabelle 13). Eine Gesamtpunktzahl von 29 (MBI: 4) zeigt in diesen Fall einen erhöhten Handlungsbedarf an. Bei der Einteilung der Abundanzen pro 100 ng DNA in die einzelnen Bewertungskategorien, entsprechen 100 ng DNA ca. 10⁷ Bakterien. Das bedeutet, weniger als 10³ Abundanzen in 100 ng DNA stehen somit für einen Anteil von weniger als 0,01 % an der bakteriellen Population und stellen damit nur ein geringes bis kein Restrisiko dar (1 bis 0 Punkte).

Unter Berücksichtigung dieser Betrachtungsweise tragen weniger als 0,08 % aller Bakterien im Ozonzulauf die klinisch wichtigen Antibiotikaresistenzen *blaVIM* (Imipenemresistenz) und *vanA* (Vancomycinresistenz), was einer Bewertungskategorie von 2 Punkten entspricht und damit bereits einen

Handlungsbedarf anzeigt. Die Konzentration der anderen untersuchten Antibiotikaresistenzgene und opportunistischen Bakterien liegt mit einem Anteil von weniger als 0,03 % an der Gesamtpopulation darunter, aber dennoch im gleichen Bewertungsbereich (2 Punkte.).

Für die volumenbezogene Eingruppierung wurden weniger als 10 klinisch relevante Antibiotikaresistenzträger und opportunistische Bakterien in 100 mL Abwasser als sehr niedriges Risiko eingestuft (0 Punkte.). So liegt die Konzentration im Ozonzulauf an blaVIM und vanA bei etwas mehr als 500 Resistenzträgern pro 100 mL Abwasser, was mit 2 Punkten bewertet wurde und damit auch hier auf einen Handlungsbedarf hinweist (MBI 3). Die anderen Parameter liegen, mit Ausnahme der Enterokokken, bei weniger als 200 Resistenzträgern pro 100 mL Abwasser (2 bis 0 Punkte, d.i. MBI 1).

Tabelle 14: Anwendung der Bewertungsmatrix auf den Ablauf der Ozonung. In Klammern ist der Wert der Reduktionsleistung/Akkumulation angegeben.



In Tabelle 14 wurde die Bewertungsmatrix auf den Ablauf der Ozonung angewendet und erreicht eine Gesamtpunktzahl von 20, was einer Verbesserung der mikrobiologischen Abwasserqualität, aber immer noch einem hohem Restrisiko entspricht (MBI: 3). Daher sollten in Abhängigkeit der jeweiligen Gewässerhältnisse weiterführende Abwasserbehandlungsverfahren angestrebt werden, um das vorhandene Restrisiko weiter zu senken. Der Grund dafür liegt an der Häufung klinisch relevanter Antibiotikaresistenzgene innerhalb der Population durch die Ozonbehandlung von vorher ca. 0,08 % (2 Punkte) auf über 0,5 % (starkes Risiko, 3 Punkte). Dieser Effekt steht der Reduktion des Großteils an opportunistischen und pathogenen Bakterien pro 100 ng DNA entgegen, sodass die mikrobiologische Verbesserung der Abwasserqualität keiner generellen Verbesserung entspricht. Am Beispiel des Ozonablaufs wird deutlich, dass volumenbezogene Bewertungskonzepte allein nicht ausreichen, um eine Ozonbehandlung adäquat zu beurteilen, wenn es um die Erfassung von Restrisiken geht. Der Effekt der ozonrobusteren Antibiotikaresistenzträger wird durch die Reduktion der Gesamtkeimfracht bei volumenbezogenen Konzentrationen maskiert. Des Weiteren zeigt das Ergebnis des Ozonablaufs, wie wichtig es ist, neben der Gesamtpunktzahl auch die Einzelkriterien zu berücksichtigen.

Untersuchungen zu den der Ozonung nachgeschalteten Filtersystemen an der Kläranlage (Aktivkohle und Biofilter) zeigten zwar eine Reduktion der getesteten mikrobiologischen Parameter, diese Reduktion bewegte sich jedoch lediglich in einem Bereich von 0,2 log-Stufen 100 ng DNA (max. 40 %). Dies bewirkte keine Veränderung des MBI und des mikrobiologischen Risikos.

6 In silico-Verfahren zur Abschätzung der humantoxischen Bedeutung

Die Suche nach effizienten mathematischen Modellen, mit denen Vorhersagen zu einer möglichen Human- und Ökotoxizität eines organischen Stoffes gemacht werden können, hat mit der Entwicklung von Datenbanksystemen und Simulationsalgorithmen einen rasanten Aufschwung genommen. Die Verfügbarkeit leistungsfähiger Rechenzentren hat die vor Jahren noch ehrgeizig anmutende, technische Herausforderung in den Bereich der Machbarkeit gerückt. Das BMBF-Projekt TransRisk konzentrierte sich unter anderem auf die Entwicklung integrierter Ansätze eines auf Expertensystemen und auf modernen Interaktionsanalysen beruhenden Vorhersagesystems. Die Notwendigkeit zu einem solchen Vorgehen ergab sich nicht zuletzt aus der ständig steigenden Anzahl von anthropogenen Spurenstoffen und ihren Abbau- bzw. Transformationsprodukten (TP), die nach der Untersuchung der biotischen und abiotischen Ab- bzw. Umbauprozesse einzelner Problemstoffe bekannt geworden sind (s. Bild 40).

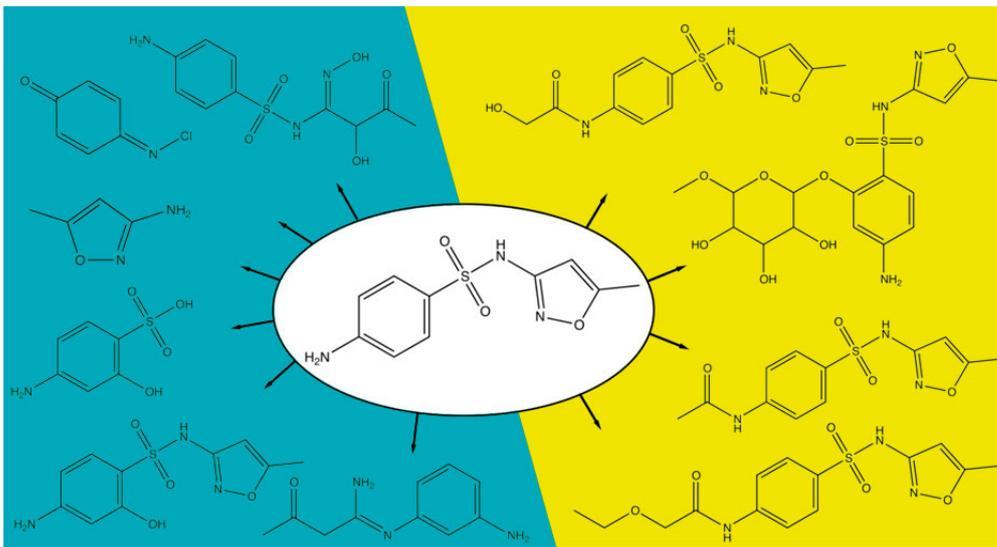


Bild 40: Kleine Auswahl an abiotischen (blauer Hintergrund) und biotischen (gelber Hintergrund) Transformationsprodukten des Antiinfektivums Sulfamethoxazol (SMZ)

Die außerordentlich hohe Anzahl an Stoffen, biologischen Wirkungen und möglichen Interaktionen ist bei weitem zu anspruchsvoll, um mit konventionellen Methoden in vertretbarem Zeit- und Kostenrahmen zu aussagekräftigen Ergebnissen zu gelangen. Fügt man noch biologische Zielstrukturen (biological targets = BT, d. h. Enzyme, Rezeptoren, Ionenkanäle usw.), an die ein organischer Stoff binden könnte, sowie von der Muttersubstanz abgeleitete Transformationsprodukte (TPs) zu dieser Datenbasis möglicher Interaktionen hinzu, zeichnet sich zwar ein realistischeres Bild der Lage ab, aber dieses Vorgehen lässt den Bereich möglicher Wechselwirkungen dramatisch anschwellen.

6.1 Vorhersagesysteme

In der Theorie basiert die Vorhersagbarkeit gesundheitlicher Risiken auf zwei Voraussetzungen. Erstens müssen die Stoffeigenschaften der identifizierten Schadstoffe genau bekannt sein, zweitens müssen die biologischen Zielstrukturen umfassend und genau charakterisiert sein. Beide Voraussetzungen sind in der täglichen Praxis nur teilweise oder gar nicht erfüllt, sodass aus Ähnlichkeitsanalysen Wahrscheinlichkeiten abgeleitet werden müssen. Bei diesen Ähnlichkeitsanalysen stützt man sich zum einen auf die zu strukturell verwandten Stoffen bereits ermittelten toxikologischen Risiken, zum anderen auf Wahrscheinlichkeitsberechnungen für die Interaktion mit bekannten biologischen Zielstrukturen. Zu letzteren gehören die Bausteine der Organismen, also Proteine (Eiweiße), die als Enzyme, Rezeptoren, Poren und Kanäle bzw. zelluläre Transportsysteme in Erscheinung treten. Auch Lipide (Fette), die

für die notwendige Kompartimentierung als Bestandteil von Zellmembranen in höheren Organismen verantwortlich sind, sowie Kohlenhydrate, die eine entscheidende Rolle im Energiestoffwechsel und im Bauplan aller Organismen spielen, zählen zu den erwähnten Bausteinen.

Mit geeigneten Computerwerkzeugen ist es möglich, Strukturkandidaten für relevante toxische Interaktion mit verschiedenen biologischen Zielstrukturen (BTs) zu kategorisieren und zu priorisieren. Auch wenn diese Verfahrensweise auf den ersten Blick wie ein grobes Raster erscheint, so wird auf den zweiten Blick schnell klar, dass sie mit wenig heuristischen Voraussetzungen auskommt, in hohem Grad automatisierbar und leicht aktualisierbar bzw. erweiterbar ist.

Gibt es Anhaltspunkte, mit welchen biologischen Zielstrukturen die fraglichen Stoffe interagieren, kann man den Versuch unternehmen, diese Interaktion mit einem Kraftfeldmodell abzubilden und die energetischen Beziehungen (Affinitäten) zu berechnen. In günstigen Fällen existieren für den betroffenen Stoff sogar experimentelle Daten. Dann kann es gelingen, das Modell auf diese Daten zu trainieren, und es ist möglich, semi-quantitative Vergleichswerte für die bislang nicht charakterisierten Schadstoffe zu erhalten. Zur Aufstellung des Kraftfeldmodells sind hochaufgelöste, dreidimensionale Strukturdaten des Enzyms, Rezeptors usw., wie sie aus Röntgen- oder NMR (Kernspinresonanz-)spektroskopischen Untersuchungen erhalten wurden, eine zwingende Voraussetzung. Die Interaktion zwischen Schadstoff und Zielstruktur muss energetisch günstig sein, denn sonst wäre dieser gebundene Zustand thermodynamisch instabil und deshalb – statistisch gesehen – höchst unwahrscheinlich.

6.1.1 Klassische Moleküldynamiksimulationen

Um die für die Simulationen ausgewählten Moleküle einer klassischen moleküldynamischen Simulation zur Abschätzung von Bindungsaffinitäten unterziehen zu können, müssen sie mit sogenannten Kraftfeldparametern (Ladungen, Bindungslängen/-stärken, etc.) zur Beschreibung sämtlicher zwischenatomarer Wechselwirkungen versehen werden. Für die Simulation eignet sich das Programm GROMACS. Aus den Daten (insbesondere Atomkoordinaten und potenzielle Energien) der erzeugten Zeitreihen lassen sich der wahrscheinlichste Bindungsmodus sowie eine Bindungsaffinität (freie Energie) abschätzen. Die Bindungsaffinität macht eine quantitative Aussage darüber, ob ein Ligand (Stoff, der an einen Rezeptor binden kann) eine wässrige Umgebung, also den ungebundenen Zustand, oder die Bindestelle des Zielmoleküls, den gebundenen Zustand bevorzugt. Der Betrag der Bindungsaffinität basiert zum einen auf Kräften, die auf der Wechselwirkung mit dem Protein beruhen, und zum anderen auf Einschränkungen der Bewegungsfreiheit (Entropie), die mit der Bindung an das Protein einhergehen.

6.1.2 Expertensysteme

Wenn die Strukturen, mit denen die Stoffe interagieren, nicht bekannt sind, bleibt nichts anderes übrig, als die bekannten chemischen Strukturen der Stoffe heuristisch zu analysieren, die physikochemischen Eigenschaften nach bekannten Algorithmen zu berechnen, reaktive Gruppen und Toxikophore (funktionelle Molekülgruppen mit bestimmten physikochemischen und biochemischen Merkmalen) zu identifizieren und sterische Parameter (räumliche Ausdehnung eines Moleküls) abzuschätzen. Anschließend wird in großen Faktendatenbanken nach ähnlichen Verbindungen gesucht, deren toxikologische Eigenschaften aus tierexperimentellen oder – besser noch – aus epidemiologischen Studien gut bekannt sind. Aus diesem Grunde heißen solche Systeme "Expertensysteme".

Zur Abschätzung der Toxizität der identifizierten TPs des Antikonvulsivums Carbamazepin wurde in TransRisk auf das Expertensystem LAZAR (= LAZY structure-Activity Relationships) zurückgegriffen, das im Open Source-Bereich der zahlreichen Expertensysteme angesiedelt ist. Es verfügt über ein simples Web-Interface (<http://lazar.in-silico.de/predict>). Die Prinzipien der OECD für QSAR-Modelle sind implementiert und seit 2010 erfüllt das Expertensystem die Anforderungen des OpenTox-Projekts der Europäischen Union (Rahmenprogramm 7 = FP7). QSAR steht für „Quantitative Struk-

tur-Wirkungs-Beziehung“. Der Begriff beschreibt die Erstellung einer quantitativen Beziehung zwischen einer pharmakologischen, chemischen oder physikalischen Wirkung eines Moleküls mit seiner chemischen Struktur.

LAZAR ermittelt bei einer Strukturanalyse qualitative oder quantitative Voraussagen für die nachstehenden Endpunkte, für die vor allem experimentelle Fakten des Datenbanknetzwerks DSSTox (= Distributed Structure-Searchable Toxicity) der US-amerikanischen Umweltbehörde EPA ausgewertet werden:

(1) DSSTox carcinogenic potency single cell call:

Eine Bewertung der Kanzerogenität auf der Basis verfügbarer TD50-Werte (Dosis, die bei der Hälfte der untersuchten Lebewesen toxische Wirkungen verursacht) für diverse Studien mit Versuchstieren (Maus, Ratte, Hamster, Hund, etc.) beider Geschlechter. Die Daten wurden im Rahmen des amerikanischen National Toxicology Programms (NTP) zusammen getragen. Die Bewertung "carcinogenic" bedeutet, dass ein oder mehrere TD50-Werte mit Tumorlokalisation in der Datenbank gefunden wurden. Der TD50-Wert gibt für ein bestimmtes Zielgewebe die chronische Dosisleistung (in mg/kg/Tag) an, die in der Hälfte der Versuchstiere am Ende der Spezies-typischen Lebensspanne Neoplasien (Tumore) induzierte, wenn gleichzeitig in den Kontrolltieren derselben Spezies am selben Ort keine Tumore auftraten.

(2) DSSTox carcinogenic potency multi cell call:

dehnt die Bewertung der voranstehenden Kategorisierung aus auf positive Resultate in beiden Geschlechtern (multisex), an mehreren Geweben/Organen (multisite) oder in mehreren Species (multispecies) aus.

(3) DSSTox carcinogenic potency mouse rat hamster:

schränkt die Bewertung der vorherigen Kategorisierung auf die angezeigten Spezies (Maus, Ratte, Hamster) ein.

(4) DSSTox ISSCAN v3a Canc:

entspricht der Bewertung der Kategorisierung unter Punkt (1), enthält aber als Datenbasis die geprüften Daten des europäischen ISS (= Istituto Superiore di Sanita, Version 3 vom 19. September 2008). Dieser Datensatz berücksichtigt nur Maus und Ratte mit beiden Geschlechtern.

(5) DSSTox Carcinogenic Potency DBS Mutagenicity:

fokussiert die Bewertung von "potency single cell call" unter Punkt (1) auf Mutagenität (statt Kanzerogenität) auf der Datenbasis des National Toxicology Programs (NTP).

(6) Kazius-Bursi Salmonella mutagenicity:

zur Vorhersage von Mutagenität auf der Basis der Bursi-Mutagenitätsdatenbank (4337+ Molekülstrukturen mit den zugehörigen AMES-Test Ergebnissen).

(7) EPA v4b Fathead Minnow Acute Toxicity:

schätzt aufgrund von Strukturvergleichen die LC50-Werte (letale Konzentration, bei der die Hälfte der untersuchten Lebewesen sterben) für die Fischart "Amerikanische Elritze" (*Pimephales promelas*) in mmol/L ab. Zugrunde liegt der Datensatz der US-Umweltbehörde in der Version 4b vom 15. Februar 2008.

(8) FDA v3b Maximum Recommended Daily Dose:

schätzt auf der Basis der von der US-amerikanischen Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelzulassungsbehörde (FDA) tabellierten Daten zur empfohlenen (essenzielle Nährstoffe) bzw zulässigen (nicht-essenzielle Nährstoffe) täglichen Aufnahme die tolerierbare Zufuhr einer Substanz mit der Nahrung (orale Aufnahme; in mmol/Tag für eine Person mit 60kg Körpergewicht) ab. Zugrunde liegt der Datensatz der FDA in der Version 3b vom 15. Februar 2008.

6.2 Risikobewertung mit Hilfe eines automatisierten Verfahrens zur Erkundung des Transformationsobjektraumes

Das Akronym TPOS (= TransformationsProdukt ObjektRaum; Raum = space) beschreibt eine abstrakte, strukturierte Instanz, die eine Fülle von virtuellen Einheiten umfasst, d. h. alle identifizierten biologischen Zielstrukturen (BTs), alle erkannten Transformationsprodukte (TPs) für eine gegebene Muttersubstanz. TPOS kennt aber nicht nur Einheiten, sondern auch Methoden, die man als von → nach-Vektoren deuten kann (z. B. Reaktionspfade, Synthesewege, Biotransformationsprozesse etc.). Eine umfassende Risikobewertung nimmt vorzugsweise den TPOS einer Substanz als Ausgangspunkt und berücksichtigt die abgeleiteten TPs, BTs und quantitative Wechselwirkungswahrscheinlichkeiten, anstatt allein die Muttersubstanz zu betrachten. Dies sei an zwei Beispielen erläutert, zum einen an dem Antibiotikum Sulfamethoxazol (SMZ) und zum anderen an dem Antikonvulsivum Carbamazepin (CBZ).

Aus relevanten chemischen und medizinischen Faktendatenbanken (PubMed, SciFinder und CAPlus) ist zu entnehmen, dass im Falle von SMZ 31, im Falle von CBZ mindestens 53 strukturell identifizierte TPs bekannt sind.

Als Bindungspartner für die diversen TPs wurden in TransRisk aufgrund biochemischer und toxikologischer Erkenntnisse aus der Literatur zunächst die wichtigsten Enzymaktivitäten, Ionenkanäle, Transportproteine etc. ausgesucht. Hier ergaben sich zunächst aufgrund der unterschiedlichen pharmakologischen Wirkmechanismen von SMZ und CBZ gänzlich unterschiedliche Vorgehensweisen.

Für das Sulfonamid SMZ treten unerwünschte Wirkungen beim Menschen nur im therapeutischen Dosisbereich auf, oder wenn eine Überempfindlichkeit gegen diese Substanzklasse (Sulfonamid-Allergie) vorliegt. Nachdem solche Effekte bei einer Exposition über Trinkwasser und Badewasser nicht zu erwarten sind, konzentrierte sich die Erkundung der Wirkungen im "low-dose"-Bereich vor allem auf die antimikrobielle Wirkung. In empfindlichen Bakterien stört SMZ die Folsäuresynthese über eine Hemmung der Dihydropteroatsynthetase (DHPS). Ohne die lebenswichtige Folsäure sterben die Bakterien ab. Alle Stoffe, die eine dem SMZ vergleichbare Anti-Folat-Wirkung aufweisen, können in entsprechend hoher Konzentration einen Selektionsdruck auf die mikrobielle Flora ausüben und der Ausbreitung von Resistenzen gegen SMZ Vorschub leisten. Da hoch aufgelöste 3D-Strukturen verschiedener DHPS-Enzyme verfügbar waren, konnten die 3D-Strukturen von Bakterien, die nachweislich gegen SMZ empfindlich reagieren, modelliert werden.

Für das Antikonvulsivum CBZ konnte im niedrigen Konzentrationsbereich eine induzierende Wirkung auf die Enzyme der Cytochrom(CYP)-Familie (Hämproteine) festgestellt werden. Hämproteine sind als Oxidoreduktasen für enzymatische Oxidations- und Reduktionsreaktionen in allen Lebensformen verantwortlich. Die 3D-Modellierung konzentrierte sich daher auf einzelne Enzyme dieser Familie, für die hoch aufgelöste Strukturen vorlagen.

6.2.1 Beispiel Sulfamethoxazol

Der TPOS des Antibiotikums SMZ umfasst neben den 31 TPs der Substanz nicht nur die bakterielle Dihydropteroatsynthetase (DHPS), sondern auch das Enzym N-Acetyltransferase (NAT), das für den Abbau des Sulfonamids SMZ im menschlichen Körper sorgt. Die Ergebnisse der Modellierung von DHPS und NAT sind in Bild 41 gezeigt. Von den zahlreichen möglichen Interaktionen ermittelt die Computersimulation nur für 4 Vertreter ein beachtenswertes Risikopotenzial. Alle anderen haben eine sehr geringe Interaktionswahrscheinlichkeit und liegen bei einer Priorisierung der Kandidaten weit abgeschlagen hinten.

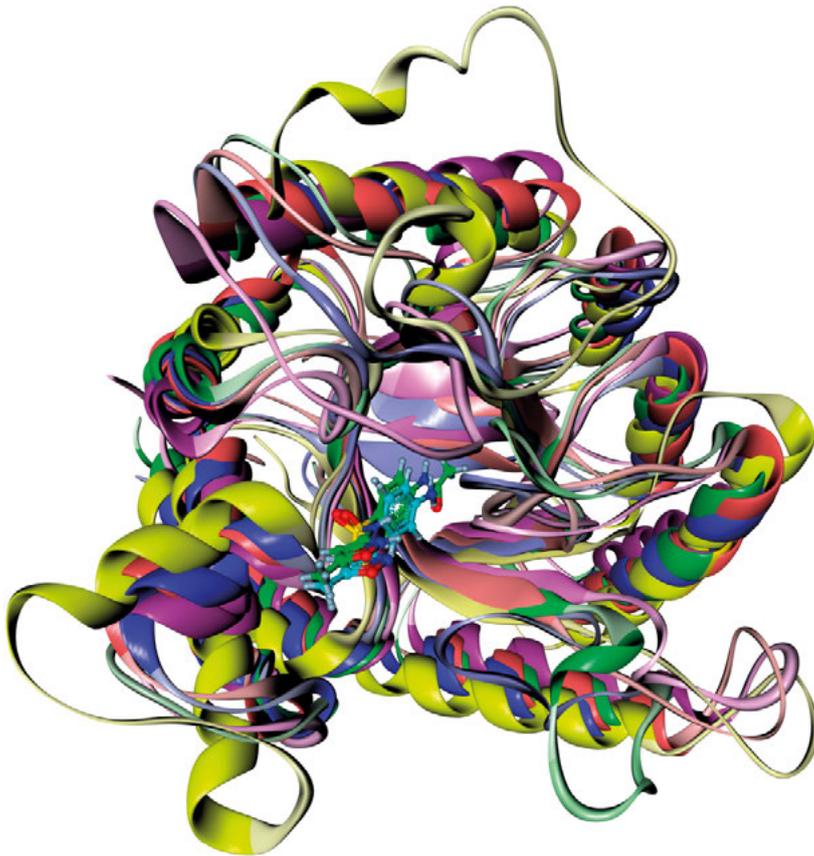


Bild 41a: Nach strukturellen Übereinstimmungen ausgerichtete Sekundärstrukturdarstellung des Enzyms DHPS aus den Bakterienarten *Staphylococcus aureus* (1AD4, grün), *Streptococcus pneumoniae* (2VEG, gelb), *Bacillus anthracis* (3TYE, rot), *Escherichia coli* (1AJ2, violett) und *Yersenia pestis* (3TYZ, blau). Als Liganden sind SMZ (Kohlenstoff hellblau) und N4-Acetyl-SMZ (Kohlenstoff grün) abgebildet. Kolorierte Atome: Sauerstoff (rot), Stickstoff (blau), Schwefel (gelb) und Wasserstoff (grau).

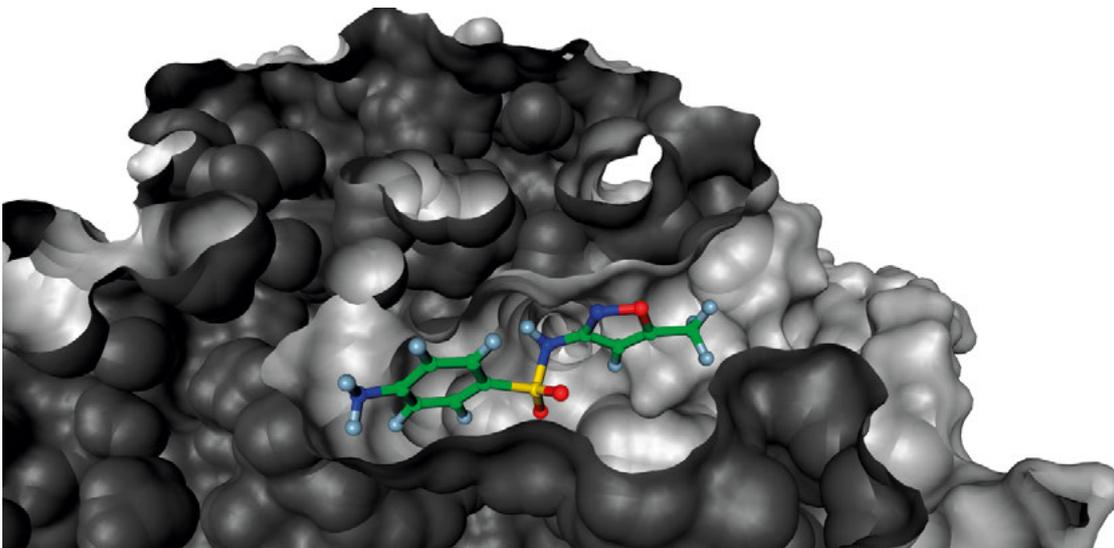


Bild 41b: Favorisierter SMZ Bindungsmodus im humanen Enzym NAT2, dargestellt durch ihre Moleküloberfläche, welche zum Zwecke der Übersichtlichkeit oberhalb des SMZ entfernt wurde. Farbgebung der Atome analog zu Bild 40a.

Zusammenfassung

Die Qualität unserer Wasserressourcen ist durch die große Anzahl an Chemikalien und krankheitsverursachenden Mikroorganismen gefährdet, die aus Punktquellen wie Kläranlagen oder diffusen Quellen wie der Landwirtschaft in die aquatische Umwelt eingetragen werden. Der Nachweis sogenannter Mikroverunreinigungen wie Pharmazeutika, Körperpflegemittel und Pestizide sowie von Krankheitserregern in gereinigtem Abwasser zeigt deutlich, dass konventionelle Abwasserreinigungsverfahren unzureichend sind, um Mikroverunreinigungen und Mikroorganismen vollständig aus dem Abwasser zu eliminieren. Auch ist über die Auswirkungen der physikalisch-chemischen Nachbehandlung auf die Elimination und Transformation organischer Mikroverunreinigungen und Mikroorganismen wenig bekannt.

Im Rahmen von TransRisk wurden deshalb Studien zur Aufklärung des Vorkommens, des Abbaus, der Transformation, der Eliminierung und der (Öko)toxizität ausgewählter organischer Mikroverunreinigungen und ihrer Transformationsprodukte (TPs) durchgeführt. Die Übertragbarkeit der Laborergebnisse wurde anschließend durch Monitoringstudien an kommunalen Kläranlagen, Fließgewässern und unterschiedlichen Grundwässern überprüft. Der Fokus lag hierbei vor allem auf der Aufklärung der Transformation und der Eliminierung ausgewählter Arzneimittel (z. B. Antivirenmittel, Antiepileptika, Urikostatika) in der biologischen Abwasserbehandlung sowie in der physikalisch-chemischen Nachbehandlung durch Ozonung und anschließenden Aktivkohle- bzw. Biofiltration. Zusätzlich wurde die Eliminierung von Krankheitserregern und Antibiotika-resistenten Bakterien analysiert.

Wie die TransRisk-Ergebnisse zeigen, führt der biologische Abbau ausgewählter Arzneistoffe in der Belebung lediglich zu einer Umwandlung (Transformation) der Stoffe in relativ stabile TPs. Diese werden zwar oftmals in der nachgeschalteten Ozonung eliminiert, allerdings werden dabei neue oxidative TPs gebildet. Weitere Bio- und Phototransformationen sind sowohl in naturnahen Abwasserreinigungsverfahren als auch in der aquatischen Umwelt zu erwarten, was am Beispiel einer Wasseraufbereitung in unbewachsenen Feuchtgebieten gezeigt wurde.

Die Ergebnisse aus dem Monitoring der Modellregion Donauried belegen zudem, dass sowohl die konventionelle Behandlung von Klinikabwässern als auch von kommunalen Abwässern Quellen der Verbreitung von klinisch relevanten Antibiotika-resistenten Bakterien und von Mikroverunreinigungen sind. Zur Belastungssituation in den Oberflächenwässern und Grundwässern tragen neben den Abläufen kommunaler Kläranlagen auch Regenüberlaufbecken bei, die gerade bei Starkregenereignissen bedeutende Kontaminationsquellen des Wasserkreislaufs mit Mikroorganismen und Mikroverunreinigungen darstellen.

Die konventionelle Abwasserreinigung war zwar in der Lage, die im Rohabwasser gemessenen endokrinen Aktivitäten z. T. deutlich zu reduzieren, In vivo-Tests zeigten jedoch, dass für den Bachflohkrebs *Gammarus Fossarum* konventionell gereinigtes Abwasser dennoch toxisch sein kann. Ähnliche toxische Wirkungen auf andere, im Gewässer lebende Arten sind daher nicht auszuschließen. Da diese Effekte im nachbehandelten Abwasser nicht beobachtet wurden, ist von einer Verbesserung der Wasserqualität für ausgewählte Wasserlebewesen durch das kombinierte Verfahren mittels Ozonung und Aktivkohlefiltration (GAK-Filtration) auszugehen. Deutliche Hinweise auf die Bildung toxischer TPs ließen sich für alle Behandlungsverfahren mit Ozonung über eine signifikante Erhöhung der Mutagenität in den ozonten Proben nachweisen. Diese konnten erst durch eine nachfolgende GAK-Filtration entfernt werden.

Im Gegensatz zu Mikroverunreinigungen besitzen Mikroorganismen ein Vermehrungspotential, das es ihnen erlaubt, unter geeigneten Bedingungen ihre Anzahl in wasserführenden Systemen zu erhöhen und ihr Gefahrenpotential dadurch zu steigern. Eine Ozonbehandlung von konventionell gereinigtem Abwasser reduziert die verbliebene Bakterienanzahl (z. B. *Escherichia coli* und Enterokokken) um 2 bis 3 Zehnerpotenzen. Allerdings lassen sich Unterschiede in der Inaktivierungseffizienz einiger Bakterienspezies und Antibiotikaresistenzträger erkennen, die ungewollte Selektionsereignisse hervorrufen. Diese Entwicklung sollte bei der Einstellung von Betriebsparametern einer Ozonanlage berücksichtigt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die biologische Abwasserreinigung eine Vielzahl von Mikroverunreinigungen nur unzureichend eliminiert bzw. in stabile TPs umwandelt. Die erweiterte Abwasserbehandlung mittels Ozonung (z.B. spezifische Ozonzehrung $0,7 - 1,0 \text{ g}_{\text{O}_3}/\text{g}_{\text{DOC}}$) trägt wesentlich zur zielgerichteten Eliminierung zahlreicher Mikroverunreinigungen bei. Allerdings führt die Ozonung in der Regel zur Transformation und nicht zur Eliminierung der Mikroverunreinigungen. Die gebildeten TPs müssen daher unbedingt bei der Bewertung der Leistungsfähigkeit der Ozonung berücksichtigt werden. Mit zunehmender Ozondosis konnten die untersuchten Spurenstoffe effektiver entfernt werden, gleichzeitig steigt jedoch der Energiebedarf und die Konzentration potenziell toxischer TPs wie Bromat.

Eine Nachbehandlung der Ozonung mittels Biofiltration war nicht in der Lage, die gebildeten TPs Tramadol-N-Oxid und COFA zu eliminieren. Durch Filtration über granulierte Aktivkohle (GAK) konnte Tramadol-N-Oxid über den gesamten Betriebszeitraum von rd. 27.000 Bettvolumen komplett zurückgehalten werden. Das Acyclovir TP COFA wurde durch die GAK-Filtration jedoch nicht eliminiert. Die Verringerung der DOC-Konzentration nach der GAK-Filtration von bis zu 45 % zeigt jedoch, dass die GAK-Filtration viele lösliche (größtenteils unbekannte) Stoffe eliminieren kann, während die alleinige Ozonung keine merkliche DOC-Reduzierung bewirkte. Die Rückführung von ozonten Abwasser in ein biologisches System führte zu keiner Elimination der chemisch analysierten TPs.

Auf Basis der neuen Erkenntnisse wurde in TransRisk ein multi-disziplinäres Konzept zur Bewertung von Abwasserreinigungstechniken entwickelt, mit dessen Hilfe die am besten geeigneten Verfahrenskombinationen ausgewählt werden können. Dieses Konzept berücksichtigt neben der einfachen Eliminierung von Mikroverunreinigungen auch die Bildung von TPs in der biologischen Abwasserreinigung und der Ozonung. Zum anderen wurde eine Reihe an ökotoxikologischen Parametern wie die Zytotoxizität und die Mutagenität sowie die Reduktion der Abundanzen von Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzgenen integriert.

Literatur

- C. ABEGGLEN, B. ESCHER, J. HOLLENDER, S. KOEPKE, C. ORT, A. PETER, et al. (2009): "Ozonung von gereinigtem Abwasser – Schlussbericht Pilotversuch Regensdorf", Eawag, Dübendorf
- ABEGGLEN C., SIEGRIST H. (2012): „Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen“, Bundesamt für Umwelt, Bern, Umwelt-Wissen Nr. 1214, S. 210
- ALEXANDER J., BOLLMANN A., SEITZ W. (2015): „Microbiological characterization of aquatic microbiomes targeting taxonomical marker genes and antibiotic resistance genes of opportunistic bacteria“, SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT, Volume 512, S. 316-325, 15.4.2015
- ANKLEY G.T., BENOIT D.A., BALOUGH J.C., REYNOLDS T.B., DAY K.E., HOKE R.A. (1994): „Evaluation of potential confounding factors in sediment toxicity tests with three freshwater benthic invertebrates“, Environ. Toxicol. Chem. 13, S. 627-635
- ANKLEY G.T., SCHUBAUER-BERIGAN M.K., MONSON P.D. (1995): „Influence of pH and hardness on the toxicity of ammonia to the amphipod *Hyalella azteca*. Can. J. Fish“, Aquat. Sci. 52, S. 2078-2083.
- BAHLMANN A., BRACK W., SCHNEIDER R. J., KRAUSS M. (2014): „Carbamazepine and its metabolites in wastewater: Analytical pitfalls and occurrence in Germany and Portugal“, Water Res. 57, S. 104–114
- BOLLMANN A., SEITZ W., PRASSE C., LUCKE T., SCHULZ, W., TERNES T. A. (2016): „ Evaluation of amisulpride, sulpiride, lamotrigine and their ozone oxidation products as indicators for treated wastewater“, *J. Hazard. Mater.* 320, S. 204-215
- BOXALL A. B .A., SINCLAIR C., FENNER K., KOLPIN D., MAUND S. J. (2004): „When synthetic chemicals degrade in the environment“, Environ. Sci. Technol. 38(19), S. 368A-375A
- BREZINA E., PRASSE C., WAGNER M., TERNES T. A. (2015): „Why small differences matter: Elucidation of the mechanism underlying the transformation of 20HCZB and 30HCZB in contact with sand filter material“, Environ. Sci. Technol. 49 (17), S. 10449–10456
- BREZINA E., DURMAZ V., PRASSE C., SOLLEDER M., TERNES T. A. (????): „Carbamazepine, oxcarbazepine, their human metabolites and transformation products in environment – a toxicological assessment“, in Vorbereitung

- DAVIES J., SPIEGELMAN G. B., YIM G. (2006): „The world of subinhibitory antibiotic concentrations“, *Curr. Opin. Microbiol.* 9 (5), S. 445–453
- DWA-Themen (2008): „Anthropogene Spurenstoffe im Wasserkreislauf – Arzneistoffe“, Hennef, Ausgabe 5/2008
- DWA-Themen (2014): „Bedeutung von Transformationsprodukten für den Wasserkreislauf“, Hennef, Ausgabe 8/2014
- DWA-Themen (2015): „Möglichkeiten der Elimination von anthropogenen Spurenstoffen“, Hennef, Ausgabe 4/2015
- DURMAZ V, WEBER M, BECKER R. (2012): „How to simulate affinities for host-guest systems lacking binding mode information: application in the liquid chromatographic separation of hexabromocyclododecane stereoisomers“, *J Mol Mod* 18, S. 2399-2408
- DURMAZ V, SCHMIDT S, SABRI P, PIECHOTTA C, WEBER M. (2013): „A hands-off linear interaction energy approach to binding mode and affinity estimation of estrogens“ *J Chem Inf Model* 53, S. 2681-2688
- DURMAZ V., WEBER M., MEYER J., MÜCKTER H. (2015): „Computergestützte Simulation zur Abschätzung gesundheitlicher Risiken durch anthropogene Spurenstoffe in der Wassermatrix“, *Korrespondenz Abwasser (KA)*, Ausgabe 3/2015, Hennef, S. 264 ff
- EBERT D (2005): „Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in Daphnia“, [Internet], Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>
- ESCHER B. I., BRAMAZ, N., ORT, C. (2009): „JEM Spotlight: Monitoring the treatment efficiency of a full scale ozonation on a sewage treatment plant with a mode-of-action based test battery“, *Journal of Environmental Monitoring* 11(10), S. 1836-1846
- FEITOSA-FELIZZOLA J. CHIRON S. (2009): „Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France)“, *J. Hydrol.*, S.364, 50–57
- FORD D. C., WILLIAMS P. (2007): „Karst Hydrogeology and Geomorphology“ John Wiley & Sons., S. 562ff.
- FUNKE J., PRASSE C., LUETKE EVERSLOH C., TERNES T. A. (2015): „Oxypurinol – A novel marker for wastewater contamination of the aquatic environment“, *Water Res.* 74, S. 257-265
- FUNKE J., PRASSE C., TERNES T. A. (????): „Identification of transformation products of antiviral drugs formed during biological wastewater treatment and their occurrence in the urban water cycle“, *Water Research*, in press
- FUNKE J., PRASSE C., TERNES T. A. (????): „Biotransformation of antiviral drugs in activated sludge treatment“, eingereicht bei *Water Research*
- FUNKE J., PRASSE C., TERNES T. A. (????): „Transformation of the antiviral drug zidovudine during ozonation“, in preparation
- GÖTZ K., BIRZLE-HARDER B., SUNDERER G. (2014): „Ergebnisse einer Repräsentativbefragung zu Medikamentenrückständen im Wasserkreislauf und zur Medikamentenentsorgung“, *Korrespondenz Abwasser (KA)*, Ausgabe 12/2014, Hennef, S. 1102 ff
- GRANGER P., BITON B., FAURE C., VIGE X., DEPOORTERE H., GRAHAM D. (1995): „Modulation of the gamma-aminobutyric acid type A receptor by the antiepileptic drugs carbamazepine and phenytoin“, *Mol Pharmacol.* 47 (6), S. 1189-1196
- HALGREN T. A. (1996): „Merck Molecular Force Field“, I-V, *J Comp Chem*, 17, S. 490-641
- HAMMES F., SALHI E., KOSTER O., KAISER H. P., EGLI T., VON GUNTEN U. (2006): „Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water“, *Water Research*, vol. 40, S. 2275-2286, Juli 2006
- HESS B., KUTZNER C., VAN DER SPOEL D., LINDAHL E. (2008): „GROMACS 4: Algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation“, *J Chem Theory Comput* 4/2008, S. 435-447
- HORNAK V., ABEL R., OKUR A., STROCKBINE B., ROITBERG A., SIMMERLING C. (2006): „Comparison of multiple amber force fields and development of improved protein backbone parameters“, *Proteins Struct Funct Bioinf* 65, S. 712-725.
- HORN H.W., SWOPE W.C., PITERA J.W. (2004): „Development of an improved four-site water model for biomolecular simulations: TIP4P-Ew“, *J Chem Phys* 120, S. 9665-9678
- HÜBNER U., SEIWERT B., REEMTSMA T., JEKEL M. (2014): „Ozonation products of carbamazepine and their removal from secondary effluents by soil aquifer treatment – Indications from column experiments“, *Water Research*, vol. 49, S. 34-43, 1.2.2014

- ISO (2007): „Water quality – Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test“, ISO 20079:2005
- JAKALIAN A, BUSH BL, JACK DB, BAYLY CI. Fast, efficient generation of high-quality atomic charges. AM1-BCC model: I. Method. *J Comput Chem* 2000; 21: 132-146.
- JAKALIAN A., JACK D.B., BAYLY C.I. (2002): „Fast, efficient generation of high-quality atomic charges, AM1-BCC model: II. Parameterization and validation“, *J Comput Chem* 23, S. 1623-1641
- JEKEL M., DOTT W. (2013): „Leitfaden: Polare organische Spurenstoffe als Indikatoren im anthropogenbeeinflussten Wasserkreislauf – Ergebnisse des Querschnittsthemas Indikatorsubstanzen“, DECHEMA, Frankfurt/Main
- KAISER E., PRASSE C., WAGNER M., BROEDER K., TERNES T. A. (2014): „Transformation of Oxcarbazepine and Human Metabolites of Carbamazepine and Oxcarbazepine in Wastewater Treatment and Sand Filters“, *Environ. Sci. Technol.* 48(17), S. 10208-10216
- KNOPP G., PRASSE C., TERNES T. A., CORNEL P. (2016): „Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters“, *Water Research* 100, S.580-592
- LÖWE H. (2015): „BMBF-Fördermaßnahme RiSKWa – Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf“, Ausgabe 2/2015, DECHEMA, Frankfurt/Main
- LOTKA A. J. (1913): „A natural population norm“, *J. Wash. Acad. Sci.* 3, S. 241-248
- LUFT A., WAGNER M., TERNES T. A. (2014): „Transformation of Biocides Irgarol and Terbutryn in the Biological Wastewater Treatment“, *Environ. Sci. Technol.* 48(1), S. 244–254.
- MAGDEBURG A., STALTER D., OEHLMANN J. (2012): „Whole effluent toxicity assessment at a wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation using aquatic key species“, *Chemosphere* 88, S. 1008–1014.
- MAGDEBURG A.; STALTER D.; SCHLUESENER M (2014): „Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story“, *WATER RESEARCH*, Volume 50, S. 35-47, 1.3.2014
- MARGOT J., ROSSI L., BARRY D. A (2015): „A review of the fate of micropollutants in wastewater treatment plants“, *WILEY INTERDISCIPLINARY REVIEWS-WATER*, Volume: 2, Issue 5, S. 457-487
- MCDOWELL D. C., HUBER M. M., WAGNER M., VON GUNTEN U., TERNES T. A. (2005): „Ozonation of carbamazepine in drinking water: Identification and kinetic study of major oxidation products“, *Environ. Sci. Technol.* 39, S. 8014–8022 (2005)
- METCALFE C. D., MIAO X.-S., KOENIG B. G., STRUGER J. (2003): „Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada“, *Environ. Toxicol. Chem.* 22, S. 2881–2889
- MEYER J. S., INGERSOLL C. G., McDONALD L. L., BOYCE M. S. (1986): „Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. bootstrap techniques“, *Ecology* 67 (5), S. 1156–1166
- MIAO X. S., YANG J. J., METCALFE C. D. (2005): „Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant“, *Environ. Sci. Technol.* 39, S. 7469–7475
- O'BOYLE N.M., BANCK M., JAMES C.A., MORLEY C., VANDERMEERSCH T., HUTCHISON G.R. (2011): „Open Babel: An open chemical toolbox“, *J Cheminform*, 3, S. 33 ff.
- OECD, Test Nr. 203 (1992): „Fish, Acute Toxicity Test“, Organisation for Economic Co-operation and Development, at <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264069961-en>
- OECD, Test Nr. 211 (2012): „Daphnia magna Reproduction Test“, Organisation for Economic Co-operation and Development, at <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264185203-en>
- OECD, Test Nr. 221 (2006): „Lemna sp. Growth Inhibition Test“, Organisation for Economic Co-operation and Development
- OECD, Test Nr. 225 (2007): „Sediment-Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment“, Organisation for Economic Co-operation and Development
- OEHLMANN J., SCHULTE-OEHLMANN U., PRASSE C., TERNES T. A. (2014): „In Response: What are the challenges and prospects? An academic perspective“, *Environ. Toxicol. Chem.* 33(11), S. 2408-2410
- PETERS R. H., DE BERNARDI R. (1987): „Daphnia“, (Eds) *Memoire dell' Instituto Italiano di Idrobiologia* 45, Verbania Pallanza, Italien.

- PRASSE C., WAGNER M., SCHULZ R., TERNES T. A. (2011): „Biotransformation of the Antiviral Drugs Acyclovir and Penciclovir in Activated Sludge Treatment“, *Environmental Science & Technology*, vol. 45, S. 2761-2769, 1.4.2011
- PRASSE C., WAGNER M., SCHULZ R., TERNES T. A. (2012): „Oxidation of the Antiviral Drug Acyclovir and Its Biodegradation Product Carboxy-acyclovir with Ozone: Kinetics and Identification of Oxidation Products“, *Environmental Science & Technology*, vol. 46, S. 2169-2178, 21.2.2012
- PRASSE C., STALTER D., SCHULTE-OEHLMANN U., OEHLMANN J., TERNES T. A. (2015): „Spoilt for choice: A critical review on the chemical and biological assessment of current wastewater treatment technologies“, *Water Res.* 87, S. 237-270
- PRASSE C., WENK J., JASPER J. T., TERNES T. A., SEDLAK D. L. (????): „Co-occurrence of Photochemical and Microbiological Transformation Processes in Open-Water Unit Process Wetlands“ *Environ. Sci. Technol.*, im Druck
- PRESS W. H., TEUKOLSKY S. A., VETTERLING W. T., FLANNERY B. P. (1992): „Numerical recipes in C: the art of scientific computing“, New York, Cambridge University Press
- RAGSDALE D. S., SCHEUER T., CATTERALL W. A. (1991): „Frequency and voltage-dependent inhibition of type IIA Na⁺ channels, expressed in a mammalian cell line, by local anesthetic, antiarrhythmic, and anticonvulsant drugs“, *Mol Pharmacol.* 1991; 40 (5), S. 756-765.
- RICHARDSON S. D., THRUSTON A. D., CAUGHRAN T. V., CHEN P. H., COLLETTE T. W., FLOYD T. L. (1999): „Identification of new ozone disinfection byproducts in drinking water“, *Environmental Science & Technology*, Vol. 33, S. 3368-3377, 1.10.1999
- RICHARDSON S. D., TERNES T. A. (2014): „Water analysis: emerging contaminants and current issues“, *Anal. Chem.*, 86 (6), S. 2813-2848
- RICHARDSON S. D., KIMURA S. Y. (2016): „Water analysis: emerging contaminants and current issues“, *Anal. Chem.* 88, S. 546-582, DOI: 10.1021/acs.analchem.5b04493
- Richtlinie 2006/7/EG (2006): „Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15.2.2006 über die Qualität der Badegewässer und deren Bewirtschaftung und zur Aufhebung der richtlinie 76/760/EWG“
- RiSKWa-Statuspapier (2015): „Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen“, DECHEMA, Frankfurt, Oktober 2015
- RIZZO L., MANAIA C., MERLIN C. (2013): „Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment“, *A review SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT*, Volume 447, S. 345-360, 1.3.2013
- SCHLÜSENER M.P., KUNKEL U., TERNES, T. A. Quaternary triphenylphosphonium compounds: a new class of environmental pollutants, (2015) *Environ. Sci. Technol.*
- SCHLÜTER-VORBERG L., PRASSE C., TERNES T. A., MÜCKTER H., COORS A. (2015): „Toxicification by transformation in conventional and advanced wastewater treatment: the antiviral drug acyclovir“, *Environmental Science & Technology Letters* 2 (12), S. 342–346.
- SCHUBAUER-BERIGAN M. K., MONSON P. D., WEST C. W., ANKLEY G. T. (1995): „Influence of pH on the toxicity of ammonia to *Chironomus tentans* and *Lumbriculus variegatus*“. *Environ. Toxicol. Chem.* 14, S. 713-717
- SCHWABE U., PAFFRATH D. (2013): „Arzneiverordnungsreport 2012“, Springer-Verlag
- SCHWARTZ T., ALEXANDER J. (2014): „Antibiotikaresistenzen in Abwasser – Nachweis und Vermeidung der Verbreitung“, *Korrespondenz Abwasser (KA)*, Ausgabe 3/2014, Hennef, S. 183 ff
- VON SONNTAG C., VON GUNTEN U. (2012): „Chemistry of ozone in water and wastewater treatment from basic principles to applications“, IWA Publishing, London
- SOUFAN M., DEBORDE M., LEGUBE B. (2012): „Aqueous chlorination of diclofenac: Kinetic study and transformation products identification“, *Water Res.* 46, S. 3377-3386
- STALTER D., MAGDEBURG A., OEHLMANN J. (2010): „Comparative toxicity assessment of ozone and activated carbon treated sewage effluents using an In vivo test battery“, *Water Research* 44, S. 2610-2620
- SUNDERER G., GÖTZ K., STORCH K. (2013): „Was Medien über anthropogene Spurenstoffe im Wasserkreislauf schreiben“, *Korrespondenz Abwasser (KA)*, Ausgabe 10/2013, Hennef, S. 826 ff.
- TERNES T., THALER S. (2012): „Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf“, *Korrespondenz Abwasser (KA)*, Ausgabe 4/2012, Hennef, S. 296 ff.

- THALER S. (2014): „Neues über anthropogene Spurenstoffe und Keime in Abwässern und Gewässern – Erste Ergebnisse eines BMBF-geförderten Projekts“, Korrespondenz Abwasser (KA), Ausgabe 12/2014, Hennef, S. 1080 ff.
- WANG J., WOLF R. M., CALDWELL J. W., KOLLMAN P. A., CASE D. A. (2004): „Development and testing of a general AMBER force field“, J Comput Chem 25, S. 1157-1174
- WANG J., WANG W., KOLLMAN P. A., CASE D. A. (2006): „Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations“, J Mol Graphics Modell 25, S. 247-260
- WHITEMAN F. W., ANKLEY G. T., DAHL M. D., RAU D. M., BALCER M. D. (1996): „Evaluation of interstitial water as a route of exposure to ammonia in sediment tests with macroinvertebrates“, Environ. Toxicol. Chem. 15, S. 794-801
- WORCH E. (2012): „ Adsorption technology in water treatment fundamentals, processes, and modelling“, De Gruyter, Berlin.
- ZIMMERMANN S. G., SCHMUKAT A., SCHULZ M., BENNER J., VON GUNTEN U. TERNES T. A. (2011): „Kinetic and mechanistic investigations of the oxidation of tramadol by ferrate and ozone“, Abstracts of Papers of the American Chemical Society, vol. 242, 28.8.2011
- ZIMMERMANN S. G., WITTENWILER M., HOLLENDER J., KRAUSS M., ORT C., SIEGRIST H. (2011): „Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection“, Water Research, vol. 45, S. 605-617, Januar 2011

Bezugsquellen

DWA-Publikationen:
Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft,
Abwasser und Abfall e. V., Hennef
<www.dwa.de>

Das im Rahmen des BMBF-Förderschwerpunktes „Nachhaltiges Wassermanagement – NaWaM“ geförderte Forschungsprojekt „Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken durch neue Schadstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf – TransRisk“, das im April 2015 nach einer Laufzeit von 3,5 Jahren zum Abschluss kam, lieferte die wesentliche Grundlage für diesen DWA-Themenband.

Die Qualität unserer Wasserressourcen ist in zunehmendem Maße durch die große Anzahl an Chemikalien aus Haushalt, Industrie und Landwirtschaft gefährdet. Der Nachweis von Pharmazeutika, Körperpflegemitteln und Pestiziden in gereinigtem Abwasser zeigt deutlich, dass heutige Kläranlagentechnologien unzureichend sind, um diese Stoffe aus dem Abwasser zu entfernen. Ein wesentliches Ziel von TransRisk bestand darin, analytische Methoden zur Bestimmung ausgewählter chemischer, ökotoxikologischer und mikrobiologischer Parameter zu entwickeln, die eine nachhaltige multidisziplinäre Bewertung der weitergehenden Abwasserreinigungstechniken und der aufnehmenden Gewässer erlauben. Als Modellregion dienten Donauried und das Hessische Ried. Zur Entfernung von anthropogenen Spurenstoffen und Krankheitserregern wurden verschiedene Verfahren und Verfahrenskombinationen kommunaler Kläranlagen erprobt. Neben dem konventionellen Belebungsverfahren mit nachgeschalteter Ozonung und anschließender Filtrationsstufe (Aktivkohle- und Biofilter) richtete sich das Augenmerk auch auf Membranbioreaktoren (MBR) in Kombination mit einer Ozonung. Schließlich mündeten die Untersuchungen in der Entwicklung eines multidisziplinären Bewertungskonzeptes für die weitergehende Abwasserreinigung.

Das Bewertungskonzept kann zur Planung und zum Ausbau kommunaler Kläranlagen verwendet werden. Der Fokus lag hierbei vor allem auf der Aufklärung der Transformation von ausgewählten Arzneimitteln in der biologischen Abwasserbehandlung und der erweiterten Abwasserreinigung mittels Ozonung. Anstelle eines vollständigen Abbaus ist häufig nur eine Umwandlung in eine Reihe von relativ stabilen Transformationsprodukten zu beobachten.

Der Nachweis von anthropogenen Spurenstoffen, ihren Transformationsprodukten, ökotoxikologischen Wirkungen sowie von Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzen erlaubt eine umfassende multidisziplinäre Charakterisierung der Wasserqualität. Die in TransRisk optimierte Verfahrenskombination „Ozonung – Filtration mit granulierter Aktivkohle“ führte zu einer weitergehenden Eliminierung der untersuchten Spurenstoffe und ihrer Transformationsprodukte.