Abschlussbericht der Phasen 1a+1b

des Forschungsvorhabens:

„Demonstrationsvorhaben Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers“

DEMO3 AC

gerichtet an das

Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen

Düren 18.06.2018

Dr.-Ing. Joachim Reichert

Antragsteller

Wasserverband Eifel-Rur
Dr.-Ing. Joachim Reichert
Eisenbahnstr. 5
52353 Düren
www.wver.de

Projektpartner

RWTH Aachen University
52056 Aachen
www.rwth-aachen.de

Institut für Siedlungswasserwirtschaft (ISA)
Prof. Dr.-Ing. Johannes Pinnekamp
www.isa.rwth-aachen.de

Institut für Umweltforschung (IfU)
Lehr- und Forschungsgebiet Ökosystemanalyse (ESA)
Prof. Dr. Henner Hollert
www.bio5.rwth-aachen.de

Institut für Angewandte Mikrobiologie (iAMB)
Prof. Dr. Miriam Agler-Rosenbaum
www.iamb.rwth-aachen.de

Forschungsinstitut für Ökosystemanalyse und -bewertung e. V. (gaiac) an der RWTH Aachen University
Dr. Monika Hammers-Wirtz
Kackertstr. 10
52072 Aachen
www.gaiac.rwth-aachen.de

Erstellt durch:
Brückner, Ira (WVER, Projektleitung)
Klaer, Kassandra (ISA)
Schiwy, Sabrina (IfU)
Kirchner, Kristina (iAMB)
Hammers-Wirtz, Monika (gaiac)
Müller, Yvonne (IfU)
Shuliakevich, Aliaksandra (IfU)
Claßen, Silke (gaiac)
Stepkes, Hermann (WVER)
Grunau, Thalia (WVER)
Dolny, Regina (ISA)
Gebhardt, Wilhelm (ISA)
Gschwendtner, Reiner (ISA)
David, Montag (IS)
Könemann, Sarah (IfU)
Wendt, Laura (iAMB)
Hollert, Henner (IfU)
Agler-Rosenbaum, Miriam (HKI)
Reichert, Joachim (WVER)
Pinnekamp, Johannes (ISA)

Zitation: Brückner, I.; Klaer, K.; Schiwy, S.; Kirchner, K.; Hammers-Wirtz, M.; Müller, Y.; Shuliakevich, A.; Claßen, S.; Stepkes, H.; Grunau, T.; Dolny, R.; Gebhardt, W.; Gschwendtner, R.; Montag, D.; Könemann, S.; Wendt, L.; Hollert, H.; Agler-Rosenbaum, M.; Reichert, J.; Pinnekamp, J.; (2018): Abschlussbericht der Phase 1 des Forschungsvorhabens Demonstrationsvorhaben Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers (DemO_3AC). Gerichtet an das MULNV NRW. Düren, 2018.

Beiträge der Autoren

Autor	Institution	Beitrag
Brückner, Ira	WVER	Projektleitung und -koordination DemO_3AC. Auswertung aller Daten zu Abwasserparametern. Autorin der Kapitel: 1, 2.1.2, 2.2, 3, 4.1, 4.2,.4.3, 5.1.1, 5.1.2, 5.2.1, 5.2.3, 5.3.1, 6 Federführung und Qualitätssicherung des Berichts.
Klaer, Kassandra	ISA	Durchführung der Untersuchungen zur Ozonung und Auswertung aller Daten zu Spurenstoffen. Autorin der Kapitel: 2.1.1, 2.2.1, 2.3, 4.4, 4.5, 4.6, 5.1.3, 5.1.4, 5.3.2, 5.3.4, Qualitätssicherung Bericht.
Schiwy, Sabrina	IfU	Co-Projektleitung IfU. Autorin der Kapitel: 2.2.2, 2.3.5, 4.7, 4.7.1, 4.7.2, 5.1.5, 5.1.6, 5.2.2, 5.2.3, 5.4.6 Qualitätssicherung des Berichts.
Kirchner, Kristina	iAMB	Planung, Durchführung, Auswertung sowie Diskussion aller Experimente zur Keimzahlbestimmung und Antibiotikauntersuchung. Autorin der Kapitel: 2.1.2, 2.2.2, 2.3.3, 4.8, 5.1.7, 5.3.4, 5.5.5
Hammers-Wirtz, Monika	gaiac	Durchführung der statistischen Datenauswertung und Projektleitung gaiac inklusive Qualitätssicherung Bericht gaiac. Autorin der Kapitel: 4.10, 2.1.2, 5.1.1, 5.1.2, 5.1.3, 5.1.4, 5.1.7, 5.3.1, 5.3.2, 5.3.4, 5.4.5
Müller, Yvonne	IfU	Planung, Durchführung, Auswertung sowie Diskussion der akuten und mechanismusspezifischen Biotests der Kläranlagen und Gewässerproben, sowie die der *in situ*-Methoden. Qualitätssicherung des Berichts.
Shuliakevich, Aliaksandra	IfU	Planung, Durchführung, Auswertung sowie Diskussion der akuten und mechanismusspezifischen Biotests der Sediment- und RÜB-Proben. Qualitätssicherung des Berichts.
Claßen, Silke	gaiac	Durchführung der Freilanduntersuchungen zur Fließgewässerbewertung und der multivariaten statistischen Analysen. Autorin der Kapitel: 2.2.2, 4.9, 5.3.5
Stepkes, Hermann	WVER	Qualitätssicherung Bericht.
Grunau, Thalia	WVER	Autorin der Kapitel: 4.1, 5.2.3
Dolny, Regina	ISA	Analytik Ökotoxizitätstests ISA. Autorin der Kapitel: 4.7.1, 5.1.5, 5.3.3, 5.4.6
Gebhardt, Wilhelm	ISA	Analytik Spurenstoffe (LC). Autor des Kap. 4.4.
Gschwendtner, Reiner	ISA	Analytik Spurenstoffe (GC). Autor des Kap. 4.4.
Montag, David	ISA	Qualitätssicherung Bericht ISA.

Könemann, Sarah	IfU	Planung, Durchführung, Auswertung sowie Diskussion des Gammariden-Fraßtests sowie die Messung der internen Schadstoffkonzentrationen in den Geweben der Gammariden.
Wendt, Laura	iAMB	Durchführung von Experimenten zur Keimzahlbestimmung und Antibiotikauntersuchung.
Hollert, Henner	IfU	Projektleitung IfU, Qualitätssicherung des Berichts IfU.
A.-Rosenbaum, Miriam	HKI	Qualitätssicherung Bericht iAMB.
Reichert, Joachim	WVER	Qualitätssicherung Bericht.
Prof. Pinnekamp, Johannes	ISA	Projektleitung ISA, Qualitätssicherung Bericht ISA

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis VI

Tabellenverzeichnis XV

1 Einleitung ..... - 1 -

2 Stand des Wissens und der Technik ..... - 2 -

2.1 Belastungssituation von Kläranlagen - 2 -

2.1.1 Spurenstoffe - 2 -

2.1.2 Biologische Qualitätskomponenten - 6 -

2.2 Gewässerbelastung infolge Kläranlageneinleitung - 9 -

2.2.1 Spurenstoffe - 10 -

2.2.2 Biologische Qualitätskomponenten - 14 -

2.3 Ozonung als weitergehende Reinigungsstufe - 18 -

2.3.1 Grundlagen - 18 -

2.3.2 Spurenstoffelimination - 21 -

2.3.3 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen - 26 -

2.3.4 Transformationsprodukte - 30 -

2.3.5 Ökotoxizität - 33 -

3 Experimentelles Design ..... - 36 -

4 Material und Methoden ..... - 39 -

4.1 Untersuchungsgebiet - 39 -

4.2 Untersuchungsprogramme in den Projektphasen 1a und 1b - 44 -

4.3 Abwasserparameter - 46 -

4.4 Spurenstoffe - 47 -

4.5 Pilotanlage zur Ozonung von Abwasser - 50 -

4.5.1 Untersuchungsprogramm Pilotanlage - 53 -

4.5.2 Dynamische Versuchseinstellung (Volumenproportionale Steuerung) - 55 -

4.5.3 Untersuchungsprogramm Bromat - 57 -

4.6 Laborversuche - 58 -

4.6.1 Zehrungsversuche - 58 -

4.6.2 Bromatbildung und -reduktion - 59 -

4.7 Ökotoxizität - 60 -

4.7.1 *In vivo* und *in situ*-Untersuchungen - 60 -

4.7.2 Zelltoxikologische Untersuchungen - 64 -

4.8 Mikrobiologische Analysen - 66 -

4.9 Lebensgemeinschaften in der Wurm - 67 -

4.9.1 Makrozoobenthos - 67 -

4.9.2 Makrophyten und Phytobenthos - 69 -
4.9.3 Habitatindex - 69 -
4.10 Statistische Datenauswertung - 70 -
5 Feststellung des Status Quo als Ergebnis der Phase 1 ..... - 72 -
5.1 Untersuchung der Kläranlagen - 72 -
5.1.1 Abwasserparameter – Kläranlage Aachen-Soers - 72 -
5.1.2 Abwasserparameter – Kläranlage Eilendorf - 74 -
5.1.3 Spurenstoffe – Kläranlage Aachen-Soers - 76 -
5.1.4 Spurenstoffe – Kläranlage Eilendorf - 89 -
5.1.5 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität – Kläranlage Aachen-Soers - 92 -
5.1.6 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität – Kläranlage Eilendorf - 104 -
5.1.7 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen – Kläranlage Aachen-Soers - 109 -
5.1.8 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen – Kläranlage Eilendorf - 118 -
5.2 Untersuchung des Regenüberlaufbeckens - 118 -
5.2.1 Abwasserparameter - 118 -
5.2.2 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität - 119 -
5.2.3 Nachweis nach BWK M7/M3 - 125 -
5.3 Untersuchung des Einflusses der Kläranlagen auf die Vorfluter - 128 -
5.3.1 Abwasserparameter - 128 -
5.3.2 Spurenstoffelimination - 132 -
5.3.3 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität - 146 -
5.3.4 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen - 181 -
5.3.5 Lebensgemeinschaften im Gewässer - 199 -
5.4 Ozonung im Pilotmaßstab - 206 -
5.4.1 Grundlagen und Vorversuche - 206 -
5.4.2 Spurenstoffelimination - 211 -
5.4.3 Steuer- und Regelkonzepte - 222 -
5.4.4 Transformationsproduktbildung - 226 -
5.4.5 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen infolge Ozonung - 232 -
5.4.6 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität - 240 -
6 Zusammenfassung ..... - 248 -
7 Referenzen ..... - 251 -
8 Anlage ..... - 278 -
8.1 Anlage 2 - 282 -
8.2 Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten - 283 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Eintragsdynamik von Spurenstoffen aus Punkt- oder diffusen Quellen (Wittmer et al. 2011) - 11 -

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Projektaufbaus als relativer Bezug der Zustandsänderung (Implementierung einer großtechnischen Ozonungsanlage) zur Ausgangslage (Ist-Zustand der Kläranlage und des Vorfluters) mit den jeweils eingesetzten Bewertungswerkzeugen .....- 37 -

Abbildung 3: Untersuchungsgebiet DemO_3AC mit Abwasseranlagen und Gewässerprobenahmestellen (Esri 2016) .....- 41 -

Abbildung 4: Landnutzung im Einzugsgebiet der Wurm (Esri 2016).....- 42 -

Abbildung 5: Prozentuale Flächenanteile der Landnutzung im Einzugsgebiet der Wurm (Esri 2016).....- 43 -

Abbildung 6: Pilotanlage zur Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers. .....- 52 -

Abbildung 7: Schematisches Verfahrensfließbild der Pilotanlage zur Ozonung des Abwassers der Kläranlage Aachen-Soers.....- 53 -

Abbildung 8: Verfahrensfließbild der Kläranlage Aachen-Soers inkl. zukünftiger Ozonung.....- 72 -

Abbildung 9: Verfahrensfließbild der Kläranlage Eilendorf.....- 74 -

Abbildung 10: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf der Kläranlage Aachen-Soers in Abhängigkeit der Wetterbedingungen (Regenwetter (RW), Trockenwetter (TW). (n = 18) .....- 77 -

Abbildung 11: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Trockenwettertag (28.02.2016) im Zulauf der Kläranlage .....- 78 -

Abbildung 12: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Regenwettertag (26.04.2016) im Zulauf der Kläranlage .....- 79 -

Abbildung 13: Spurenstoffkonzentrationen im Ablauf der Nachklärung Aachen-Soers in Abhängigkeit der Wetterbedingungen (TW,RW). (n = 18, Ausnahme: BPA (n = 16), Galaxolid und Tonalid (n = 14)).....- 82 -

Abbildung 14: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Trockenwettertag (28.02.2016) im Ablauf der Nachklärung.....- 83 -

Abbildung 15: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Regenwettertag (26.04.2016) im Ablauf der Nachklärung.....- 84 -

Abbildung 16: Spurenstoffelimination auf der Kläranlage Aachen-Soers (Zulauf Kläranlage–Ablauf Nachklärung; gestreifte Balken: mindestens eine Probe ANK unter BG (n_{TW} = 9, n_{RW} = 9).....- 86 -

Abbildung 17: Wochengang der Diclofenac- und der Benzotriazol-Konzentration im Zulauf der Belebung Aachen-Soers und im Ablauf der Nachklärung für den Zeitraum 20.–27.11.2015 .....- 87 -

Abbildung 18: PCA der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Zulauf Kläranlage = rot; Ablauf Filter = orange) auf Basis der Analytikdaten zu den Pharmaka (schwarze Pfeile), Bisphenol A (grüner Pfeil) und den Standardparametern (blaue Pfeile) aus Phase 1A (9 Termine). Zusätzlich ist als erklärende Variable die Zuflussmenge als roter Pfeil eingezeichnet. Eigenwert Achse 1: 0,732, Achse 2: 0,069. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 80 %.....- 88 -

Abbildung 19: Spurenstoffkonzentration und -elimination auf der Kläranlage Eilendorf vom Zulauf bis zum Ablauf der Kläranlage (n=4).....- 89 -

Abbildung 20: Wochengang der Diclofenac- und der Benzotriazol-Konzentration im Zulauf der Biologie der Kläranlage Eilendorf und im Ablauf der Nachklärung für den Zeitraum 20.–25.08.2017 ..... - 90 -
Abbildung 21: PCA der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen Eilendorf (Zulauf Kläranlage, rot; Ablauf KA, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile), den Pflanzenschutzmitteln (pinke Pfeile) und weiteren Spurenstoffen (grüne Pfeile) aus Phase 1B (n = 4). Eigenwert Achse 1: 0,577, Achse 2: 0,147. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 72,5 %. ..... - 92 -
Abbildung 22: Effekte auf Fischembryonen (24 hpf) nach Belastung mit Proben des Kläranlagenzulaufs. - 94 -
Abbildung 23: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Zulaufproben der Screenings 1 bis 4 der Phase 1a. ..... - 99 -
Abbildung 24: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Proben Ablauf Nachklärung sowie Ablauf Filter der Screenings 1 bis 4 der Phase 1a..... - 100 -
Abbildung 25: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Probe des Ablauf Filters der Phase 1b. ..... - 101 -
Abbildung 26: EEQ-Werte in ng E2/l mit Standardabweichung gemessen im ERα CALUX® Assay mit nativen Proben der Kläranlage Eilendorf der der Phase 1b. ..... - 106 -
Abbildung 27: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Proben der Zuläufe und Abläufe der Kläranlage Eilendorf der Phase 1b. ..... - 107 -
Abbildung 28: Keimzahlbestimmung *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) der Kläranlage Aachen-Soers (s. außerdem: Tabelle 20). ..... - 110 -
Abbildung 29: Keimzahlbestimmung Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) der Kläranlage Aachen-Soers (s. außerdem: Tabelle 20).. - 111 -
Abbildung 30: Reduktion von E. coli und Enterokokken vom Zulauf der Kläranlage bis zum Ablauf der Nachklärung bzw. Ablauf Filter, dargestellt als log-Reduktion ..... - 111 -
Abbildung 31: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ..... - 113 -
Abbildung 32: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).... - 113 -
Abbildung 33: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Sulfamethoxazol/Trimethoprim (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ..... - 114 -

Abbildung 34: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 115 -
Abbildung 35: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 115 -
Abbildung 36: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 116 -
Abbildung 37: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Vancomycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 116 -
Abbildung 38: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 117 -
Abbildung 39: Vergleich der Ablaufkonzentrationen für ausgewählte Abwasserparameter der Kläranlage Aachen-Soers (n = 4) und des RÜB Soers (n = 16) ....- 119 -
Abbildung 40: Probenahmestelle W3 nach Abschlag des RÜB Soers ....- 120 -
Abbildung 41: Schlauchherz und Ödeme des Perikards bei 96 h alten Zebrabärblingsembryonen nach Exposition der nativen Probe aus der Wurm nach RÜB-Abschlag. Roter Pfeil: Herz. ....- 121 -
Abbildung 42: EEQ-Werte in ng E2/l mit Standardabweichung gemessen im ERα CALUX® Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse der nativen und aufkonzentrierten Proben der W3 nach RÜB-Abschlag des RÜBs. ..- 122 -
Abbildung 43: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse der aufkonzentrierten Proben der Probenahmestellen W3 nach RÜB-Abschlag und im RÜB selbst....- 123 -
Abbildung 44: Hydrologischer Längsschnitt der Wurm (Obere Wurm) als Vergleich der Szenarien des natürlichen Zustands, des Ist-Zustands und des prognostizierten Zustands (WVER 2014b) ....- 127 -
Abbildung 45: Hydrologischer Längsschnitt der Wurm (Obere Wurm) unter Berücksichtigung der modellierten Maßnahme: Bau eines Retentionsbodenfilters (WVER 2014b)....- 128 -
Abbildung 46: Spurenstoffkonzentrationen in der Wurm (W5) nach Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers und Zuordnung der Herkunft der Spurenstoffbelastung (n = 9; Datensatz Screening 2015–2016)..- 134 -
Abbildung 47: Spurenstoffkonzentrationen im Haarbach (H2) nach Einleitung der Kläranlage Eilendorf und Zuordnung der Herkunft der Spurenstoffbelastung (n = 4; Datensatz Screening 2017)....- 135 -
Abbildung 48: Einfluss der Kläranlagen auf die Spurenstoffbelastung in der Wurm an der Probenahmestelle W5 (n = 4; Datensatz Screening 2017). ....- 136 -

Abbildung 49: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile), den Pflanzenschutzmitteln (pinke Pfeile) und weiteren Spurenstoffen (grüne Pfeile) (5 < n < 6, ausgewählte Screenings mit max. Parameterzahl aus Phase 1a). Eigenwert Achse 1: 0,374, Achse 2: 0,194. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 56,9 %. - 142 -

Abbildung 50: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile) und Bisphenol A (grüner Pfeil) (n = 9 Termine aus Phase 1a). Eigenwert Achse 1: 0,391, Achse 2: 0,174. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 56,4 %. - 143 -

Abbildung 51: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu Standardparametern (blaue Pfeile) und ausgewählten Pharmaka (schwarze Pfeile) (n = 13 Termine aus Phase 1a und 1b. Eigenwert Achse 1: 0,401, Achse 2: 0,184. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 58,6 %. - 144 -

Abbildung 52: PCA der Probestellen im Haarbach (oberhalb KA, blau; unterhalb KA, pink) und in der Wurm (oberhalb KA, grau; unterhalb KA, grün) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Eilendorf (AKA-E, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile) und allen gemessenen Pharmaka (schwarze Pfeile) (n = 4, Screenings Phase 1b). Eigenwert Achse 1: 0,576, Achse 2: 0,167. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 74,3 %. - 146 -

Abbildung 53: Algen-Wachstumshemmtest als Hemmung bzw. Förderung. Die Hemmung der Wachstumsrate ist bezogen auf Kontrollen nach 72 h Exposition. - 148 -

Abbildung 54: Fischembryo-Toxizitätstest mit *Danio rerio* Embryonen nach Belastung mit Sedimentextrakten. A: 48 Stunden alter Embryo mit Ödeme am Perikard (roter Pfeil) und Blutstau am Herzen (schwarzer Pfeil). B: Geschlüpfter Embryo nach 96 Stunden mit Blutstau (schwarzer Pfeil). - 149 -

Abbildung 55: Definierte Blattmenge (A), Käfige (B) und Aufbau im Gewässer (C) für die Fraßversuche mit Gammarus pulex. - 152 -

Abbildung 56: *Gammarus pulex* Fraßtest. Aufgetragen sind die Fraßraten in den Jahren 2015, 2016 und 2017 in mg pro mg Gammarid und den dazugehörigen Standardabweichungen. Ab Juli 2016 mit zusätzlich aufgezeichneten gemittelten Temperaturen. - 153 -

Abbildung 57: Östrogenes Potenzial der Sedimentextrakte (Wurm und Haarbach) angegeben als pg EEQ/g Sediment gemessen im ERα CALUX® Assay mit Standardabweichung. - 164 -

Abbildung 58: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind ausgewählte Proben der Wurm der Phase 1a. - 166 -

Abbildung 59: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse ausgewählter Proben der Wurm und des Haarbachs der Phase 1b (Screenings 2-2 und 2-4). ....- 167 -

Abbildung 60: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die extrahierten Sedimentproben der Wurm und des Haarbachs. ....- 169 -

Abbildung 61: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. A: Schnecke ohne Gehäuse; B: Bruttasche mit beschalten und unbeschalten Embryonen; C: Expositionskäfig mit Schwimmkörper. .....- 170 -

Abbildung 62: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Die Summe aller Embryonen sowie Anzahl der unbeschalten Embryonen pro Weibchen (mit Min, Max und Boxplots) gegen den Median an den verschiedenen Untersuchungsstandorten in der Wurm und dem Haarbach. Gleiche Buchstaben: kein signifikanter Unterschied zwischen der Stelle; Ungleiche Buchstaben: signifikanter Unterschied zwischen den Stellen....- 171 -

Abbildung 63: Expositionsversuche mit *Oncorhynchus mykiss* in der Wurm. Untersuchungen des Konditionsfaktors, des lebersomatischen Faktors sowie des gonadosomatischen Faktors mit dazugehörigen Standardabweichungen....- 174 -

Abbildung 64: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse im Ames-Fluktuation Assay mit aufkonzentrierten Proben aus der extrahierten Sedimentproben der Wurm und des Haarbachs mit Standardabweichung. Untersucht wurden die Stämme TA98 und TA100 sowie mit als auch ohne Zugabe des S9-Mixes. - 178 -

Abbildung 65: Keimzahlbestimmung *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm. H1/H2/W1 n=4; W2/W3/W5 n= 10 (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 182 -

Abbildung 66: Keimzahlbestimmung Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm. H1/H2/W1 n=4; W2/W3/W5 n= 10 (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 183 -

Abbildung 67 Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 184 -

Abbildung 68 Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 184 -

Abbildung 69: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Sulfamethoxazol/Trimethoprim (blau = RW, grün = TW) , für 1A-C wurde nur Sulfamethozol eingesetzt, danach in Kombination mit Trimethoprim (s. außerdem: Tabelle 20). ....- 185 -

Abbildung 70: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 186 -

Abbildung 71: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 186 -

Abbildung 72: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 187 -

Abbildung 73: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Vancomycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 187 -

Abbildung 74: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 188 -

Abbildung 75: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20). - 189 -

Abbildung 76: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA (W2, W3), grün; unterhalb KA (W5), cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (ZKA, rot; AF, orange) auf Basis der Antibiotikaresistenzen (AR) (schwarze Pfeile) von *E. coli* (Ec), Enterokokken (E) bzw. Staphylokokken (S) gegenüber Ampicillin (Am), Gentamycin (Ge), Clarithromycin (Cl), Sulfamethoxazol/Trimethoprim (Su) bzw. Vancomycin (Va). Quadrate: Trockenwetter-Proben; Dreiecke: Regenwetter-Proben. Eigenwert Achse 1: 0,312, Eigenwert Achse 2: 0,158. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 47 %. - 193 -

Abbildung 77: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Eilendorf (W1), grau; unterhalb KA Eilendorf (W2), grün) sowie im Haarbach (oberhalb der KA Eilendorf (H1), blau; unterhalb der KA Eilendorf (H2), pink) auf Basis der Antibiotikaresistenzen (AR) (schwarze Pfeile) von *E. coli* (Ec), Enterokokken (E) bzw. Staphylokokken (S) gegenüber Ampicillin (Am), Gentamycin (Ge), Clarithromycin (Cl), Sulfamethoxazol/Trimethoprim (Su) bzw. Vancomycin (Va). Quadrate: Trockenwetterproben; Dreiecke: Regenwetterproben. Eigenwert Achse 1: 0,365, Eigenwert Achse 2: 0,18. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 54,5 %. - 195 -

Abbildung 78: Ergebnisse des Fauna Index für den Gewässertyp 5 (A) und des %-Anteil EPT-Taxa (B) mit Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse nach Perlodes (ÖZK), des SPEARpesticide (C) mit Einstufung in die SPEAR Bewertungskategorien und des Habitatindex (D). Blau: Untersuchungen im Projekt DemO$_3$AC, alle anderen Farben: Daten Jantsch (2016) und WVER) - 202 -

Abbildung 79: Ozonzehrungsprofil des Abwassers aus der Nachklärung der Kläranlage Aachen-Soers vom 22.09.2015 (c_{DOC} = 5,9 mg/l; pH = 6,96) - 207 -

Abbildung 80: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die Ozonzehrung im Ablauf der Nachklärung der Kläranlage Aachen-Soers vom 07.08.2016 ..... - 208 -
Abbildung 81: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis ..... - 209 -
Abbildung 82: Verteilung der Zufluss-Wassermenge, der DOC-Konzentration, der Bromid-Konzentration und der Nitrit-Konzentration in Abhängigkeit der Tageszeit ..... - 211 -
Abbildung 83: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf zur Pilotanlage während der statischen Versuche (n = 19) ..... - 212 -
Abbildung 84: Elimination der Spurenstoffe Candesartan, Carbamazepin und Benzotriazol für unterschiedliche Ozondosen bei einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min ..... - 215 -
Abbildung 85: Elimination der Spurenstoffe Candesartan, Carbamazepin und Benzotriazol für unterschiedliche spezifische Ozondosierungen bei einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min- 216 -
Abbildung 86: Mittlere Spurenstoffelimination (arithmetischer Mittelwert) für unterschiedliche applizierte Ozondosen und unterschiedliche hydraulische Aufenthaltszeiten. ..... - 217 -
Abbildung 87: Elimination von Benzotriazol und Candesartan in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis für unterschiedliche hydraulische Aufenthaltszeiten ..... - 217 -
Abbildung 88: Tagesgang der Ozonanlage und des Zulaufvolumenstroms der Kläranlage Aachen-Soers während der volumenproportionalen Versuchseinstellung (beispielhaft für den 10.05.–11.05. 2016; 4 mg_{O3}/l) ..... - 219 -
Abbildung 89: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf zur Pilotanlage während der dynamischen Versuche (n = 20) ..... - 220 -
Abbildung 90: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche ..... - 221 -
Abbildung 91: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche ..... - 222 -
Abbildung 92: Links: Korrelation zwischen der DOC-Konzentration der Abwasserproben und dem SAK_{254}. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der SAK_{254}-spezifischen Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche. ..... - 224 -
Abbildung 93: Links: Korrelation zwischen der spezifischen Ozondosierung und dem daraus resultierendem ΔSAK_{254}. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit des ΔSAK_{254} während der dynamischen Ozonversuche. ..... - 225 -
Abbildung 94: Links: Korrelation zwischen der spezifischen Ozondosierung und der daraus resultierenden Ozon-Konzentration im Off-Gas. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der Ozonkonzentration im Off-Gas während der dynamischen Ozonversuche ..... - 226 -
Abbildung 95: Bromatbildung infolge der Ozonung in Abhängigkeit der Ozondosis im Vergleich für die Pilotanlage und Laborversuche. ..... - 227 -
Abbildung 96: Bromatkonzentration im Ablauf der Pilotanlage in Abhängigkeit unterschiedlicher Betriebsparameter. ..... - 229 -

Abbildung 97: Dreitägiges Monitoring der Bromatbildung an der Pilotanlage für eine Ozondosis von 6 mg_{O3}/l ..... - 230 -
Abbildung 98: Bromatausbeute während der Ozonung in Abhängigkeit unterschiedlicher Betriebsparameter ..... - 231 -
Abbildung 99: Reduktion der Bromatkonzentration in Abwasser durch die Dosierung von Eisen(II)sulfat. (5, 10, 20 mg/l: n = 6; 1, 2, 7, 15 mg/l; n = 3) Mittelwerte; Whisker geben das Minimum und Maximum an. ..... - 232 -
Abbildung 100: Keimzahlbestimmung Test 1–5 bei einer Ozondosis von 6 mg/l für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der Log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen inkl. Standardabweichung. ..... - 233 -
Abbildung 101: Keimzahlbestimmung Test 6–10 bei einer Ozondosis von 4 mg/l für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der Log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen. ..... - 234 -
Abbildung 102: Keimzahlbestimmung nach 24 h, Test 1–5 bei 6 mg/l Ozon für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen. (n. b. = nicht bestimmt) ..... - 235 -
Abbildung 103: Keimzahlbestimmung nach 24 h Test 6–10 bei 4 mg/l Ozon für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen. (n. b. = nicht bestimmt) ..... - 235 -
Abbildung 104: Antibiotikaresistenzen *E. coli*. Antibiotikaresistenzen [%] für Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ampicillin und Clarithromycin an den verschiedenen Probenahmestellen ZO3, AO3, AMNK und AMNK 24 h (Lagerungsversuch). * = Kolonien der Kontrollplatte unterhalb Grenzwert. ..... - 237 -
Abbildung 105: Antibiotikaresistenzen Enterokokken. Antibiotikaresistenzen [%] für Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ampicillin und Clarithromycin an den verschiedenen Probenahmestellen ZO3, AO3, AMNK und AMNK 24 h (Lagerungsversuch). * = Kolonien der Kontrollplatte unterhalb Grenzwert. ..... - 238 -
Abbildung 106: A) Konzentration von *E. coli* im Ablauf der Pilotanlage und B) log-Reduktion für *E. coli* in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis (ausgefüllte Rauten = konkrete Elimination, nicht ausgefüllte Rauten = Mindestelimination, die Konzentration nach der Ozonung liegt < BG) ..... - 239 -
Abbildung 107: Ergebnisse des ERα CALUX® Assay. Mittelwert aus 3 unabhängigen Replikaten. ..... - 243 -
Abbildung 108: Messung der Hormonaktivität von Östradiol, Testosteron und Progesteron im H295R Assay. Mittelwert aus 3 unabhängigen Replikaten. ..... - 245 -
Abbildung 109: PCA auf Basis der Biotestdaten aus Phase 1a ohne Zulaufproben. Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Aachen-Soers an W2 und W3 grün; unterhalb an W5 cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (AF, orange; ANK, gelb). Biotests als schwarze Pfeile. Eigenwert Achse 1: 0,522, Achse 2: 0,153. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 68 %. ..... - 281 -

Abbildung 110: PCA auf Basis der Biotestdaten aus Phase 1a und 1b ohne Zulaufproben. Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Aachen-Soers an W1 grau, an W2 und W3 grün; unterhalb an W5 cyan) und der Probestellen im Haarbach (oberhalb KA Eilendorf an H1 blau, unterhalb an H2 pink) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (AF, orange; ANK, gelb). Biotests (schwarze Pfeile). Eigenwert Achse 1: 0,302, Achse 2: 0,167. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 47 %. .....- 282 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: PNEC-Werte einiger Spurenstoffe ..... - 13 -
Tabelle 2: Parameter zur Beschreibung von Ozonungsstufen ..... - 20 -
Tabelle 3: Reaktionskonstanten 2. Ordnung [k_{O3} und k_{OH}] für verschiedene Spurenstoffe ..... - 24 -
Tabelle 4: Flächenanteile in ha der fünf stärksten Landnutzungsarten im Einzugsgebiet der Wurm ..... - 43 -
Tabelle 5: Übersicht der durchgeführten Screenings ..... - 45 -
Tabelle 6: Analyseverfahren der abwassertypischen Standardparameter ..... - 47 -
Tabelle 7: Versuchseinstellung der Pilotuntersuchungen auf der Kläranlage Aachen-Soers von Oktober bis Dezember 2015. ..... - 54 -
Tabelle 8: Analysenumfang für die Beprobung der Pilotanlage ..... - 55 -
Tabelle 9: Versuchseinstellung der Pilotversuche auf der Kläranlage Aachen-Soers von Januar bis September 2016. ..... - 56 -
Tabelle 10: Analysenumfang für die Beprobung der Pilotanlage im Jahr 2016 ..... - 57 -
Tabelle 11: Untersuchungsumfang zur Bromatkonzentration im Ablauf der Pilotanlage ..... - 58 -
Tabelle 12: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Standardparametern auf der Kläranlage Aachen-Soers im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AF vs. ZKA; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA; p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 74 -
Tabelle 13: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Standardparametern auf der KA Eilendorf im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AKA-E vs. ZKA-E; ↓: signifikant verringert im AKA-E vs. ZKA-E; p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 75 -
Tabelle 14: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Spurenstoffen auf der Kläranlage Aachen-Soers im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA, p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 81 -
Tabelle 15: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Spurenstoffen auf der Kläranlage Eilendorf im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA, p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 91 -
Tabelle 16: Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen der Proben auf der Kläranlage Aachen-Soers. WHT = Wachstumshemmtest ..... - 94 -
Tabelle 17: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES und ERα Calux® Assay mit aufkonzentrierten Proben im Rahmen der Phasen 1a und 1b; Orange: östrogener Effekt messbar; Grün: kein Effekt messbar ..... - 96 -
Tabelle 18: Übersicht der Ergebnisse der nativen Proben aus Phase 1a und 1b gemessen im ERα CALUX® Assay. Weiß: nicht beprobt; Orange: östrogener Effekt messbar; Grün: kein Effekt messbar ..... - 97 -
Tabelle 19: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES Assay und ERα CALUX® Assay mit aufkonzentrierten der Kläranlage Eilendorf Proben der Phase 1b; Orange: östrogner Effekt messbar, Grün: kein Effekt messbar ..... - 105 -

Tabelle 20: Randdaten der durchgeführten Screenings dargestellt in den Abbildungen zur Keimreduzierung, zugehörig zu Tabelle 5. ....- 110 -
Tabelle 21: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die KA Soers in Zu- und Ablauf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AF gegenüber ZKA; ↓: signifikant verringert im AF gegenüber ZKA; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden; n. d.: nicht bestimmt; p: Wahrscheinlichkeit) ....- 117 -
Tabelle 22: Übersicht der beobachteten Effekte durch Mischwasserentlastung der nativen Proben und der Extrakte (RÜB Soers und W3 nach Abschlagsereignis). Orange: Effekt nachweisbar. Grün: kein Effekt nachweisbar. ....- 125 -
Tabelle 23: Univariate statistische Auswertung von Standardparametern im Datensatz „Screening“ für die Wurm unter Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an W5 gegenüber W2/W3; ↓: signifikant verringert an W5 gegenüber W2/W3; p: Wahrscheinlichkeit) ....- 130 -
Tabelle 24: Univariate statistische Auswertung von Standardparametern im Datensatz „Screening“ für den Haarbach und die Wurm unter Einfluss der KA Eilendorf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an H2 gegenüber H1; ↓: signifikant verringert an H2 gegenüber H1; p: Wahrscheinlichkeit) ....- 131 -
Tabelle 25: Auswirkung der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers auf die Wurm nach Kategorie ....- 133 -
Tabelle 26: Univariate statistische Auswertung ausgewählter Spurenstoffe für die Wurm unter Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: sign. erhöht/ ↓: sign. verringert an W5 gegenüber W2/W3; p: Wahrscheinlichkeit) ....- 137 -
Tabelle 27: Univariate statistische Auswertung ausgewählter Spurenstoffe für Haarbach und Wurm unter Einfluss der KA Eilendorf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: sign. erhöht/ ↓: sign. verringert an H2 gegenüber H1; p: Wahrscheinlichkeit; n. d. nicht dargestellt, da keine Daten vorliegen). ....- 139 -
Tabelle 28: Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen von Daphnien, Algen und Leuchtbakterien des Einflusses der Kläranlage Aachen-Soers auf den Vorfluter. ....- 147 -
Tabelle 29: Ergebnisse der chemischen Analyse der internen Mikroschadstoffkonzentration mittels QuEChERS-Methode der Probenahmestellen W3, W4, W5 und H1. Angaben in ng/g. Orange: Substanz wurde nicht analysiert ....- 156 -
Tabelle 30: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES und ERα Calux® Assay mit aufkonzentrierten Proben aus Phase 1a und 1b; Weiß: nicht beprobt, Orange: östrogener Effekt messbar, Grün: kein Effekt messbar ....- 162 -
Tabelle 31: Mittelwert der Temperaturmessungen über den gesamten Untersuchungszeitraum in der Wurm und dem Haarbach während des Reproduktionstests mit *Potamopyrgus antipodarum*. ....- 171 -
Tabelle 32: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse im Ames-Fluktuation Assay mit aufkonzentrierten Proben aus Phase 1a (1-1 bis 1-4) und Phase 1b (2-1 bis 2-4). Grün: kein mutagenes Potenzial; Orange: mutagenes Potenzial im Stamm *S.typhimurium* TA98 ohne (-S9) bzw. mit (+S9) der metabolischen Aktivierung; Weiß: keine Probenahme ....- 177 -

Tabelle 33: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an W5 gegenüber W2/W3; ↓: signifikant verringert an W5 gegenüber W2/W3; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden; p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 190 -

Tabelle 34: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die Kläranlage Eilendorf (+: signifikant; ↑: signifikant erhöht an H2 gegenüber H1 bzw. an W2 gegenüber W1; ↓: signifikant verringert an H2 gegenüber H1 bzw. an W2 gegenüber W1; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden, p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 191 -

Tabelle 35: Univariate statistische Auswertung von Antibiotikaresistenzen (AR) bei Regenwetter und Trockenwetter (Datensatz „KA Soers“ (ZKA, AF), Datensatz „Wurm (W1, W2, W3, W5)“ und Datensatz „Haarbach (H1, H2)“) (-: nicht signifikant, +: signifikant; ↑: signifikant erhöht bei Trockenwetter; ↓: signifikant verringert bei Trockenwetter; p: Wahrscheinlichkeit) ..... - 192 -

Tabelle 36: Korrelationsanalysen der Antibiotikaresistenzen und der Antibiotikakonzentrationen (Datensatz „Screening“ für alle Probenahmestellen)..... - 192 -

Tabelle 37: Test auf multiple Antibiotikaresistenzen von *E. coli* gegenüber Ampicillin, Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ertapenem, Imipenem und Cefotaxim ..... - 196 -

Tabelle 38: Test auf multiple Antibiotikaresistenzen von Enterokokken gegenüber Ampicillin, Gentamycin, Vancomycin und Imipenem. ..... - 198 -

Tabelle 39: Güteklassen als Bewertungsschema für die Gewässerqualität nach EG-Wasserrahmenrichtlinie .. - 199 -

Tabelle 40: Gesamtergebnis der Module „Saprobie“ und „Allgemeine Degradation“ der Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse gut = grün, mäßig = gelb, unbefriedigend = orange, schlecht = rot)..... - 200 -

Tabelle 41: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Makrophyten (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse mäßig = gelb, unbefriedigend = orange, schlecht = rot) ..... - 204 -

Tabelle 42: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Diatomeen (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse gut = grün, mäßig = gelb, unbefriedigend = orange)..... - 205 -

Tabelle 43: Zusammenfassung der Ergebnisse für das Phytobenthos ohne Diatomeen (PoD) (Einstufung in die Bewertungsklasse mäßig = gelb, unbefriedigend = orange). ..... - 206 -

Tabelle 44: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Ergebnisse zur Spurenstoffelimination [%] in der Pilotanlage ..... - 213 -

Tabelle 45: Univariate statistische Auswertung der Keimzahlen von *E. coli* und Enterokokken für die Probestellen Zulauf Ozonung, Ablauf Ozonung und Ablauf Mininitrifikation (Datensatz „Pilotanlage“) (-: nicht signifikant, +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im Ablauf; ↓: signifikant verringert im Ablauf; p: Wahrscheinlichkeit). ..... - 236 -

Tabelle 46: Analyseumfang und Ozondosis [mg/l] für die ökotoxikologische Beprobung an der Pilotanlage. ..- 241 -
Tabelle 47: Zusammenfassende Ergebnisse der akuten und chronischen Toxizitätstests zur Bewertung der Ozonung (Pilotanlage) für alle Probenahmetage .....- 241 -
Tabelle 48: Zusammenfassung der Ergebnisse des ERα CALUX® Assay mit Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Höchste eingesetzte Konzentration 2,5 REF. Grün: kein Effekt. Orange: positiver Effekt, Weiß: fehlende Probe. (Angaben in ng EEQ/l) .....- 242 -
Tabelle 49: Zusammenfassung der Ergebnisse des L-YES Assay mit Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Höchste eingesetzte Konzentration 16,7 REF. Grün: kein Effekt. Orange: positiver Effekt. Weiß: fehlende Probe. (Angaben in ng EEQ/l).....- 244 -
Tabelle 50: Zusammenfassung der Ergebnisse des Ames-Fluktuationstests mit den Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Grün: kein Effekt. Orange: signifikant positiver Effekt im Stamm *S. typhimurium* ohne (-S9) bzw. mit (+S9) der metabolischen Aktivierung. Weiß: fehlende Probe. .....- 246 -
Tabelle 51: Verwendete Abkürzungen der Analytikdaten für die statistische Auswertung .....- 278 -
Tabelle 52: Verwendete Abkürzungen der Antibiotikaresistenzen für die statistische Auswertung.....- 279 -
Tabelle 53: Verwendete Abkürzungen und Endpunkte der biologischen Testsysteme, die in der multivariaten statistischen Analyse berücksichtigt wurden.....- 280 -
Tabelle 54: Ermittelte Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten an verschiedenen Tagen für unterschiedliche Ozondosen und Abwässer .....- 283 -

1 Einleitung

Rückstände aus Haushaltschemikalien wie z. B. Reinigungsmitteln, aber auch von Hygieneprodukten und Kosmetika sowie von Medikamenten oder Industriechemikalien gelangen nach der Verwendung in Spuren, als vollständiges Molekül oder teilweise metabolisiert, über das Abwasser in Kläranlagenabläufe und von dort in Oberflächengewässer. Da in Nordrhein-Westfalen etwa 49 % des Trinkwassers aus Oberflächenwassern oder mit Oberflächenwasser angereichertem Grundwasser gewonnnen werden, können diese anthropogenen Spurenstoffe grundsätzlich auch in den Trinkwasserkreislauf gelangen. Bromierte Flammschutzmittel, deren Einsatz weit verbreitet ist und die sowohl für Bioakkumulation als auch für ihre Hormonaktivität bekannt sind, wurden in Fischen sowie in Muttermilch nachgewiesen (Sundkvist et al. 2010; van Leeuwen und Boer 2008). Ein Beispiel für eine negative Beeinflussung der Gewässerbiozönose ist die Verweiblichung von Fischen, die dem im Wasser zu findenden Östrogen zugeschrieben wird. Das Analgetikum Diclofenac wird als eine mögliche Ursache für Nierenschäden bei verschiedenen Spezies genannt (Oaks et al. 2004; Swan et al. 2006; van Swelm et al. 2013). Auch geringe Konzentrationen von Spurenstoffen im Gewässer, die nicht zu Überschreitungen von möglichen Grenzwerten führen, können ökotoxikologisch relevant sein und Effekte in Bezug auf Reproduktion, Wachstum, Mortalität etc. haben (Triebskorn und Hetzenauer 2012).

Der Wasserverband Eifel-Rur entschied bereits 2013, dass im Rahmen des Forschungsvorhabens „Demonstrationsvorhaben Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers“ (DemO_3AC) zu Forschungszwecken eine großtechnische Ozonung auf der Kläranlage Aachen-Soers gebaut werden soll. Die beiden übergeordneten Ziele des Projekts DemO_3AC sind einerseits die verfahrenstechnische Optimierung der Ozonungsanlage und andererseits die Evaluierung der Effekte, die eine Abwasserozonung auf die Gewässerbiozönose und -qualität hat.

Die Evaluierung der Ozonung erfolgt anhand von verfahrenstechnischen sowie chemisch-physikalischen, ökotoxikologischen und mikrobiologischen Untersuchungen auf der Kläranlage und in dem Vorfluter, die sowohl vor als auch nach dem Ausbau der Kläranlage Aachen-Soers durchgeführt werden. Dieser Bericht beinhaltet die Ergebnisse der Phase 1, somit wird der Status quo „vor Ozonung“ präsentiert.

2 Stand des Wissens und der Technik

2.1 Belastungssituation von Kläranlagen

2.1.1 Spurenstoffe

Organische Spurenstoffe gelangen über das kommunale und industrielle Abwasser in Kläranlagen. Generell werden im Zulauf von Kläranlagen, die kommunales Abwasser behandeln, hohe Mengen (z. B. Ibuprofen mit bis zu 50 µg/l (Daten aus DemO_3AC)) an Pharmaka gefunden, wie z. B. Diclofenac, Ketoprofen oder Naproxen (Jelic et al. 2011), aber auch industrielle Substanzen, wie beispielsweise Benzotriazol (z. B. bis 150 µg/l, Daten aus DemO_3AC), liegen im Zulauf von Kläranlagen in hohen Konzentrationen vor.

Die Konzentrationen der Spurenstoffe im Rohabwasser weisen je nach Substanz und nach Probenahmetag starke Unterschiede auf. Dies ist zum einen auf saisonale Einflüsse, Wetterbedingungen und die Nutzungsintensität der im Einzugsgebiet befindlichen Personen zurückzuführen. Neben den genannten Randbedingungen gibt es jedoch auch einen entscheidenden Einfluss der Probenahmeart auf die Messung. Spurenstoffe werden nicht zeitlich homogen im Abwasser verteilt in eine Kläranlage eingetragen, sondern in der Regel innerhalb kurzer Intervalle (Jelic et al. 2011). Da die Fließzeiten im Einzugsgebiet bis zur Kläranlage sehr unterschiedlich sein können (im Einzugsgebiet der Kläranlage Aachen-Soers variieren diese beispielsweise von ca. 10 Minuten bis über 40 Minuten), können die Konzentrationen im Zulauf der Kläranlage stark schwanken. Um eventuelle Konzentrationsspitzen seltenerer Pharmaka zu erfassen, sollten daher Messintervalle von < 15 Minuten im Zulauf von Kläranlagen eingehalten werden (Joss et al. 2005).

Im Zulauf von Kläranlagen kann eine Abhängigkeit zwischen Pharmakakonzentrationen und Aktivitäten in einem Einzugsgebiet nachvollzogen werden, wie beispielsweise Einnahmezyklen von Antibiotika (Jelic et al. 2011; Pasquini et al. 2014). Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn besondere Einrichtungen, wie beispielsweise Krankenhäuser oder Industriebetriebe, an die Kläranlage angeschlossen sind. Des Weiteren ist eine saisonal bedingte Nutzung bestimmter Substanzen durch die Bevölkerung im Rohabwasser nachvollziehbar. Entsprechend konnte das Süßungsmittel Sucralose in einer Studie von Pasquini et al. (2014) im Sommer in höheren Konzentrationen im Kläranlagenzulauf gefunden werden als im Winter, was sich auf erhöhten Konsum von Zuckerersatzstoffen und gesüßten Getränken zurückführen lassen könnte. Untersuchungen der saisonalen Schwankungen von Pharmaka im Zulauf von Kläranlagen zeigten, dass im Sommer einige Pharmaka, wie z. B. Ibuprofen, Sulfamethoxazol und ein Großteil weiterer Antibiotika in geringeren Konzentrationen nachgewiesen wurden als im Winter (Castiglioni et al. 2006; Golovko et al. 2014). Dies ist auf eine erhöhte Anzahl von Krankheitsfällen im Winter zurückzuführen, die zu einer verstärkten Einnahme solcher Medikamente führen. Andere Pharmaka, wie beispielsweise das blutdrucksenkende Mittel Atenolol oder das Psychopharmaka Carbamazepin, werden dagegen

gleichmäßig über das Jahr verteilt eingenommen und wurden demzufolge auch saisonunabhängig im Kläranlagenzulauf vorgefunden (Castiglioni et al. 2006; Golovko et al. 2014; Yu et al. 2013).

Neben den saisonalen Schwankungen variieren auch die täglichen Konzentrationen der Spurenstoffe. Im Zulauf einer Schweizer Kläranlage zeigte sich, dass die Konzentration an Ibuprofen an verschiedenen Probenahmetagen starke Variationen aufwies. Diese Konzentrationsunterschiede konnten nicht ausschließlich auf Regenwetterereignisse und dadurch auftretende Verdünnungen zurückgeführt werden, da auch die Frachten während des untersuchten Wochenverlaufs stark schwankten (Tauxe-Wuersch et al. 2005).

Die Spurenstoffkonzentrationen im Ablauf von Kläranlagen sind insbesondere mit Blick auf die Gewässerbelastung von Interesse. Im Ablauf von kommunalen Kläranlagen werden in der Regel die als ubiquitär geltenden Substanzen Diclofenac und Carbamazepin in relativ hohen Konzentrationen vorgefunden (Jelic et al. 2011). Welche Spurenstoffkonzentration noch im Ablauf der Kläranlage vorliegt, ist unter anderem stark von der Verfahrenstechnik der Kläranlage abhängig (Jelic et al. 2011). Zudem kann auch die Konzentration von Spurenstoffen im Ablauf einer kommunalen Kläranlagen in Abhängigkeit der Saison, des Wochengangs oder des Tagesgangs stark variieren (Plósz et al. 2010). Im Winter konnte in Studien eine tendenzielle Zunahme der Pharmakakonzentrationen im Ablauf von kommunalen Kläranlagen gegenüber den Sommermonaten festgestellt werden. Jedoch ist nicht abschließend geklärt, ob dies ausschließlich auf die steigenden Konsumraten dieser Substanzen im Winter oder auch auf eine verringerte Reinigungsleistung der Kläranlagen zurückzuführen ist (Yu et al. 2013).

Kommunale Kläranlagen sind nicht grundsätzlich auf die Elimination von organischen Spurenstoffen ausgelegt. Dennoch kann die Reduktion von Spurenstoffen in kommunalen Kläranlagen auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Die wichtigsten Prozesse sind hierbei der biologische Abbau, die Adsorption an den Klärschlamm in der biologischen Reinigungsstufe oder an im Abwasser enthaltene Feststoffe und die Verflüchtigung bzw. Strippung (Clara et al. 2005a; Plosz et al. 2010). Für einige Substanzen, z.B. Ibuprofen oder Naproxen kann bereits ohne die Errichtung einer weitergehenden Reinigungsstufe in konventionellen Kläranlagen eine deutliche Reduktion der Konzentration im Abwasser erreicht werden (Yu et al. 2013).

Das Abwasser durchläuft zunächst die mechanische Reinigung, z. B. in Form eines Rechens, eines Sandfangs und eines Vorklärbeckens. Während der mechanischen Reinigung werden Feststoffe und sedimentierfähige Substanzen aus dem Abwasser entfernt. Daher ist diese Reinigungsstufe für die Verringerung vieler Spurenstoffe, insbesondere hydrophiler Substanzen wie Ibuprofen oder Naproxen, nicht sehr wirkungsvoll. Weitere Spurenstoffe, wie Galaxolid oder Tonalid, werden aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften dagegen schon während der Vorklärung um ca. 40 % reduziert. Diese Substanzen haben eine hohe Neigung an Feststoffe zu adsorbieren, weshalb bereits während der Vorklärung eine entsprechend hohe Entnahme aus dem Abwasser beobachtet werden konnte (Carballa et al. 2004).

Neben der Verringerung der Spurenstoffe durch Adsorption an Feststoffen spielt auch die biologische Transformation zahlreicher Spurenstoffe eine entscheidende Rolle für ihre Reduktion in kommunalen Kläranlagen. Ibuprofen wird beispielsweise auf kommunalen Kläranlagen sehr gut reduziert; im Vergleich zahlreicher Kläranlagen lag die Elimination in der Regel bei > 90 % (Clara et al. 2005b; Göbel et al. 2005; Joss et al. 2005; Luo et al. 2014; Ternes 1998). Diese Elimination ist auf den biologischen Abbau während der biologischen Reinigungsstufen zurückzuführen, da Ibuprofen nur geringfügig an den Klärschlamm adsorbiert und somit auch nicht über diesen Weg aus dem Abwasser entfernt wird (Pasquini et al. 2014). Naproxen und Sulfamethoxazol werden gleicherweise hauptsächlich biologisch transformiert, wobei der Eliminationsgrad für diese beiden Substanzen bei nur ca. 50 % liegt (Sun et al. 2016). Für Bisphenol A kann eine sehr hohe Reduktion der Konzentration von > 90 % gefunden werden. Der Abbau von Bisphenol A findet ebenfalls zu einem großen Teil über den Weg der Biotransformation statt, aber auch im Klärschlamm werden signifikante Konzentrationen gefunden (Clara et al. 2005b; Clara et al. 2005a; Sun et al. 2016). Die Konzentration der Duftstoffe Galaxolid und Tonalid wird in kommunalen Kläranlagen je nach Anlage um 50 % bis > 70 % verringert (Carballa et al. 2004; Joss et al. 2005). In der biologischen Stufe liegt der Abbau von Tonalid und Galaxolid bei ca. 30–40 %. Da diese Stoffe bereits in der Vorklärung an Feststoffe adsorbieren, wird auch während der biologischen Reinigung davon ausgegangen, dass eine Kombination aus Adsorption an Klärschlamm und biologischem Abbau für die Reduktion verantwortlich ist (Carballa et al. 2004; Joss et al. 2005). Die Zulaufkonzentration von Diazepam und Clarithromycin wird durch Adsorptionsvorgänge an den Klärschlamm um ca. 20 % reduziert. In Kläranlagen ist dies in der Regel der Hauptweg, über den diese Substanzen aus dem Abwasser entfernt werden (Jelic et al. 2011).

Andere Pharmaka, wie z. B. Diclofenac, Clarithromycin oder Carbamazepin werden dagegen nur mäßig (0–40 %) reduziert oder die Elimination unterliegt großen Schwankungen (Carballa et al. 2004; Joss et al. 2005; Luo et al. 2014; Sun et al. 2016; Zhang et al. 2008). Teilweise werden in der Literatur auch widersprüchliche Angaben bezüglich der Elimination gemacht. Sulfamethoxazol und Benzotriazol werden beispielsweise mit Eliminationsgraden von 50–80 % als mäßig bis gut zu eliminierende Substanzen angenommen (Knopp et al. 2016; Sun et al. 2016; Ternes 1998). Joss et al. (2005) konnten dagegen keine Reduktion von Sulfamethoxazol im Abwasserreinigungsprozess beobachten. Deutlich werden die unterschiedlichen Abbauraten auch beim Vergleich der Untersuchungen von Ternes (1998) und Tauxe-Wuersch et al. (2005) mit Bezug auf Diclofenac. Während Untersuchungen auf einer Kläranlage in Frankfurt wurde eine Elimination von Diclofenac infolge der kommunalen Abwasserreinigung um durchschnittlich 69 % dokumentiert (Ternes 1998). Tauxe-Wuersch et al. (2005) konnten dagegen auf drei untersuchten Kläranlagen keine Elimination von Diclofenac durch den konventionellen Reinigungsprozess nachweisen. Teilweise sind diese Unterschiede in der Reduktionsleistung auf den unterschiedlichen verfahrenstechnischen Aufbau von Kläranlagen zurückzuführen. Die Sorptionsrate von Diclofenac an Feststoffe ist relativ gering. Die Elimination von Diclofenac findet vorrangig infolge eines biologischen Abbaus

unter anoxischen Bedingungen statt (Zhang et al. 2008). Für Atenolol und Metoprolol zeigte sich dagegen, dass auf Kläranlagen mit einer Denitrifikation eine geringere Elimination erreicht wurde, als auf Kläranlagen, die keine anoxische Stufe aufwiesen (Vieno et al. 2007).

Für einige Substanzen, wie z. B. Carbamazepin, wird in konventionellen Kläranlagen nur eine geringe Reduktion oder sogar eine Zunahme der Konzentration beobachtet (Castiglioni et al. 2006). Carbamazepin ist während des Reinigungsprozesses in konventionellen kommunalen Kläranlagen eines der persistentesten untersuchten Pharmaka. Eine Auswertung verschiedener Veröffentlichungen zeigt, dass in Studien generell eine Elimination von Carbamazepin mit < 10 % angegeben wird (Clara et al. 2005b, 2005b; Joss et al. 2005; Knopp et al. 2016; Luo et al. 2014). Die geringe Elimination ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass Carbamazepin in nur sehr schlecht biologisch abbaubar ist und nicht an Klärschlamm absorbiert (Clara et al. 2004; Zhang et al. 2008). Teilweise wird jedoch auch eine negative Elimination von Carbamazepin, entsprechend eine Zunahme, beobachtet (Knopp et al. 2016; Vieno et al. 2007). Eine Erklärung hierfür ist die Entnahme nicht korrespondierender Proben und eine stärkere Schwankung der Konzentrationen im Tagesverlauf im Zulauf der Kläranlage als im Ablauf (Clara et al. 2004). Des Weiteren liegt jedoch im Kläranlagenzulauf ein Glucuronid-Konjugat von Carbamazepin vor – ein in der Leber des Menschen aus Carbamazepin gebildetes Molukül –, welches während der biologischen Reinigung gespalten wird. Carbamazepin ist ein Produkt dieser Spaltung und wird daher in der biologischen Reinigungsstufe zurückgebildet. In einer Kläranlage kann daher eine Zunahme der Carbamazepin-Konzentration beobachtet werden, wenn infolge der Spaltung des Glucuronid-Konjugats mehr Carbamazepin gebildet als während der Reinigungsprozesse abgebaut wird (Ternes 1998). Weitere Substanzen, für die eine Zunahme der Konzentrationen in der Kläranlage beobachtet werden kann, sind 4-Nonylphenol, Estron und Perfluoroctansulfonsäure (PFOS). Auch hier ist die Ursache der Konzentrationszunahme darin begründet, dass diese Substanzen während des Klärprozesses aus anderen Edukten gebildet werden (Pasquini et al. 2014). So ist Estron beispielsweise ein Produkt aus der Abbaureaktion von 17β-Östradiol unter oxidierenden Bedingungen, wie sie im Belebungsbecken generell vorliegen (Carballa et al. 2004).

Neben der biologischen Transformation und der Adsorption kann auch die Photodegradation einen Abbau verschiedener Spurenstoffe bewirken. Diclofenac wird beispielsweise infolge von Sonneneinstrahlung photolytisch abgebaut. Andere Substanzen, wie z. B. Carbamazepin werden dagegen nur geringfügig durch UV-Licht abgebaut (Zhang et al. 2008). Der Einfluss der Photodegradation auf den Spurenstoffabbau während des konventionellen Klärprozesses ist jedoch in Deutschland als gering einzuschätzen.

Das Schlammalter ist ein wichtiger Bemessungsparameter für die Auslegung und den Betrieb der biologischen Stufe einer kommunalen Kläranlage. Ein hohes Schlammalter fördert die Ausbildung einer diversen Biozönose und somit auch das Wachstum von gut angepassten Bakterien. Für die Parameter Kohlenstoff und Ammonium wurde eine Korrelation zwischen der Reinigungsleistung

der Kläranlage und dem Schlammalter festgestellt (Clara et al. 2005a). Für die Elimination von Spurenstoffen ist der Einfluss des Schlammalters einer Kläranlage auf die Eliminationsleistung dagegen noch nicht eindeutig geklärt. Ein hohes Schlammalter führt für viele Spurenstoffe zu einer verbesserten Reinigungsleistung (Batt et al. 2007). Dieser Zusammenhang konnte unter anderem auch für Ibuprofen beobachtet werden (Tauxe-Wuersch et al. 2005). Clara et al. (2005a) empfehlen, dass im Hinblick auf die Spurenstoffelimination ein Schlammalter von mindestens zehn Tagen eingehalten werden sollte. Diese Beobachtung trifft jedoch nicht auf alle Substanzen zu. So wird für Carbamazepin und Diclofenac beispielsweise kein Zusammenhang zwischen dem Schlammalter und der Elimination gefunden (Clara et al. 2004; Zhang et al. 2008). Auch Vieno et al. (2007) fanden in ihren Untersuchungen keine Korrelation zwischen dem Schlammalter und der Spurenstoffelimination in kommunalen Kläranlagen.

Weitere Faktoren, welche die Elimination von Spurenstoffen auf Kläranlagen beeinflussen sind z. B. eine Verdünnung des Abwassers infolge eines Regenereignisses oder unterschiedliche Abwassertemperaturen (Vieno et al. 2007). Ternes (1998) beobachtete eine verringerte Eliminationsleistung für einige Spurenstoffe, wie z. B. Diclofenac oder Naproxen, während auftretender Regenereignisse. Auch am Tag im Anschluss an die Regenereignisse wurde in der Kläranlage eine deutlich verminderte Abbaurate der genannten Spurenstoffe vorgefunden. Eine eindeutige Erklärung der verschlechterten Spurenstoffreduktion infolge einer verminderten biologischen Aktivität oder einer Rücklösung der Substanzen konnte in diesem Fall nicht gefunden werden (Ternes 1998). An einer Schweizer Kläranlage wurde ebenfalls eine deutliche Verringerung der Reinigungsleistung, hier für Ibuprofen, infolge einer Regenwetterperiode festgestellt. Kurze Regenereignisse hatten dagegen keinen so deutlichen Effekt auf die Reinigungsleistung (Tauxe-Wuersch et al. 2005). Infolge einer regenreichen Periode während einer zweiwöchigen Probenkampange nahm die Reinigungsleistung an einer untersuchten Kläranlage für Beta-Blocker, wie z. B. Metoprolol oder Atenolol, deutlich ab. Für Sotalol konnte dieser Effekt dagegen nicht so stark beobachtet werden. Als mögliche Erklärungen für die verringerten Eliminationen nannten Vieno et al. (2007) eine verminderte biologische Aktivität infolge des Regenereignisses.

Die schwankenden Reinigungsleistungen infolge von Regenwetterereignissen können auch eine mögliche Erklärung für die generell in der Literatur zu findenden Angaben über schwankende Reinigungsleistungen auf Kläranlagen für einzelne Spurenstoffe sein, sofern die Wetterbedingungen nicht differenziert in die Datenauswertung einfließen (Tauxe-Wuersch et al. 2005).

2.1.2 Biologische Qualitätskomponenten

Die Belastungssituation von Kläranlagen kann über das physikalisch-chemische Maß hinaus auf der Ebene der biologischen Qualitätskomponenten bewertet werden. Darunter fallen hygienische Parameter, insbesondere die Keimzahl bestimmte Fäkalindikatoren sowie deren Antibiotikaresistenzen, aber auch das von dem (gereinigten) Abwasser ausgehende ökotoxikologische Potenzial.

Das am Ablauf der Kläranlag gereinigte Abwasser wird in den Vorfluter geleitet und beeinflusst die Gewässerbiozönose entsprechend. Zur Bewertung des Einflusses der Kläranlage auf den Vorfluter ist es demnach erforderlich, zunächst die Auswirkungen des Abwassers zu erfassen.

Zur Beurteilung der hygienischen Komponenten werden mikrobiologische Untersuchungen in Form von ermittelten Keimzahlen verwendet. Potenziell pathogene Keime aus menschlichen und tierischen Quellen gelangen unter anderem über das Abwasser in die aquatische Umwelt. Kläranlagen können eine Reduktion der Keimzahl im Bereich 1–3 log-Stufen zwischen dem Rohabwasser und dem gereinigten Abwasser erreichen (Faria et al. 2009; Kistemann et al. 2008). Die Größenordnung der Belastung von Nachklärbeckenabläufen mit fäkalcoliformen Keimen liegt bei 10^4–10^5 KBE/100 ml (Kistemann et al. 2001; Overath et al. 2000; Popp 2002). Der Einfluss von Kläranlagen auf die Vorfluter ist jedoch von deren Auslegung und den jeweils erreichten Reinigungsleistung abhängig. Als zusätzliche Reinigungsstufen mit dezimierender Wirkung auf die Keimzahlen werden neben der Ozonung auch Verfahren wie die Sandfiltration, UV-Bestrahlung oder die Filtration mit Aktivkohle eingesetzt. Durch die Erweiterung einer kommunalen Kläranlage um eine Sandfiltration ist eine zusätzliche Reduktion der Keimbelastung um eine Zehnerpotenz möglich (Overath et al. 2000; Wuhrer. C 1995). Die mittlere Eliminationsleistung einer UV-Bestrahlungsanlage, die üblicherweise den Ablauf der Kläranlage behandelt, liegt durchschnittlich bei drei bis vier Zehnerpotenzen (Overath et al. 2000; Tobias et al. 1993).

Viele der Keime tragen Antibiotikaresistenzgene in sich, welche über verschiedene Mechanismen auf zum Teil nicht pathogene Keime übertragen werden können. Zu den drei Hauptmechanismen gehören der horizontale Gentransfer über mobile genetische Elemente (Plasmide, Transposons, Integrons), der Selektionsdruck durch Antibiotika und andere Stoffe, wie Biozide und Schwermetalle, sowie die genetische Mutation und Rekombination (Baquero et al. 2008; Martinez 2009; Vaz-Moreira et al. 2014). Es ist bereits bekannt, dass subinhibitorische Antibiotikakonzentrationen die Streuung von Resistenzgenen im aquatischen Ökosystem fördern (Ohlsen et al. 2003) und infolge dessen zu einer Selektion der antibiotikaresistenten Keime führen können (Gullberg et al. 2011).

Aufgrund der unvollständigen Elimination von anthropogenen Spurenstoffen auf konventionellen Kläranlagen erfolgt ein kontinuierlicher Eintrag von Mischungen aus Körperpflegeprodukten, Pharmazeutika und Industriechemikalien in die Gewässer (da Silva et al. 2011; Vieno und Sillanpää 2014). Dabei werden insbesondere die komplexen Mischungen der Spurenstoffe in Abwässern aus z. B. Kläranlagenabläufen mit einer Vielzahl an negativen Effekten, wie akute und chronische Effekte, endokrine und mutagene Potenziale sowie Effekte auf Populationsebene, in Zusammenhang mit Auswirkungen auf die aquatische Biozönose gebracht (Luo et al. 2014; Thellmann et al. 2017). Für einen Großteil dieser Stoffe existieren derzeit keine Qualitätsrichtlinien. Um eine Schädigung der Umwelt infolge dieser Substanzen auszuschließen ist es notwendig, die Effekte dieser

Stoffe auf die aquatische Umwelt zu untersuchen (Luo et al. 2014) und die möglicherweise synergistischen und/oder additiven Effekte zu berücksichtigen (Kunz et al. 2017).

Vor allem die hormonaktiven Substanzen stellen dabei ein großes Problem dar. Schon geringste Konzentrationen an hormonaktiven Substanzen im Picogrammbereich können zu erheblichen reproduktionstoxischen Effekten führen, die sich sogar auf Populationsebene manifestieren können (Kidd et al. 2007; Leusch et al. 2010; Nash et al. 2004). Aktuell befinden sich lediglich drei hormonaktive Substanzen (Estron, 17ß-Estradiol und 17α- Ethinylestradiol) auf der „Watch-List“ der EG-Wasserrahmenrichtlinie (2015/495/EU 20.03.2015). Allerdings konnte gezeigt werden, dass die chemische Analyse dieser Stoffe alleine nicht ausreichend ist, da die maximal erlaubten Konzentrationen auf 0,4 ng/l für E1 und E2 sowie 0,035 ng/l für EE2 festgelegt wurden, diese niedrigen Bestimmungsgrenzen allerdings nicht zwingend der Standard in chemischen Laboratorien sind. Effektbasierte Methoden dagegen eignen sich zur Detektion von ökotoxikologisch relevanten Auswirkungen in niedrigen Konzentrationsbereichen (Hecker und Hollert 2011; Könemann et al. 2018; Kunz et al. 2017). Auf den meisten Kläranlagen erfolgt bereits in den konventionellen Reinigungsschritten eine deutliche Reduktion des östrogenen Potenzials. So zeigten Escher et al. (2009), dass die Kläranlagen bezüglich Östrogenität vermehrt Eliminationsraten zwischen 93,9 % und 99,3 % aufweisen, allerdings können am Ablauf der Kläranlagen überwiegend noch EEQ-Werte von ≥ 2 ng/l gemessen werden. Diese Konzentration kann in Vorflutern, deren Abwasseranteil 50 % oder mehr beträgt, zu deutlich sichtbaren Effekten auf der Populationsebene von Fischen führen (Jobling et al. 2005). Auch konnten Jobling et al. (2005) zeigen, dass eine erhöhte Vitellogeninproduktion schon ab einem Abwasseranteil von 25 % auftritt. Liney et al. (2005) stellten zudem eine erhöhte Östrogenität, Gentoxizität und Nierentoxizität ab Abwasseranteilen im Vorfluter von 20 % und 40 % beziehungsweise 80 % fest.

Diverse Studien konnten außerdem ein mutagenes/gentoxisches Potenzial in nativen Proben von Oberflächengewässern feststellen (Dizer et al. 2002; Filipic 1995; Grifoll et al. 1992; Reifferscheid und Grummt 2000; Zegura et al. 2009). Die Untersuchung der Gentoxizität und Mutagenität wird in der Literatur jedoch kontrovers diskutiert, da die Ergebnisse nicht immer eindeutigen sind. Dizer et al. (2002) zum Beispiel zeigten, dass Anteile von 20 % bis 40 % gereinigten Abwassers in den Proben zu einer signifikant erhöhten DNA-Fragmentierungen in Regenbogenforellen führten. Andererseits konnten keine Effekte im Umu-C Test identifiziert werden, mit dem die Reaktion einer Zelle auf genetische Schäden untersucht werden.

Mit Blick auf weitergehende Reinigungsverfahren ist eine ozon-induzierte Mutagenität durch Bildung von Transformationsprodukten in der Literatur bekannt. So zeigten beispielweise Magdeburg et al. (2014) anhand von Pilotversuchen, dass im Ablauf der Pilotanlage auf der einen Seite die Gentoxizität im Umu-C Test durch Ozon deutlich reduziert werden konnte; auf der anderen Seite aber eine erhöhte Gentoxizität in Fischen festgestellt wurde, deren Erythrozyten im Comet Assay untersucht wurden. Auch im Ames-Fluktuation Assay konnten im Stamm YG7108 konzent-

rationsabhängig Effekte bezogen auf Ozon nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit der Untersuchung des gentoxischen und mutagenen Potenzials insbesondere im Hinblick auf die Inbetriebnahme der großtechnischen Anlage.

Diese nachgewiesenen Effekte in Biotestverfahren zeigen Wirkpotenziale auf und es ist bekannt, dass sich diese Wirkungen auf der Populationsebene manifestieren können. Wie stark sich die Effekte von Spurenstoffeinleitungen auf der Ökosystemebene auswirken, ist hingegen wenig bekannt, wobei Defizite in den Biozönosen im Fließgewässer deutlich sichtbar sind. So erreichten im Jahr 2014 90 % der Fließgewässer in NRW den guten ökologischen Zustand nicht. Dafür werden unter anderem Verunreinigungen durch Mikroschadstoffe verantwortlich gemacht (Mertsch 2014). Bisher versteht man die Auswirkungen von Spurenstoffen in Fließgewässern nur unzureichend (Stamm et al. 2017). Neben den durch die Kläranlagen eingetragenen Spurenstoffen tragen zu diesem Defizit in den Gewässerbiozönosen weitere Faktoren bei:

1) weitere Eintragsquellen von Spurenstoffen aus Landwirtschaft und Mischwasserentlastungen,

2) Defizite in der Gewässermorphologie, -struktur und -hydrologie sowie

3) mangelnde Verfügbarkeit qualitativ hochwertiger Gewässerstrecken in der Umgebung, die zu als Quellen der Wiederbesiedlung dienen können.

Daher ist eine eindeutige Bewertung des Anteils an der Gewässerbelastung von in Kläranlageneinleitungen enthaltenen Spurenstoffen grundsätzlich eine große Herausforderung. Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Gewässerbiozönose (z. B. Makroinvertebraten-/Periphytongemeinschaft) unterhalb von Kläranalgen beeinträchtigt sein kann (Amler et al. 2017; Peschke et al. 2014; Stamm et al. 2017). Erste Untersuchungen an großtechnischen Anlagen zur Spurenstoffelimination zeigen außerdem, dass die Effekte von Kläranlageneinleitungen auf die Gewässerbiozönose durch eine gezielte Spurenstoffelimination verringert werden kann (Peschke et al. 2016; Stamm et al. 2017).

2.2 Gewässerbelastung infolge Kläranlageneinleitung

Der Einfluss von Kläranlagen oder Mischwasserbehandlungsanlagen (z. B. Regenüberlaufbecken, RÜB) auf Gewässer, also den jeweiligen Vorfluter, ist auch bei einer gut ausgebauten und funktionierenden Kläranlage i. d. R. sichtbar, insbesondere wenn der Abwasseranteil an der Wasserführung hoch ist. So weisen Vorfluter mitunter nach der Einleitstelle beispielsweise erhöhte Nährstoffgehalte oder eine leicht erhöhte Wassertemperatur auf; teilweise ist der Abwassereinfluss auch anhand von mikrobiologischen Parametern, entsprechend Fäkalkeimen, oder anthropogenen Substanzen wie Spurenstoffen zu erkennen (Kasprzyk-Hordern et al. 2009; Price et al. 2017). Ob dies zwangsläufig auch zu Beeinträchtigungen der Gewässerbiozönose führt, muss im Einzelfall untersucht werden.

Mit dem Kläranlagenablauf werden unter anderem auch Rückstände von Haushalts- und Industriechemikalien, Medikamenten etc. als Spurenstoffe in das Gewässer eingetragen.

2.2.1 Spurenstoffe

Spurenstoffe als Rückstände sämtlicher künstlicher Verbindungen fallen überall dort an, wo der Mensch sie nutzt: in der Industrie oder Landwirtschaft, im Haushalt, bei Freizeitaktivitäten sowie in Siedlungs- und Verkehrsgebieten.

Wiegel et al. (2004) untersuchten unter anderem den Konsum von Medikamenten und ermittelten den Einsatz von ca. 3.000 verschiedenen Medikamenten mit einem Verbrauch von etwa 7.000 t synthetischen Medikamenten für Humanarzneimittel und 2.320 t für Veterinärmedizin im Jahr 2000. Nach Unterteilung der Humanarzneimittel in Gruppen ließ sich eine Abschätzung für freiverkäufliche Analgetika mit 1.100 t/a (1999) als stärkste Gruppe identifizieren. Im Rahmen des Projekts ANTI-Resist (RiSKWa 2018) wurden für Antibiotika ambulante und stationäre Verordnungen in Dresden untersucht. Amoxicillin beispielsweise wurde im Untersuchungsgebiet im Jahr mit 82 kg und Penicillin mit 70 kg verordnet und die beiden Substanzen stellen von elf verschiedenen die am häufigsten verschriebenen Antibiotika dar. Die Summe der elf Antibiotika lag 2013 bei deutlich über 350 kg. Stationär wurde Cefuroxim mit 105 kg und Piperacillin mit 161 kg im Jahr 2012 verordnet (Fauler et al. 2015).

Potenzielle Wege von Spurenstoffen ins Gewässer sind einerseits der Ablauf von Abwasserbehandlungsanlagen (Kläranlagen und Mischwasserbehandlungsanlagen) als Punktquellen, die genau lokalisierbar sind (vgl. Kap. 2.1), andererseits nicht eindeutig lokalisierbare diffuse Quellen, wie der Ablauf oder die Verdriftung aus landwirtschaftlichen Flächen, Siedlungsflächen oder atmosphärische Deposition. Mitunter werden Substanzen über beide Pfade in Gewässer eingetragen, wie beispielsweise Bisphenol A (Komplexbildner) und sind ubiquitär vorhanden.

Bekannte abwasserbürtige Substanzen und somit Substanzen, die vorrangig über Punktquellen eingetragen werden, sind unter anderem Pharmaka und Haushalts- bzw. Industriechemikalien. Insbesondere Pharmaka können als Fäkalindikatoren für Humanaktivitäten angesehen werden (RiSKWa 2016; Wiegel et al. 2004). Messungen in Fließgewässern vor und nach Kläranlageneinleitung identifizieren ebendiese als maßgebliche Eintragsquelle für Pharmaka, so dass bei diesen Punktquelleneinleitungen im Fließgewässer nach der Einleitung im Vergleich zum Oberlauf häufig eine Erhöhung der gemessenen Konzentrationen verzeichnet wird. Untersuchungen von Kasprzyk-Hordern et al. (2009) und Aymerich et al. (2016) zeigten insbesondere für Carbamazepin eine deutliche Erhöhung im Vorfluter durch Kläranlageneinleitungen. In stark abwassergeprägten Vorflutern sind die Konzentrationen im Vorfluter teils vergleichbar mit den Ablaufkonzentrationen der Kläranlagen, ohne dass signifikante Verdünnungen festzustellen wären (Kay et al. 2017). Für die Kläranlage Dresden-Kaditz mit 463.500 E wurde eine Frachteinleitung von 2,75 kg/d an Carbamezpin in die Elbe ermittelt (Wiegel et al. 2004). Im Vergleich zeigten eigene Untersuchungen Carbamazepinfrachten von 0,06 kg/d im Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers, die mit einer Ausbaugröße von 458.300 E etwa gleich groß ist (Klaer et al. 2017).

Die Eintragsdynamik der Spurenstofffrachten unterscheidet sich für typische Vertreter der Punkt- bzw. diffusen Quellen (vgl. Abbildung 1). Diclofenac als Analgetikum gelangt über Abwassereinleitungen in die Gewässer und der kumulierte Eintrag (bezogen auf ein Jahr) ist dadurch nahezu linear. Das Pflanzenschutzmittel Terbuthylazin hingegen ist über diffuse Eintragspfade anwendungsbedingt saisonalen Schwankungen unterlegen und wird verstärkt bei prägnanten Niederschlagsereignissen in den entsprechenden Jahreszeiten nach dem Auftrag auf die Felder eingetragen (Wittmer et al. 2011). Der über mehrere Monate kumulierte Verlauf des Eintrags der Fracht von Diclofenac und Terbuthylazin ist im Vergleich zum Niederschlag in Abbildung 1 dargestellt.

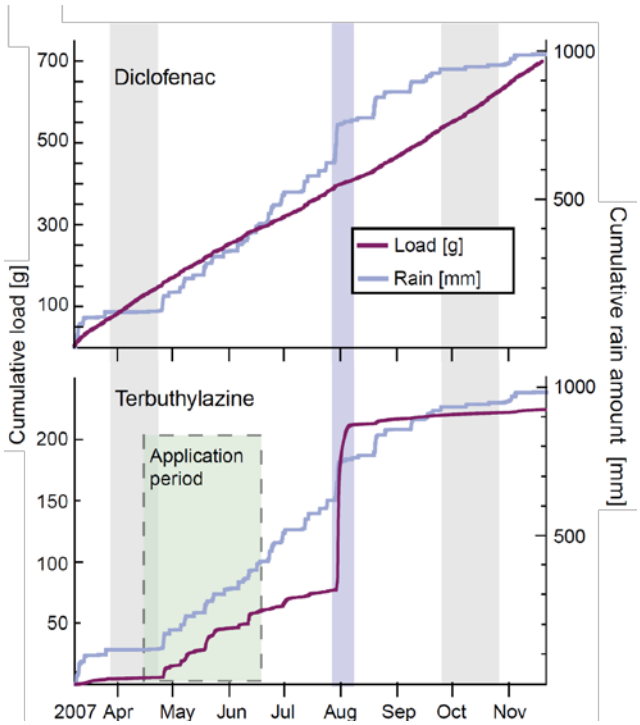

Abbildung 1: Eintragsdynamik von Spurenstoffen aus Punkt- oder diffusen Quellen (Wittmer et al. 2011)

Stehende Gewässer weisen eine andere Dynamik auf als Fließgewässer. Die Konzentrationen sind i. d. R. geringer und Abbauprozesse durch Photolyse etc. spielen eine vergleichsweise größere Rolle als in Fließgewässern. (Götz et al. 2011)

Auch Mischwasserentlastungen, beispielsweise durch Einleitungen von Regenüberlaufbecken, können je nach Abschlagsvolumen und Zustand des Vorfluters in Bezug auf Spurenstoffe einen prägenden Einfluss auf das Oberflächengewässer haben. Da die Entlastung eines RÜBs i. d. R. aus mit Niederschlagswasser verdünntem Abwasser besteht, sind die Konzentrationen mitunter höher als im Kläranlagenablauf (Kay et al. 2017).

Der Eintrag von Spurenstoffen in Gewässer wird zunehmend als potenzielles Risiko angesehen. In langwierigen Verfahren werden Stoffe festgelegt, die unter besonderer Beobachtung stehen (prioritäre Stoffe) bzw. als prioritär gefährliche Stoffe erkannt wurden. Letztere sollen in einem Zeitraum von 20 Jahren nach Festlegung aus der Umwelt eliminiert werden (phasing out). In 2013

wurden als erste Arzneimittelwirkstoffe die Substanzen Diclofenac, 17-beta-Östradiol (E2), 17-alpha-Ethinylestradiol (EE2), Estron (E1) sowie einige Makrolid-Antibiotika in die Watch List (2015/495/EU 20.03.2015) in Zusammenhang mit Artikel 8b(1) der EU-Richtlinie (2008/105/EC 16.12.2008) aufgenommen. Zunächst werden Daten erhoben, um das Risiko abzuschätzen und dann eventuelle Maßnahmen zur Reduzierung dieser Stoffe abzuleiten.

Zur Risikoabschätzung liegen für einige Substanzen sogenannte PNEC-Werte (**P**redicted **N**o **E**ffect **C**oncentration) für Oberflächengewässer vor, bei der vermutlich kein Risiko mehr für den jeweiligen Testorganismus besteht. Hierbei können verschiedene Organismen aus unterschiedlichen Trophiestufen eingesetzt werden, da sie mitunter unterschiedlich sensitiv auf die Testsubstanz reagieren. Empfehlungen von Jahnel et al. (2006) beispielsweise basieren auf Untersuchungen mit Algen, Kleinkrebsen und Fischen. Grundsätzlich fließen in die Berechnung der PNEC-Werte NOEC (no observed effect concentration) und Sicherheitsfaktoren ein. Die Herleitung ist in Umweltbundesamt (2011) beschrieben. In Tabelle 1 sind die PNEC-Werte für einige Beispielsubstanzen aufgeführt. Darüber hinaus gibt es Empfehlungen des Ökotoxzentrums der Eawag für akute und chronische Qualitätsstandards, die online veröffentlicht sind (Ökotoxzentrum 2017).

Tabelle 1: PNEC-Werte einiger Spurenstoffe

Substanz	PNEC [µg/l]	Quelle
Carbamazepin	0,5	(Jahnel et al. 2006)
	2,5	(Umweltbundesamt 2011)
Benzotriazol	380	(Flussgebiete NRW 2014)
Diclofenac	0,1	(Jahnel et al. 2006; Umweltbundesamt, 2011)
	100	(Flussgebiete NRW 2014; Umweltbundesamt 2011)
Tramadol	0,32	(Umweltbundesamt 2011)
Galaxolid	3,67	(Umweltbundesamt 2011)
Candesartan	100	(Umweltbundesamt 2011)
Clarithromycin	0,2	(Umweltbundesamt 2011)
	0,02	(Flussgebiete NRW 2014)
Metoprolol	3,2	(Umweltbundesamt 2011)
	7,3	(Flussgebiete NRW 2014)
Ibuprofen	60	(Umweltbundesamt 2011)
	71	(Flussgebiete NRW 2014)

Für Diclofenac finden sich in der Literatur publizierte Werte (sowie die im Rahmen von DemO$_3$AC verzeichneten Messwerte), die im Gewässer Konzentrationen über dem PNEC von 100 ng/l (Brückner et al. 2017; Kay et al. 2017) liegen. Die Konzentrationen von Pharmaka sind stark nutzungsabhängig und deshalb unter Umständen regional variabel. So veröffentlichten Aymerich et al. (2016) Diclofenac-Konzentrationen von 51 ± 10 ng/l, die also deutlich unterhalb des PNEC von 100 ng/l (Tabelle 1) lagen.

Der Ausbau von Kläranlagen mit weitergehenden Reinigungsstufen zur Elimination von Spurenstoffen führt zu einer erhöhten Gesamtelimination der Kläranlage, demzufolge kann von einer Reduzierung der Stoffkonzentration im Vorfluter ausgegangen werden (Klaer et al. 2017). Konzentrationsmessungen im Vorfluter nach Ausbau der Kläranlage mit einer Ozonungsstufe erfolgen für das Projekt DemO$_3$AC ab 2018 und sind Bestandteil der Projektphase 2.

Die Messung der Belastung ausgehend von Kläranlageneinleitungen anhand chemischer Analytik kann ergänzend auf ökotoxikologischer bzw. mikrobiologischer Ebene bewertet werden.

2.2.2 Biologische Qualitätskomponenten

Das potenzielle Risiko für die Gewässerbiozönose infolge von Kläranlageneinleitungen bzw. dem Eintrag von Spurenstoffen wird vielfach untersucht. Die hierbei gesetzten Schwerpunkte sind vielfältig und liegen zum Beispiel auf der Ökotoxizität, der Mikrobiologie oder der Lebensgemeinschaft im Gewässer.

Ökotoxikologisches Potenzial aufgrund von Spurenstoffbelastungen wurde bereits in vorangegangenen Studien untersucht. So gehen beispielsweise ökotoxikologische Effekte von Flammschutzmitteln aus. Insbesondere bromierte Flammschutzmittel sind aufgrund ihrer lipophilen sowie persistenten Eigenschaften bekannt für ihr Bioakkumulationspotenzial und können über die Anreicherung in Fischen in den Nahrungskreislauf des Menschen gelangen (Sundkvist et al. 2010; van Leeuwen und Boer 2008). Neben der Bioakkumulation weisen Flammschutzmittel ebenso eine hormonähnliche Wirkweise auf und sind daher potenziell toxisch (Inthavong et al. 2017).

Substanzen mit östrogen wirksamen Potenzial können bereits in geringsten Konzentrationen weitreichende Folgen für die Lebensgemeinschaft im Gewässer haben. So rufen Konzentrationen von 17α-Ethinylestradiol Effekte bereits ab 350 pg/l hervor (Kase et al. 2016). Untersuchungen von Kidd et al. (2007) zeigten, dass bereits der Eintrag von 5-6 ng/l 17α-Ethinylestradiol zum Zusammenbruch ganzer Fischpopulationen führen kann (die Untersuchungen über sieben Jahre beinhalteten den Eintrag der Substanz über ca. drei Jahre in einen kanadischen See). Weiterhin können endokrine Disruptoren die Reproduktion von Organismen beeinflussen, zu Geschlechtsumwandlungen führen und werden auch in Zusammenhang mit Intersex (Vorkommen beider Geschlechtsmerkmale) gebracht (Gimeno et al. 1996; Jobling et al. 2002). Neben den aufgeführten endokrinen Effekten sind aus der Literatur weitere Effekten bekannt, darunter fallen beispielweise Verhaltensänderungen bei Fischen durch neuroaktive Substanzen (Brodin et al. 2013).

In einer Publikation von Schwaiger et al. (2004) wurden gewebetoxische Effekte in Fischen nachgewiesen, die durch die Arzneimittel Diclofenac und Carbamazepin hervorgerufen wurden. Auch gentoxische und mutagene Effekte, die durch Spurenstoffe ausgelöst werden können, sind bereits beobachtet worden. So konnte im Projekt SchussenAktiv eine Schädigung der DNA nach Exposition von Döbeln gegenüber Abwasser im Mikrokerntest nachgewiesen werden (Triebskorn et al. 2013). Diclofenac steht weiterhin im Verdacht, Schädigungen der Nieren bei Fischen und Geiern hervorzurufen. (Oaks et al. 2004; Swan et al. 2006; van Swelm et al. 2013)

Neben Untersuchungen von Wasserproben zeigte zudem eine Studie bezüglich der Sedimentbelastung von Fließgewässern, dass neben den unpolaren auch polare Substanzen an Schwebstoffen adsorbieren und nach Ingestion bzw. Sedimentation gegenüber Biota in Gewässern adverse Wirkungen zeigen können (Hollert et al. 2003). Durch ihre organischen und anorganischen Bestandteile bieten Sedimente Schadstoffen eine Vielzahl an Bindungsstellen (Gerbersdorf et al. 2007; Hollert et al. 2003), wodurch sie sowohl als Senke als auch als Quelle bereits gebundener Schadstoffe dienen können (Brinkmann et al. 2010). Zu den an Sedimenten gebundenen Substanzen

gehören unter anderem Chemikalien aus den Gruppen der Alkylphenole, Pharmazeutika, Biozide, Pestizide und Herbizide. Durch Akkumulation an den Sedimenten können die Stoffe dort in vielfach höheren Konzentrationen als in der Wasserprobe vorliegen und so einen negativen Einfluss auf Wasserorganismen haben, wenn diese mit dem Sediment in Kontakt kommen (benthische Organismen). Neben der Bewertung der gelösten Wasserinhaltsstoffe ist auch die Bewertung des bioverfügbaren Schädigungspotenzials von kontaminierten Schwebstoffen und den daraus resultierenden Sedimenten für die Abwasser- und Gewässerbewertung relevant (King-Heiden et al. 2012). Durch den Abschlag einer Mischwasserentlastungsanlage oder durch ein Starkregenereignis können an Sedimenten gebundene Substanzen wieder remobilisiert und anschließend auch für freischwimmende aquatische Organismen verfügbar sein. Im Projekt SchussenAktivPlus (Amler et al. 2017) zeigten die Ergebnisse der chemischen Analysen der untersuchten Sedimente unter anderem eine Belastung mit Pharmazeutika, Rückstände an Waschlösungen, Weichmacher und diversen Polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs). Die negativen Effekte dieser verschiedenen Stoffgruppen sind in der Literatur ausführlich beschrieben. So konnten z. B. Schiwy et al. (2015) und Kais et al. (2017) negative Auswirkungen von persistenten PAK auf die Entwicklung von Zebrabärblingsembryonen beobachten. Im bereits erwähnten SchussenAktivPlus-Projekt wurden außerdem reproduktionstoxische Effekte auf die Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* festgestellt.

Die Einleitung geklärter Abwässer kann durch den vermehrten Eintrag organischen Materials im Gewässer zu einer Zunahme der Gesamtkeimzahl, sowie der fäkalen Indikatororganismen *E. coli* und Enterokokken führen. Der Anstieg der Keimzahlen um bis zu 2 log-Stufen wurde beispielsweise an einer Probenahmestelle nach dem Ablauf der Kläranlage Regensdorf beobachtet (Abegglen et al. 2009a). Im Rahmen einer Studie an der Stockacher Aach konnte ebenfalls ein Anstieg der Keimzahlen von *E. coli* und intestinalen Enterokokken infolge der Einleitung des Kläranlagenablaufes der Kläranlage Mühlingen um eine Zehnerpotenz beobachtet werden. Es ist jedoch auch möglich, dass in Abhängigkeit der Reinigungsleistung der Kläranlage, sowie deren Filterverfahren und den spezifischen Gegebenheiten im angrenzenden Gewässer kann die detektierte Keimzahl vor und nach einer Kläranlageneinleitung auch konstant bleiben kann (Gasse et al. 2009; Vilanova et al. 2002). Die in vergleichbaren Gewässern zur Wurm und dem Haarbach (die im Projekt DemO_3AC untersuchten Vorfluter) vorkommenden Keimzahlen als Koloniebildende Einheit (KBE) an fäkalen Indikatororganismen betragen durchschnittlich $1{,}0 \cdot 10^3$–$1{,}0 \cdot 10^5$ KBE/ml (*E. coli*) und $1{,}0 \cdot 10^2$–$5{,}0 \cdot 10^4$ KBE/ml (Enterokokken) (Abegglen et al. 2009b; Gasse et al. 2009). Neben einer möglichen Erhöhung der Keimzahlen der fäkalen Indikatororganismen wird zudem über ein erhöhtes Resistenzniveau coliformer Keime nach Einleitung von gereinigtem Abwasser berichtet (Akiyama und Savin 2010). Es kann weiterhin auch zu einer vermehrten Abundanz von antibiotikaresistenten Keimen insbesondere in den Sedimenten in der Nähe des Ablaufs von Kläranlagen kommen (Czekalski et al. 2012; Rizzo et al. 2013; Schwartz et al. 2003), welche beispielsweise

durch Starkregenereignisse oder Verletzungen des Sediments rückgelöst werden können und in die Wasserphase übergehen können.

In Bezug auf die Lebensgemeinschaften in Gewässern besteht nach Stalter et al. (2013) neben negativen Auswirkungen der strukturellen Degradation auch ein Zusammenhang zwischen Spurenstoffen und einer veränderten Zusammensetzung von Makroinvertebraten bzw. der Biodiversität im Gewässer. Die ökologischen Auswirkungen von Spurenstoffen in Fließgewässern sind bisher nur unzureichend verstanden(Stamm et al. 2017). Daher führten Stamm et al. (2017) im Projekt Eco Impact umfangreiche Untersuchungen an 24 Kläranlagen-Standorten in der Schweiz durch. Es zeigte sich, dass Spurenstoffe aus Kläranlagenabläufen die Lebensgemeinschaften sowie die ökosystemare Funktion im Gewässer beeinträchtigen können. So konnten zum Beispiel Hinweise darauf gefunden werden, dass Bachflohkrebspopulationen unterhalb von Kläranlagen auffallend weniger Jungtiere enthielten, was auf eine Beeinträchtigung der Fortpflanzung oder eine erhöhte Sterblichkeit der Nachkommen hinweist. Außerdem konnte ein Zusammenhang zwischen dem durchschnittlichen Abwasseranteil und den Ergebnissen im SPEAR-Index festgestellt werden. Die Abnahme der als empfindlich gegenüber Pestiziden eingestuften Arten war umso stärker, je größer der Abwasseranteil war. Untersuchungen des Periphytons zeigten außerdem eine Zunahme der Toleranz gegenüber Spurenstoffen (Stamm et al. 2017).

Es gibt Hinweise zur Verbesserung der Gewässerbiozönose, welche auf die Aufrüstung von Kläranlagen mit weitergehenden Reinigungsstufen zur Spurenstoffelimination zurückzuführen sind. Untersuchungen ergaben, dass die Reduzierung der Spurenstoffbelastung auch messbare positive Auswirkungen auf die Gewässergemeinschaft hat. Neale et al. (2017) führten intensive Untersuchungen an drei Kläranlagen durch, bei denen im Vorfluter Stellen oberhalb und unterhalb der Kläranlageneinleitung sowie der Ablauf der Kläranlage bei Niedrigwasserverhältnissen untersucht wurden. Der Oberlauf der drei Vorfluter wurde nicht durch Kläranlageneinleitungen beeinflusst. Obwohl erneut die untersuchten Kläranlagen als maßgebliche Eintragspfade für Spurenstoffe festgelegt und auch ein ökotoxikologisches Potenzial ausgehend von der Kläranlageneinleitung identifiziert wurden, war auch der Oberlauf der Flüsse bereits belastet. Belastungen in Gewässern oberhalb von Kläranlageneinleitungen werden beispielsweise auf diffuse Quellen, unter anderem Landwirtschaft und Oberflächenablauf aus Siedlungsgebieten, zurückgeführt. Die Autoren gehen davon aus, dass eine weitergehende Reinigungsstufe zwar zu Verbesserungen der Situation in den Vorflutern führen, jedoch den vollständigen Eintrag von Spurenstoffen in Gewässer nicht verhindern kann.

Auswertungen im Rahmen des Projekts SchussenAktiv*Plus* postulieren, dass der Ausbau der Kläranlage Langwiese bei Ravensburg mit einer weitergehenden Reinigungsstufe (Pulveraktivkohle) im zugehörigen Vorfluter, der Schussen, zu Verbesserungen des Saprobienindex führen (Peschke et al. 2014) und die Fischgesundheit erhöhen kann (Maier et al. 2015). Untersucht wurden bei-

spielsweise die Gemeinschaft des Makrozoobenthos, der Gesundheitszustand von Gammariden (anhand von Parasiten), das Geschlechterverhältnis, die Fekundität und ein Stressprotein an Probenahmestellen vor und nach Kläranlageneinleitung. Nach dem Ausbau der Kläranlage mit einer PAK-Stufe seien unterhalb der Kläranlageneinleitung das Geschlechterverhältnis ausgeglichen, der Gesundheitszustand verbessert, die Fekundität nicht mehr verringert und das Stressproteinlevel nicht mehr signifikant erhöht gewesen. Weiterhin sei der Saprobienindex nach Ausbau geringer als vorher und insgesamt wurde von einer Verbesserung der Gewässerbiozönose durch die PAK-Stufe gesprochen (Peschke et al. 2014). Darüber hinaus wurden sowohl exponierte als auch freilebende Fische in der Schussen und der Argen (Referenzgewässer) mittels histologischer Analysen (hier: Leberproben), Mikrokerntest zur Ermittlung der Gentoxizität und mittels biochemischer Analysen hin untersucht. Nach Ausbau der Kläranlage wurde sowohl bei exponierten als auch bei freilebenden Fischen eine Verbesserung anhand der histologischen Analysen und Mikrokerntest sowohl bei exponierten als auch bei freilebenden Fischen festgestellt. Insgesamt wird von einem positiven Effekten auf die Gesundheit von Fischen infolge der Errichtung der weitergehenden Reinigungsstufe gesprochen (Maier et al. 2015).

Schäfer et al. (2016) modellierten vier maßgebliche Stressoren in deutschen Flussökosystemen und bewerteten den Einfluss eines jeden Stressors sowie die Zusammenhänge der Stressoren untereinander. Untersucht wurden die Stressoren Habitatverschlechterung, invasive Arten, Nährstoffbelastung und organische Schadstoffe (bis zu 93 Substanzen, für die ein toxic unit [TU] Wert unter Berücksichtigung des LC_{50} für drei repräsentative Organismen zur Bewertung der jeweiligen Toxizität berechnet wurde). Für organische Schadstoffe wurde im gesamten Gebiet ein konstantes Risiko festgestellt, das jedoch insgesamt nicht so ausgeprägt ist wie die Stressoren der Habitatdegradation und Nährstoffbelastung. Habitatverschlechterung und Nährstoffbelastung überschreiten die Risikoschwelle in 85 % und organische Schadstoffe und invasive Arten in 50 % der Fälle. Aufgrund der Methodik im Rahmen dieser Studie wird jedoch von einer tendenziellen Unterschätzung des Risikos durch organische Schadstoffe ausgegangen und überdies darauf hingewiesen, dass die Stressoren sich gegenseitig beeinflussen können, weshalb die Stressoren nicht isoliert, sondern integriert bzw. kombiniert betrachtet werden sollten (Schäfer et al. 2016).

Ashauer (2016) untersuchte den Einfluss von Abwasser auf die Gewässerqualität im Hinblick auf Makroinvertebraten mittels SPEAR Index und stellte eine Verbesserung der Gewässerqualität nach Ausbau der Kläranlage Wüeri in Regensdorf (Schweiz) mit einer Ozonungsstufe fest.

Stamm et al. (2017) konnten bereits 10 Monate nach Aufrüstung einer Kläranlage mit Pulveraktivkohle an der Glatt bei Herisau Verbesserungen im Gewässer feststellen. Das Periphyton reagierte auf die verbesserte Wasserqualität mit einem Rückgang der zuvor erhöhten Toleranz gegenüber Spurenstoffen. Außerdem zeigten sich bei den Bachforellen unterhalb der Kläranlage keinen Unterschied mehr in der Regulierung verschiedener Gene für Entgiftungsmechanismen im Vergleich zur Probestelle oberhalb der Kläranlage.

Bei kombinierten Untersuchungen von chemischen Substanzen und Biotests konnte festgestellt werden, dass Effekte in Biotests auftreten, die allerdings in dem Ausmaß häufig nicht durch die detektierten chemischen Substanzen erklärt werden können (Neale et al. 2017; Tang et al. 2013). Mögliche Erklärungen sind, dass weitere Substanzen, die nicht detektiert wurden, in der Mischung vorliegen (z. B. auch Transformationsprodukte), und/oder dass die Substanzen in ihrer Mischung anders wirken als Einzelsubstanzen und sich mitunter gegenseitig in ihrer Wirkung verstärken. Dies ist z. B. bei endokrin wirkenden Substanzen der Fall.

Die Gewässerbelastung durch anthropogene Nutzung im Einzugsgebiet wird in vielen Handlungsfeldern sichtbar und betont den Handlungsbedarf zum Schutz der Gewässer und Umwelt, ggf. sogar des Menschen. Diese Erkenntnisse ermöglichen die Umsetzung von gezielten Maßnahmen zur Verbesserung der Gewässerqualität. Unterschiedliche Maßnahmen (z. B. weitergehende Reinigungsstufen, Mischwasserbehandlung, Renaturierung- und Durchgängigkeitsmaßnahmen etc.) können bestimmte Teilbereiche verbessern und wohlmöglich Synnergieeffekte ausbilden, die es zu beobachten gilt.

2.3 Ozonung als weitergehende Reinigungsstufe

2.3.1 Grundlagen

Die Ozonung zur Elimination organischer Spurenstoffe wird seit einigen Jahren in der kommunalen Abwasserreinigung sowohl in Deutschland als auch im Ausland im Rahmen verschiedener Forschungsvorhaben im Pilotmaßstab sowie großtechnisch untersucht. (ARGE 2014; Schaar et al. 2011). Ozon ist ein sehr starkes Oxidationsmittel und wurde daher bereits in der Vergangenheit mit dem Ziel der Wasseraufbereitung sowie der industriellen Abwasserreinigung zur Oxidation organischer Wasserinhaltstoffe und zur Keimreduktion eingesetzt (Abegglen und Siegrist 2012). Ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Einsatz zur Trinkwasseraufbereitung bzw. der Abwasserbehandlung besteht in der Qualität des zu behandelnden Wassers. Abwasser besitzt ein höheres Zehrungspotenzial infolge konkurrierend verlaufender Reaktionen, was Anpassungen im Bau und Betrieb einer Ozonanlage für die Abwasserbehandlung im Gegensatz zur Wasseraufbereitung erfordert. Der Erfolg der Ozonung hängt von verschiedenen Faktoren, wie dem Ozoneintrag, der Wassermatrix, der Reaktionszeit, dem pH-Wert, der Temperatur und den Stoffcharakteristika der Spurenstoffe, ab. Generell wird durch die Erhöhung des Ozoneintrags ein verbesserter Abbau von Spurenstoffen erreicht. Das hinzudosierte Ozon reagiert jedoch nicht nur mit den Spurenstoffen, sondern auch mit sonstigen gelösten organischen und anorganischen Wasserinhaltsstoffen. Für einen wirtschaftlichen Betrieb ist daher eine möglichst geringe Restverschmutzung im Abwasser anzustreben, bevor dieses dem Ozonreaktor zugeführt wird. Anlagen zur Ozonung von Abwasser werden daher in der Regel im Ablauf der Nachklärung eingesetzt, um Konkurrenzreaktionen zwischen den zu behandelnden Substanzen und den im Abwasser vorhandenen Substanzen zu mini-

mieren. (Abegglen und Siegrist 2012; Gottschalk et al. 2000; Schumacher 2006; Sonntag und Gunten 2012).

Für die Ozonung von Abwasser werden generell ein Ozongenerator, ein Kontaktreaktor sowie eine Abluftbehandlung des Abgases benötigt. Ozon wird vor Ort aus Sauerstoff produziert, da es sich um ein instabiles Gas handelt. In der Regel dient technischer Sauerstoff als Trägergas. Die Erzeugung des Ozons erfolgt mittels stiller elektrischer Entladung in einem Ozongenerator, welcher vom Sauerstoff durchströmt wird. Die erforderliche Ozonkonzentration im Gas wird durch die angelegte Spannung gesteuert. Das ozonhaltige Gas wird anschließend im Ozonreaktor (dem Kontaktreaktor) in das Abwasser eingebracht und reagiert dort mit den Wasserinhaltsstoffen. Das in der Abluft verbleibende Restozon wird über einen Restozonvernichter geleitet, bevor es in die Umwelt entlassen wird. Aufgrund seiner toxischen Wirkung sollte auf einen ozonfreien Ablauf aus dem Ozonreaktor geachtet werden. Zur Entfernung unerwünschter entstandener Nebenprodukte, auch Transformationsprodukte genannt, wird der Ozonung eine biologisch aktive Stufe, häufig in Form eines Sandfilters, nachgeschaltet. (Abegglen und Siegrist 2012)

Die Wirksamkeit der Ozonung kann auf verschiedene Größen bezogen und zum Vergleich verschiedener Anlagen genutzt werden. Nach Pinnekamp et al. (2015) sind die in Tabelle 2 aufgeführten Parameter zur Beschreibung eines Ozonprozesses von Relevanz.

Tabelle 2: Parameter zur Beschreibung von Ozonungsstufen

Definition	Einheit	Formel-zeichen	Beschreibung
Ozondosis	mg_{O3}/l	D	Die Ozondosis ist die pro Volumeneinheit Wasser zugegebene Ozonmenge.
Ozoneintrag	mg_{O3}/l	E	Der Ozoneintrag ist die Menge an Ozon, die von der Gasphase in die wässrige Phase überführt wird.
Ozonzehrung	mg_{O3}/l	Z	Der Ozoneintrag ist die Menge an Ozon, die von der Gasphase in die wässrige Phase überführt wird.
Hydraulische Aufenthaltszeit	min	HRT	Unter der hydraulischen Verweilzeit wird die rechnerische Verweilzeit des Wassers im Reaktor verstanden. Die HRT ist abhängig vom aktuellen Zulauf der Ozonungsanlage und dem effektiven Reaktorvolumen.
Spezifische Ozondosis/ Ozoneintrag/ Ozonzehrung	mg_{O3}/mg_{DOC}	D_{spez} E_{spez} Z_{spez}	Hierbei wird der entsprechende Parameter (z. B. Ozondosis / Ozoneintrag oder Ozonzehrung) auf einen Wasserqualitätsparameter (z. B. CSB, DOC, SAK_{254}) im Zulauf der Ozonungsanlage bezogen

Der Bezug auf den DOC erfolgt, um die unterschiedliche Abwasserbelastung der getesteten Abwässer in die Auswertung mit einzubeziehen und eine Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Ozonanlagen herzustellen (Antoniou et al. 2013; Pinnekamp et al. 2015).

Ozon (O_3) ist ein starkes Oxidationsmittel, das im Abwasser vergleichsweise selektiv mit den verschiedenen Abwasserinhaltsstoffen und somit auch Spurenstoffen reagiert. Im Allgemeinen reagiert Ozon vorzugsweise mit organischen Verbindungen, die eine hohe Elektronendichte aufweisen (Gottschalk et al. 2000). Nach Crigee (1975) werden beispielsweise ungesättigte aliphatische Verbindungen durch Ozon direkt oxidiert. Ozon lagert sich hierbei an die Doppelbindungen an und bewirkt dort einen Bruch der Bindung. Dabei entstehen Verbindungen, die Aldehyde, Ketone oder Carbonsäuren als funktionelle Gruppen enthalten (Crigee 1975).

Die Reaktion von Ozon mit Abwasserinhaltsstoffen und der Zerfall von Ozon im Abwasser führt unter anderem zur Bildung von Hydroxylradikalen (•OH). Im Gegensatz zu Ozon sind •OH hoch reaktiv und reagieren mit den meisten Wasserinhaltsstoffen nahezu diffusionskontrolliert (Gunten 2003). Durch Zusammenwirken beider Oxidationsmittel kann daher ein weites Spektrum an Wasserinhaltsstoffen eliminiert werden. Folglich stehen bei der Oxidation und Keimreduktion von Abwasser mit Ozon zwei unterschiedliche Reaktionswege zur Verfügung: die direkte Oxidation

über Ozon und die indirekte Oxidation mittels Hydroxylradikale (Nöthe et al. 2009; Schumacher 2006; Sonntag und Gunten 2012). Die Größenordnung der OH-Radikalbildung ist von unterschiedlichen Randbedingungen, wie beispielsweise den Abwasserinhaltsstoffen oder den Milieubedingungen, abhängig. Es wird zwischen Substanzen unterschieden, die die Radikalkette anregen (Initiatoren) oder beschleunigen (Promotoren) und Substanzen, die die Reaktion als Radikalfänger (Scavenger) beeinträchtigen. Ein hoher pH-Wert im zu behandelnden Abwasser hat beispielsweise einen beschleunigenden Einfluss auf die Bildung der •OH (Schumacher 2006). Hydrogencarbonat (HCO_3^-) und (Carbonat CO_3^{2-}) sind dagegen Scavenger. Ihr Vorkommen führt dazu, dass die gebildeten Hydroxylradikale nicht zur Reaktion mit den weiteren Abwasserinhaltsstoffen zur Verfügung stehen und vorrangig eine direkte Reaktion des Ozons mit (Ab-) Wasserinhaltsstoffen auftritt (Gottschalk et al. 2000).

2.3.2 Spurenstoffelimination

Die Anlagen zur Ozonung von Abwasser werden mit dem Ziel der Entfernung von Spurenstoffen aus dem Kläranlagenablauf geplant und gebaut. (Abegglen et al. 2009b; ARGE 2014; Schaar et al. 2010).

Der Erfolg der Ozonung ist dabei von verschiedenen Faktoren abhängig, wie dem Ozoneintrag, der Abwassermatrix, der Reaktionszeit, dem pH-Wert, der Temperatur und den Reaktionseigenschaften der Spurenstoffe. Die benötigte Ozondosis muss für den Einzelfall entsprechend der Belastung des Abwassers und des Reinigungsziels individuell ermittelt werden. Generell wird durch die Erhöhung des Ozoneintrags ein verbesserter Abbau von Spurenstoffen erreicht. In einem Leitfaden der BMBF-Fördermaßnahme RiskWa (Förderkennzeichen: 02WRS1271) wurden die einzusetzenden spezifischen Ozondosierungen für verschiedene Spurenstoffe angegeben (Jekel und Dott 2013). Dieser zeigt, dass die einzusetzende Ozondosis stark vom Reinigungsziel und der zu entfernenden Substanz abhängig ist. Für die Elimination von Carbamazepin und Diclofenac wird hier eine spezifische Ozondosis von 0,3 g_{O3}/g_{DOC} als ausreichend angesehen, wohingegen für Benzotriazol, Atenolol, Metoprolol und Sotatol spezifische Ozondosierungen von ca. 0,7–0,8 g_{O3}/g_{DOC} angegeben werden. Durchgeführte Studien zur Behandlung von biologisch gereinigtem kommunalen Abwasser mit Ozon zeigten, dass Ozondosen von 2 mg/l bis 15 mg/l zielführend zur Spurenstoffelimination eingesetzt werden können (Antoniou et al. 2013; ARGE 2014; Bahr et al. 2007; Huber et al. 2005). Antoniou et al. (2013) untersuchten beispielsweise sechs unterschiedliche Kläranlagenabläufe. Für eine 90 %-ige Carbamazepin-Reduktion wurde je nach Kläranlage eine Mindestdosis von 2,2 mg_{O3}/l bis 10,8 mg_{O3}/l ermittelt, entsprechend einer spezifischen Ozondosis von 0,42 g_{O3}/g_{DOC} bis 0,84 g_{O3}/g_{DOC}. Für Metoprolol stieg die einzusetzende Ozondosis auf 3,8 mg_{O3}/l bis 18,2 mg_{O3}/l bzw. 0,73 g_{O3}/g_{DOC} bis 1,33 g_{O3}/g_{DOC} für eine 90 %-ige Elimination an. In Regensdorf wurde eine spezifische Ozondosis von ca. 0,6 g_{O3}/g_{DOC} als ausreichend angesehen, um das vorgegebene Reinigungsziel einer durchschnittlichen Spurenstoffelimination von 80 % einzuhalten. (Abegglen et al. 2009b) Im Rahmen der Untersuchungen der ARGE (2014) wurde

beobachtet, dass Carbamazepin und Diclofenac bereits bei einer Ozondosierung von nur 2 mg_{O3}/l nennenswert reduziert wurden. Ab einer spezifischen Ozondosierung von 0,7 g_{O3}/g_{DOC} wurden auf der Kläranlage Duisburg-Vierlinden für leicht eliminierbare Substanzen wie Diclofenac zuverlässig Reduktionsleistungen von > 90 % eingehalten. Abegglen und Siegrist (2012) gaben im Rahmen einer umfangreichen Literaturrecherche an, dass eine spezifische Ozondosis im Bereich 0,7–0,9 g_{O3}/g_{DOC} für viele Stoffe eine ausreichende Abbauleistung ergibt.

Die Bandbreite der eingesetzten Ozondosen ist durch die verschiedenen Abwässer sowie die unterschiedlichen Behandlungsziele zu erklären. Generell können Spurenstoffe gut mit Ozon eliminiert werden, wenn sie eine hohe Affinität bezüglich der Reaktion mit Ozon aufweisen. Aber auch solche Substanzen, die nicht schnell mit Ozon reagieren, können durch die Reaktion mit den gebildeten Hydroxylradikalen in einer indirekten Reaktion oxidiert werden. Lee et al. (2013) untersuchten hierzu einige Spurenstoffe gemäß ihrer Reaktivität mit Ozon und teilten diese in fünf Gruppen ein.

In der ersten Gruppe wurden Spurstoffe zusammengefasst, deren Reaktivität während der Ozonung sehr hoch ist und welche zu einem großen Teil infolge der direkten Reaktion mit Ozon reduziert werden, z. B. Diclofenac, Carbamazepin, Bisphenol A, Sulfamethoxazol und Naproxen. Es wird angenommen, dass ca. 82 ± 9 % der Elimination durch die direkte Reaktion mit Ozon erfolgt und nur ein geringer Teil über die indirekte Reaktion über Hydroxylradikale. Diese Substanzen wurden während systematischer Untersuchungen mit spezifischen Ozondosen > 0,5 g_{O3}/g_{DOC} zu mehr als 98 % eliminiert und auch mit spezifischen Ozondosen von 0,25 g_{O3}/g_{DOC} konnten viele Substanzen noch bis zu 91 % eliminiert werden. In einer zweiten Gruppe wurden Substanzen eingeordnet, die etwas geringer durch Ozon reduziert wurden, als die Substanzen der Gruppe 1. Vertreter dieser Gruppe sind Gemfibrozil und Atenolol. Die durchschnittliche Elimination der beiden Substanzen lag für eine spezifische Ozondosis von 0,25 mg_{O3}/mg_{DOC} bei 38–68 %. Für Gemfibrozil konnten Eliminationen von > 98 % ab spezifischen Ozondosen von > 0,5 g_{O3}/g_{DOC} beobachtet werden, wohingegen für Atenolol > 1 g_{O3}/g_{DOC} für solch eine Elimination nötig waren. Der Anteil der direkten Reaktion an der Reduktion der Substanzen lag für Gemfibrozil bei ca. 58 % ± 14 % und bei Atenolol bei ca. 38 % ± 25 %. In Gruppe 3, zu deren Vertreter z. B. Ibuprofen zählt, ist die Reduktion der Substanzen über die direkte Reaktion mit Ozon mit durchschnittlich ca. 12 % ± 10 % eher untergeordnet. Entsprechend werden höhere Ozondosen notwendig, um einen hohen Umsatz zu erreichen. Eine Elimination von > 90 % erfolgte hier erst ab spezifischen Ozondosen von 1 g_{O3}/g_{DOC}. Ozondosen von 0,25 g_{O3}/g_{DOC} führten dagegen lediglich zu Reduktionen von 30 % ± 10 %. In Gruppe vier und fünf wurden die Substanzen eingeordnet, die lediglich über die indirekte Reaktion mit Hydroxylradikalen abgebaut werden und deren Reaktion mit Ozon vernachlässigbar ist. Hierzu gehören Atrazin (IV) und TCEP (V). Für Atrazin konnte mit einer spezifischen Ozondosis von > 1,5 g_{O3}/g_{DOC} nur noch eine Reduktion von durchschnittlich 83 % erreicht werden, wohingegen diese spezifische Ozondosis für TCEP nur für eine Elimination von 25 % ± 6 % ausreichte. (Lee et al. 2013)

Eine Information über die Reaktionsfähigkeit einer Substanz mit Ozon oder Hydroxylradikalen wird üblicherweise über die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante zweiter Ordnung erhalten. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_{O3} beschreibt hierbei die Geschwindigkeit der direkten Reaktion mit Ozon und k_{OH} die der indirekten Reaktion mit Hydroxylradikalen.

Die Reaktion eines Stoffes während der Ozonung kann wie in Formel 1 dargestellt beschrieben werden (Sonntag und Gunten 2012):

Formel 1

$$\ln\left(\frac{[S_t]}{[S_0]}\right) = -k_{O_3} \cdot \int [O_3] \cdot dt - k_{OH} \cdot \int [OH] \cdot dt$$

Dabei stellt [S] die Konzentration des Spurenstoffes, $\int[O_3]\cdot dt$ die Ozon- und $\int[OH]\cdot dt$ die OH-Radikalexposition dar.

Die Reaktionskonstanten der Reaktion mit Ozon k_{O3} weisen Werte im Bereich von 10^{-1} l/(mol$_{O3}$·s) bis über 10^{9} l/(mol$_{O3}$·s) auf (Schaar et al. 2011). Generell sind Substanzen mit $k_{O3} > 10^4$ $M^{-1}s^{-1}$ gut auf dem direkten Reaktionsweg umzusetzen und benötigen nur geringe Ozondosen. Stoffe, die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten $k_{O3} < 10^4$ $M^{-1}s^{-1}$ aufweisen sind dagegen deutlich persistenter und der Umsatz erfolgt vorrangig über die Reaktion mit Hydroxylradikalen. Zur Bildung einer ausreichenden Menge an Hydroxylradikalen sind jedoch höhere Ozondosen nötig. (Antoniou et al. 2013; Huber et al. 2003; Lee et al. 2013; Zimmermann et al. 2011b) Die Reaktion mit Hydroxylradikalen verläuft generell schneller als die direkte Reaktion mit Ozon. Die Reaktionskonstanten der Radikalreaktionen k_{OH} liegen im Bereich von 10^8 l/(mol$_{OH\bullet}$·s) bis 10^{10} l/(mol$_{OH\bullet}$·s). Die breite Streuung der Geschwindigkeitskonstanten, insbesondere für die direkte Reaktion, hängt mit der Selektivität der Ozonreaktion zusammen. Beispielsweise liegt der Wert für Carbamazepin nach Abegglen et al. (2009b) bei $3\cdot10^6$ l/(mol$_{O3}$·s), für Diclofenac bei $6{,}8\cdot10^5$ l/(mol$_{O3}$·s) und für Benzotriazol bei nur ca. 10^2 l/(mol$_{O3}$·s).

Nach Lee et al. (2013) können die Spurenstoffe entsprechend ihrer Geschwindigkeitskonstanten folgendermaßen in die zuvor vorgestellten Gruppen eingeteilt werden:

- Gruppe 1 : $k_{O3} \geq 10^5$ $M^{-1}s^{-1}$;
- Gruppe 2: $10 \leq k_{O3} < 10^4$ $M^{-1}s^{-1}$;
- Gruppe 3: $k_{O3} < 10$ $M^{-1}s^{-1}$ und $k_{OH} \geq 5 \cdot 10^9$ $M^{-1}s^{-1}$;
- Gruppe 4: $1 \cdot 10^9$ $M^{-1}s^{-1} \leq k_{O3} < 5 \cdot 10^9$ $M^{-1}s^{-1}$;
- Gruppe 5: $k_{O3} < 1 \cdot 10^9$ $M^{-1}s^{-1}$.

Weitere Geschwindigkeitskonstanten ausgewählter Substanzen sowie erreichbare Eliminationen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Reaktionskonstanten 2. Ordnung [k_{O3} und k_{OH}] für verschiedene Spurenstoffe

	Reaktionsgeschwindigkeitskonstante		erreichbare Elimination (vgl. Arge, 2013)		
Spurenstoff	$k_{O3,pH=7}$ [$M^{-1}\cdot s^{-1}$]	$k_{OH,pH=7}$ [$M^{-1}\cdot s^{-1}$]	$z_{spez.}$ = 0,3–0,5 [g_{O3}/g_{DOC}]	$z_{spez.}$ = 0,6–0,8 [g_{O3}/g_{DOC}]	$z_{spez.}$ = 1,0–1,2 [g_{O3}/g_{DOC}]
Atenolol[2)]	$1{,}7\cdot10^{3}$	$8{,}0\cdot10^{9}$	-	-	-
Carbamazepin[3)]	$3{,}0\cdot10^{5}$	$8{,}8\cdot10^{9}$	70 %	85 %	> 90 %
Diazepam[3)]	0,75	$7{,}2\cdot10^{9}$	-	-	-
Diclofenac[3)]	$1{,}0\cdot10^{6}$	$7{,}5\cdot10^{9}$	70 %	> 95 %	> 95 %
Ibuprofen[3)]	9,6	$7{,}4\cdot10^{9}$	-	-	-
Iopamidol[1)]	0,8	$3{,}4\cdot10^{9}$	0 %	< 10 %	< 10 %
Metoprolol[2)]	$2{,}0\cdot10^{3}$	$7{,}3\cdot10^{9}$	20 %	70 %	90 %
Naproxen[3)]	$2{,}0\cdot10^{5}$	$9{,}6\cdot10^{9}$	-	-	-
Sulfamethoxazol[3)]	$2{,}5\cdot10^{6}$	$5{,}5\cdot10^{9}$	50 %	80 %	> 90 %

1) (Baus et al. 2004)
2) (Benner et al. 2008)
3) (Huber et al. 2003)

Die Ozondosis spielt somit die entscheidende Rolle bei der Reduktion von Spurenstoffen. Neben der für die Reaktion bereitstehenden Ozonkonzentration ist jedoch auch die zur Verfügung stehende Reaktionszeit bzw. die hydraulische Aufenthaltszeit im Reaktor (HRT) zu beachten, über welche das erforderliche Volumen der Anlage berechnet wird (z. B. Kompetenzzentrum Mikroschadstoffe.NRW 2016). Die Größe eines Reaktors wird über das Zehrungsvermögen des Abwassers bestimmt, damit der Austrag von im Abwasser gelöstem Ozon vermieden wird und eine vollständige Reaktion der Abwasserinhaltsstoffe stattfinden kann. Je größer die Reaktionszeit gewählt wird, desto vollständiger kann das Oxidationsmittel ausgenutzt werden. Das Zehrungsvermögen eines Abwassers wird hauptsächlich durch die Qualität des Abwassers beeinflusst. Hierbei spielt sowohl die Qualität als auch die Quantität der organischen Hintergrundbelastung, häufig durch den DOC gemessen, eine entscheidende Rolle. Hohe Konzentrationen organischer Hintergrundbelastungen führen zu einer starken Zehrung Ozons durch das Abwasser. Ein weiterer ozonzehrender Stoff, der im Ablauf der Nachklärung auftreten kann ist Nitrit. Nitrit reagiert

schnell mit Ozon zu Nitrat ($k_{O3, NO2} = 3{,}7 \cdot 10^5\ M^{-1}s^{-1}$), wodurch dieses nicht mehr für die Reduktion von Spurenstoffen zur Verfügung steht. (Abegglen und Siegrist 2012; Gunten 2003) Die Zehrung von Ozon wird des Weiteren vom pH-Wert und der Temperatur des Abwassers beeinflusst. Ozon zerfällt bei hohen pH-Werten schnell zu Hydroxylradikalen, während es im sauren Milieu relativ stabil ist (Abegglen und Siegrist 2012). Die Erhöhung der Temperatur führt ebenfalls zu einem steigenden Ozonzerfall (Schaar et al. 2011).

Die Angaben über eingesetzte Kontaktzeiten variieren zwischen 5 Minuten (Abegglen et al. 2009b) und 30 Minuten (Herbst et al. 2011). Die kurze Kontaktzeit von 5 Minuten wurde im Rahmen eines Projekts auf der Kläranlage Regensdorf aufgrund der vorhandenen Bausubstanz realisiert (Abegglen et al. 2009b). Auf der Kläranlage Duisburg-Vierlinden wurde der Ozonreaktor dagegen mit einer Aufenthaltszeit von 30 Minuten bemessen, um im gleichen Reaktor, nach der Reaktion von Ozon mit den Abwasserinhaltsstoffen, die gebildeten Transformationsprodukte abzubauen (Herbst et al. 2011). Eine vom Kompetenzzentrum Mikroschadstoffe.NRW (2016) herausgegebene Broschüre zur Planung und Dimensionierung von Anlagen zur Spurenstoffelimination empfiehlt bei mittlerem Trockenwetterzufluss eine Aufenthaltszeit von 15–30 Minuten im Ozonreaktor, wobei diese für sehr stark zehrendes Abwasser auf bis zu 10 Minuten verkürzt werden kann. Bisher erfolgte die Gestaltung einiger Ozonanlagen (z. B. Bad Sassendorf, Neugut und Regensdorf) als Rührkesselkaskade mit mehreren Ozoneintragskompartimenten. Ergebnisse der Versuche auf der Kläranlage Bad Sassendorf zeigten jedoch, dass im Normalfall auch ein Kompartiment ausreicht, um die benötige Ozondosis einzubringen (ARGE 2014)

Für den großtechnischen Betrieb einer Anlage zur Ozonung ist der Einsatz geeigneter Betriebs- und Überwachungsstrategien relevant, die eine Abschätzung der Wirksamkeit der Anlage ermöglichen. Mögliche Steuerungs- und Regelungsmechanismen für die Ozondosierung sind z. B. die volumenproportionale Dosierung, die Dosierung proportional zum DOC, die Dosierung in Abhängigkeit der Restozonkonzentration oder eine Regelung über die relative SAK_{254}-Abnahme.

Für die volumenproportionale Dosierung wird eine feste Ozondosis vorgesehen und die Feed-Gas-Fracht so angepasst, dass diese Dosis kontinuierlich und unabhängig vom zufließenden Volumenstrom dem Abwasser zugeführt wird. Die volumenproportionale Ozondosierung ist die einfachste Variante, birgt jedoch auch große Unsicherheiten, da die Abwasserzusammensetzung nicht in Betracht gezogen wird. Sinnvoll ist diese Dosierungsart bei kleinen Anlagen mit relativ konstanter Abwasserzusammensetzung. (Abegglen und Siegrist 2012; Fleiner et al. 2015)

Der Dosierung des Ozoneintrags proportional zur DOC Konzentration unterliegt die Annahme, dass die DOC-Konzentration als Maß für die organische Verschmutzung des Abwassers und somit potenzieller Konkurrenzreaktionen geeignet ist. Auf Basis einer vorgegebenen spezifischen Zehrung (g_{O3}/g_{DOC}) und der DOC-Fracht erfolgt eine an die Hintergrundbelastung angepasste Ozonzugabe. Allerdings ist die online-Messung des DOC vergleichsweise aufwendig. (Fleiner et al. 2015)

Die Dosierung des Ozons in Abhängigkeit der im Wasser gemessenen Ozonkonzentration wird in der Trinkwasseraufbereitung angewendet, da hier ein Zusammenhang zwischen der freien Ozonkonzentration im Wasser und der Keimreduktion besteht (U.S. EPA. 1986). Die Ozondosis wird bei diesem Verfahren in Abhängigkeit der gemessenen Ozonkonzentration angepasst. Es muss allerdings sichergestellt werden, dass eine Mindestozonkonzentration im Reaktor vorliegt, woraus je nach Messort eine Überdosierung resultieren kann (Abegglen und Siegrist 2012). Ein Vorteil dieser Methode ist, dass das Zehrungsverhalten des Wassers mitberücksichtigt wird. Jedoch ist diese Dosierung nicht für geringe Ozondosen geeignet, da dann kein Ozon mehr in der flüssigen Phase gemessen werden kann. (Fleiner et al. 2015)

Im Bereich der Spurenstoffelimination wird die Regelung mittels SAK_{254}-Abnahme intensiv untersucht (Altmann et al. 2014; ARGE 2014; Lee et al. 2013). Viele durch Ozon oxidierbare Verbindungen absorbieren Licht mit einer Wellenlänge von 254 nm. Durch Ozon werden diese aromatischen Systeme oder Doppelbindungen gespalten, weshalb es zu einer Reduktion des SAK kommt. Dadurch kann nicht nur die Ozondosierung geregelt werden, sondern auch der Umsatz der Abwasserinhaltsstoffe durch Ozon überprüft werden. (Abegglen und Siegrist 2012; Fleiner et al. 2015) Diese Abhängigkeit konnte z. B. für die schnell und moderat reagierenden Substanzen Diclofenac und Metoprolol im Rahmen der Untersuchungen auf den Kläranlagen Bad Sassendorf und Schwerte festgestellt werden (ARGE 2014). Nachteilig ist hierbei, dass zwei Messgeräte erforderlich sind, die aufeinander abgestimmt werden müssen. (Fleiner et al. 2015) Zahlreiche, bereits existierende bzw. innerhalb von Forschungsvorhaben betriebene Ozonanlagen (z. B. ARA Neugut oder das Projekt IST4R, vgl. Jekel et al. 2016) zeigen, dass diese Technik erfolgreich zur Spurenstoffelimination eingesetzt werden kann. In der Schweiz wurde auf der Abwasserreinigungsanlage Neugut in Dübendorf die Regelung BEAR (Schachtler und Hubaux 2016) entwickelt, welche sich hauptsächlich auf die Reduktion des SAK stützt. Ob der erhöhte Messaufwand und damit auch Wartungsaufwand eine ausreichende Verbesserung der Wirtschaftlichkeit bedingt, bleibt aber weiterhin zu überprüfen.

2.3.3 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen

Ozon wird beispielsweise in der Trinkwasseraufbereitung aufgrund seiner oxidierenden Wirkung für eine Vielzahl von Mikroorganismen als Mittel zur Reduzierung der Keimbelastung eingesetzt. Auf Kläranlagen wurde die Ozonung in den vergangenen Jahren vermehrt mit dem Ziel der Spurenstoffelimination getestet. Dennoch bleibt die Keimreduzierung ein positiver Nebeneffekt des Verfahrens, der in der Abwasserbehandlung nicht abschließend untersucht ist (Gamage et al. 2013).

In der aktuellen Literatur gibt es kontroverse Angaben bezüglich der Wirksamkeit der Ozonung zur Keimreduktion von Abwasser. Die ARGE (2014) stellte während Untersuchungen zur Spurenstoffelimination und Keimreduktion an großtechnischen Anlagen auf Kläranlagen fest, dass keine we-

sentliche Keimreduktion durch die Ozonung stattfindet. Abegglen et al. (2009a) berichten dagegen von einer guten Keimreduktion infolge der Ozonung mit dem Ziel der Spurenstoffelimination. Die Reaktion von Ozon mit den Zellbestandteilen der Mikroorganismen erfolgt, analog zur Reaktion von Ozon mit weiteren Abwasserinhaltsstoffen, sowohl über die direkte Oxidation mit Ozon als auch über die indirekte Reaktion durch Hydroxylradikale (Dodd 2012; Lüddeke et al. 2015; Zhuang et al. 2015; Zimmermann et al. 2011a). Für die Reduktion der Mikroorganismen ist es wichtig, dass diese ausreichend geschädigt sind, damit keine Reparaturmechanismen der Zelle greifen können. (Sonntag und Gunten 2012)

Der Erfolg der Keimreduktion während der Ozonung ist stark von den einzelnen Mikroorganismen und deren Resistenz gegenüber der Ozonung abhängig (Sonntag und Gunten 2012). Xu et al. (2002) konnten im Rahmen ihrer Untersuchungen mit Abwasser beobachten, dass Clostridien während der Ozonung auch bei sehr hohen Ozondosen von 25–30 mg_{O3}/l nur um 1,2–1,7 log-Stufen eliminiert werden. Die Belastung des Abwassers mit coliformen Bakterien konnte dagegen mit derselben hohen Ozondosis um bis zu 4,4 log-Stufen und Enterokokken um bis zu 3,6 log-Stufen vermindert werden. (Xu et al. 2002) Innerhalb der zuvor genannten Untersuchungen der ARGE (2014) wurde festgestellt, dass *E. coli* an zwei großtechnischen Versuchsanlagen zur Ozonung von Abwasser mit dem Ziel der Spurenstoffelimination im Mittel um 1–1,5 log-Stufen und Enterokokken um 1,4–1,7 log-Stufen reduziert wurden. Ternes et al. (2003) führten Versuche zur Spurenstoffelimination durch, wobei ebenfalls die Reduktionsleistung der Ozonung hinsichtlich der Keime untersucht wurde. Der Einsatz von 5 mg_{O3}/l Ozon führte dazu, dass die Anzahl (KBE) der *E. coli* um 2,7 log-Stufen reduziert werden konnten. Durch eine Erhöhung der Ozondosis auf 10 mg_{O3}/l konnte der Reduktionsgrad für *E. coli* auf 3,7 log-Stufen gesteigert werden (Ternes et al. 2003). Die keimreduzierende Wirkung der Ozonung ist entsprechend ebenfalls maßgeblich von der Ozondosierung abhängig. Eine Erhöhung der Ozondosis führt im Allgemeinen dazu, dass eine verbesserte Keimreduktion erreicht wird.

Neben der Ozondosierung hängt die Reduktionsleistung der Ozonung jedoch des Weiteren von der Beschaffenheit und dem Zehrungspotenzial des Abwassers ab (Paraskeva und Graham 2002). Ein steigender Feststoffgehalt und eine steigende organische Hintergrundbelastung des Abwassers wirken sich negativ auf die Reduktionsleistung der Keime aus (U.S. EPA. 1999). Die im Abwasser vorliegenden Stoffe werden durch das eingeleitete Ozon oxidiert, wodurch sich ein Ozonbedarf des Abwassers ergibt. Zunächst werden die leicht oxidierbaren Substanzen umgesetzt und erst im Anschluss liegt gelöstes Ozon im Abwasser vor. Die zur Keimreduktion erforderliche Ozondosis sollte daher für das jeweilige Abwasser überprüft werden (Paraskeva und Graham 2002). Untersuchungen von Xu et al. (2002) auf einer Kläranlage in Indianapolis zeigten, dass Feststoffe nur einen geringen Einfluss auf den Ozonbedarf haben, wohingegen gelöste organische Substanzen ausschlaggebend für die benötigte Ozondosis zur Keimreduzierung sind.

Die DOC- bzw. die TOC-Konzentration besitzt nach Janex et al. (2000) den größten Einfluss aller Abwasserparameter auf die Keimreduktion. Zum Vergleich verschiedener Abwässer wird die eingesetzte Ozondosis auf die im Abwasser vorhandene DOC-Konzentration bezogen (spezifische Ozondosis [g_{O3}/g_{DOC}]) und so die Abwasserqualität berücksichtigt. Hier zeigt sich ebenfalls, dass eine steigende spezifische Ozondosis tendenziell zu einer Verbesserung der Reduktionsleistung führt. So wurden während der von Bahr et al. (2007) durchgeführten Pilotversuche am Ablauf der Berliner Kläranlage Ruhleben spezifische Ozondosen in einem Bereich 0,2–1 g_{O3}/g_{DOC} untersucht. Ab spezifischen Ozondosen von 0,4 g_{O3}/g_{DOC} konnte eine deutliche Reduktion der gesamten mikrobiellen Belastung des Abwassers beobachtet werden. Die Konzentration der gesamten coliformen Bakterien wurde um ca. 1,5 log-Stufen reduziert, die Konzentration der fäkalcoliformen Bakterien um ca. 2 log-Stufen. Eine Erhöhung der spezifischen Ozondosis auf 0,8 g_{O3}/g_{DOC} führte zu einer höheren Reduktionsrate von ca. 2,7 log-Stufen für die gesamten coliformen Bakterien und 2,5 log-Stufen für die fäkalcoliformen Bakterien (Bahr et al. 2007). Abegglen et al. (2009b) beobachteten in Regensdorf eine gute Reduktion der Gesamtkeimzahl durch die Ozonung. Eine vollständige Elimination der *E. coli* im Abwasser konnte mit einer spezifischen Ozondosis von 1,2 g_{O3}/g_{DOC} erreicht werden (Abegglen et al. 2009b). Funktionelle, übertragbare Dosis-Wirkungs-Beziehungen zur Reduzierung von Bakterien in Abwasser mittels Ozon konnten bisher jedoch weder für Bakterien noch für Viren aufgestellt werden, da der Zusammenhang zwischen der (spezifischen) Ozondosis und der Bakterienreduktion oft nur schwach vorhanden ist (Gamage et al. 2013; Savoye et al. 2001; Zimmermann et al. 2011b). So wird zwar ein qualitativer Zusammenhang zwischen einer zunehmenden spezifischen Ozondosierung und einer vermehrten Keimreduktion für *E. coli* beobachtet, ein funktioneller Zusammenhang ist jedoch nicht darzustellen. Insbesondere für die verschiedenen untersuchten Kläranlagen variieren die Ergebnisse stark, obwohl der Bezug zum DOC bzw. TOC zu einer vergleichbaren Ozondosierung für unterschiedliche Abwässer führen sollte. Eine spezifische Ozondosis von 0,25 g_{O3}/g_{DOC} führte im Rahmen der Untersuchungen von Gamage et al. (2013) z. B. für unterschiedliche Abwässer zu Reduktionen der *E. coli*- Konzentration von sowohl 0,6 als auch 4,5 log-Stufen.

Die benötigten spezifischen Ozondosen zur Keimreduktion werden, entsprechend dem Merkblatt DWA-M 205 „Desinfektion von biologisch gereinigtem Abwasser“ (Bleisteiner 2013), mit 0,5 g_{O3}/g_{DOC} bis 1 g_{O3}/g_{DOC} angegeben. Damit liegen die Vorschläge zur Dimensionierung einer Anlage zur Ozonung mit dem Ziel der Keimreduktion nah an denen mit dem Ziel der Spurenstoffelimination.

Schaar et al. (2013) beobachteten infolge einer Erhöhung der spezifischen Ozondosis von 0,6 g_{O3}/g_{DOC} auf 0,9 g_{O3}/g_{DOC} keine Zunahme der Reduktionsleistung für *E. coli* und Intestinale Enterokokken. Dies ist auf den sogenannten Tailing-Effekt zurückzuführen, der während der Behandlung von Abwasser mit Ozon bei der Keimreduktion beobachtet wird. Der Tailing-Effekt wird dadurch hervorgerufen, dass Zellbestandteile bereits inaktivierter Mikroorganismen Schutz vor den Ozonmolekülen liefern und eine Verminderung der Inaktivierung noch vitaler Mikroorganis-

men zur Folge haben (Bischoff 2013; Oberg 1995). Aber auch im Abwasser vorhandene Feststoffe können eine Ursache für den Tailing-Effekt darstellen. In den Feststoffen eingelagerte Mikroorganismen werden teilweise nicht durch das Ozon inaktiviert. Dieses Phänomen wird als Shielding bezeichnet, da die Mikroorganismen aufgrund der Schlammflocken bzw. anderer Feststoffe abgeschirmt werden. Daher ist die Entfernung der Feststoffe aus dem Abwasser eine wichtige Voraussetzung für eine gute Keimreduktion. (Savoye et al. 2001; Schumacher 2006)

Der Einfluss der Kontaktzeit auf die Effizienz der Keimreduktion ist als gering einzuschätzen. Versuche zur Reaktionszeit ergaben, dass die Keimreduktion hauptsächlich innerhalb der ersten Minuten erfolgt und eine Änderung der Kontaktzeit keinen Einfluss auf den Grad der Keimreduktion hat (Finch und und Smith 1990; Savoye et al. 2001; Tyrrell et al. 1995; Xu et al. 2002). Im Rahmen von Untersuchungen in einem Durchflussreaktor konnte nur im begasten Kompartiment eine Reduktion der Mikroorganismen beobachtet werden, wohingegen in den darauf folgenden Reaktionsbehältern keine weitere Verringerung der Keimbelastung erfolgte (Abegglen et al. 2009b; Schaar et al. 2013). Auch die Gegenwart von gelöstem Ozon im Reaktionsreaktor führte bei Untersuchungen von Abegglen et al. (2009b) zu keiner weiteren Verringerung der Keimbelastung. Diese Beobachtung lässt sich durch die Arbeiten von Xu et al. (2002) erklären, die zeigten, dass die hauptsächliche Keimreduktion im Rahmen der unmittelbaren Zehrung bzw. noch vor Erreichen einer Konzentration von freiem Ozon im Abwasser stattfindet (Xu et al. 2002).

Tyrrell et al. (1995) stellten fest, dass die Keimreduktion infolge der Ozonung für Abwasser durch die Erhöhung der Reaktionszeit ohne weitere Ozonzugabe keine Verbesserung zur Folge hatte. Heß und Gallert (2015) führten Laboruntersuchungen zur notwendigen Reaktionszeit von Ozon zur Keimreduktion durch. Im Batch-Maßstab wurde *E. coli* und Enterokokken enthaltendes Wasser mit einer Ozonkonzentration von 4 mg_{O3}/l beaufschlagt. Innerhalb der ersten 40 Sekunden fand eine Reduktion der Bakterien um 3–4 log-Stufen statt. Im Anschluss daran konnte keine weitere Reduktion der Bakterienkonzentration beobachtet werden, obwohl noch eine ausreichende Restozonkonzentration von 2 mg_{O3}/l im Abwasser nachgewiesen werden konnte (Heß und Gallert 2015). Im Merkblatt der DWA-M 205 wird die Mindestkontaktzeit mit 5–10 Minuten benannt. Weitere ausgewerteten Literaturquellen sehen ebenfalls eine Kontaktzeit in Höhe der für die Spurenstoffelimination üblichen Kontaktzeit von 15 Minuten bis 30 Minuten als ausreichend an. Ein wichtiger Faktor ist jedoch, dass keine Kurzschlussströmung im Reaktor vorliegt, da diese zu einer starken Beeinflussung des Reduktionsgrades führen kann (Sonntag und Gunten 2012; U.S. EPA. 1986).

Neben der Reduktion von Keimen im Rahmen der Ozonung wurde auch das Verhalten der antibiotikaresistenten Bakterien überprüft. In bisher veröffentlichten Studien wurden unterschiedliche Ergebnisse hierzu präsentiert. Lüddeke et al. (2015) beobachteten, dass die Ozonung zu einem erhöhten relativen Anteil antibiotikaresistenter *E. coli* und Staphylokokken führte. Im Rahmen dieser Untersuchungen nahm jedoch der Anteil an resistenten Enterokokken während der Ozo-

nung ab. Dies wurde auf die Abnahme an *E. faecium* während der Ozonung zurückgeführt. Der Ozonung nachgeschaltete Behandlungsstufen, wie beispielsweise ein Flockungsfilter, führten dagegen zu einem Anstieg des Anteils der resistenten *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken. Hierbei wurde jedoch festgestellt, dass die keimreduzierende Wirkung des Ozons die teileweise detektierte Zunahme des Anteils resistenter Keime überlagerte. Somit erfolgte innerhalb der weitergehenden Reinigungsstufe insgesamt eine Abnahme der Konzentration antibiotikaresistenter Keime um ca. 1 log-Stufe (Lüddeke et al. 2015).

Im Rahmen der Untersuchungen von Alexander et al. (2016) wurde in einem molekularbiologischen Setup eine Akkumulation untersuchter Antibiotikaresistenzgenen (ARGs) nach der Ozonbehandlung beobachtet. Mikroorganismen reagieren unterschiedlich und haben verschiedene Mechanismen, um auf den bakteriziden Effekt der Ozonbehandlung zu reagieren. Obwohl Enterokokken im Rahmen einer Studie von Alexander et al. (2016) um bis zu 99 % durch die Ozonung reduziert wurden, lagen auch im Anschluss an die Ozonung diese Bakterien im Abwasser vor. Hingegen wurde die Abundanz von *Pseudomonas aeruginosa* durch die Ozonung kaum beeinflusst. Das Erythromycin Resistenzgen ermB sank nach der Ozonung, wohingegen die Abundanzen des Vancomycin-Resistenzgens vanA und des ß-Lactamase Gens VIM anstiegen. Die Detektion der Antibiotikaresistenzgene erfolgte mit einer PCR Methode, bei der nicht die Gene der zuvor isolierten Bakterien untersucht wurden, sondern Gene aus einer Probe mit vielen Bakterien. Die Gene sind somit nicht eindeutig bestimmten Bakterien zuzuordnen. Weiterhin wurde festgestellt, dass vor allem GC-reiche (also das Basenpaar Guanin und Cytosin) Bakterien die Ozonung überlebten (Alexander et al. 2016). Entgegen der vorherigen Aussagen des Anstiegs von ARGs nach der Ozonung und der somit möglichen ausgeprägteren Robustheit der antibiotikaresistenten Mikroorganismen gegenüber Ozon wurde in einem Laborexperiment mittels Batch-Verfahren gezeigt, dass Bakterien, die Träger von einer oder mehrerer Antibiotikaresistenzen sind, keine höhere Toleranz gegenüber Ozon zeigten als Bakterien, die sensitiv gegenüber Antibiotika reagieren (Heß und Gallert 2015). Diese scheinbar widersprüchlichen Erkenntnisse über den Einfluss von Ozon auf ARGs machen deutlich, dass weiterhin Forschungsbedarf besteht.

2.3.4 Transformationsprodukte

Im Rahmen der Spurenstoffelimination werden die Spurenstoffe und übrigen Abwasserinhaltsstoffen nicht vollständige bis hin zu anorganischen Substanzen reduziert, sondern es findet primär eine Reduktion der Ausgangssubstanz statt, entsprechend dem primären Umsatz (Pinnekamp et al. 2015). In der Regel werden die meisten Abwasserinhaltsstoffe jedoch nicht vollständig abgebaut (mineralisiert), sondern in größtenteils unbekannte Transformationsprodukte umgesetzt (Abegglen et al. 2009a; Knopp et al. 2016; Sonntag und Gunten 2012). Da die Reaktions- und Zwischenprodukte der Spurenstoffe sowie der weiteren oxidierten Substanzen nicht alle endgültig vorhergesagt werden können, ist auch die Toxizität der Transformationsprodukte derzeit noch nicht vollständig geklärt. Die gebildeten Produkte sind häufig kleiner und polarer als ihre Aus-

gangsstoffe (Schumacher 2006) sowie besser bioverfügbar (Sonntag und Gunten 2012). Um die entstandenen biologisch abbaubaren Reaktionsprodukte sowie unerwünschte Nebenprodukte zurückzuhalten, hat es sich bewährt, eine weitere Reinigungsstufe, wie einen Sandfilter oder weitere biologisch wirksame Verfahren, nachzuschalten (Abegglen et al. 2009b; Abegglen und Siegrist 2012; ARGE 2014).

Neben den unbekannten Transformationsprodukten gibt es jedoch auch bekannte Abbauprodukte, wie das potenziell kanzerogene Bromat und die ebenfalls kanzerogenen N-Nitrosamine. Bromat wird während der Ozonung bromidhaltigen Abwassers gebildet (Gunten 2003). Der Grenzwert von Bromat liegt in der Trinkwasserverordnung bei 10 µg/l. Im Bereich der Oberflächengewässer ist kein Grenzwert definiert. Das Ökotoxzentrum der Schweiz schlägt sowohl für akute als auch für chronische Toxizität als Umweltqualitätsnorm (UQN) einen Wert von 50 µg/l Bromat als Umweltkonzentration vor (Ökotoxzentrum 2017). Obwohl dieser Grenzwert für die Ozonung von Kläranlagenabläufen nicht bindend ist, sollte die Einleitung von Bromat in Gewässer möglichst gering gehalten werden (Schumacher 2006).

Bromat (BrO_3^-) kommt auf natürliche Weise nicht in Oberflächengewässern vor, kann jedoch durch anthropogene Einflüsse in die aquatische Umwelt gelangen. Bromat weist in Wasser eine sehr hohe Persistenz auf und wird biologisch nur unter anaeroben Bedingungen reduziert. (Hutchinson et al. 1997). Ein potenzieller Eintragspfad ist die Einleitung von ozoniertem Abwasser in die Gewässer. Bromat wird während der Ozonung sowohl durch die direkte Reaktion als auch durch die indirekte Reaktion aus Bromid gebildet (Gunten 2003).

Die Bromatbildung während der Ozonung hängt von verschiedenen Faktoren ab; dazu gehören die Bromid-Ausgangskonzentration, die Ozondosis, die Hydroxylradikalexposition sowie die Ammoniumkonzentration und der pH-Wert (Gunten 2003; Haag 1984). Das Zusammenspiel der verschiedenen Einflussfaktoren führt dazu, dass die Vorhersage der zu erwartenden Bromatbildung nur eingeschränkt möglich ist (Gunten 2003). Zu unterscheiden sind Einflüsse infolge der verfahrenstechnischen Ausführung und der Abwasserqualität. Ein maßgeblicher Einflussfaktor bei der Bildung von Bromat ist die Ozondosis. Eine Erhöhung des Ozoneintrags führt oberhalb einer individuellen Schwellenkonzentration im Abwasser zur Bildung von Bromat, welche mit zunehmender Ozonkonzentration konstant ansteigt. Wert et al. (2007) geben diesen Schwellenwert mit der Konzentration des unmittelbaren Ozonbedarfs (instantaneous ozone demand = IOD) des Abwassers an, unterhalb dessen kein freies Ozon im Abwasser vorliegt. Die Bromatbildung ist zudem stark von der Ozonexposition abhängig. Eine hohe Konzentration an gelöstem Restozon über eine lange Zeitspanne führt dazu, dass mehr Bromat entstehen kann. Folglich hat neben der Ozondosis auch die Reaktionszeit einen Einfluss auf die Bromatbildung (Amy und Siddiqui 1999).

Das Bromid-Ion ist ein Edukt der Reaktion zu Bromat. Daher führt eine zunehmende Bromidkonzentration ebenfalls zu einer gesteigerten Bromatbildung. Dies führt auch zur Aussage, dass die Bromidkonzentration ein entscheidender Faktor für die Behandelbarkeit von Abwasser mit Ozon

ist (Soltermann et al. 2017; Song et al. 1996). Als ein weiterer Einflussfaktor auf die Bromatbildung werden im Wasser gelöste organische Stoffe, gemessen als DOC, angegeben. Wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, wird die Ozonzehrung in bedeutendem Maße durch die Reaktion der organischen Stoffe mit Ozon und OH-Radikalen bestimmt. Da hohe DOC-Konzentrationen (bzw. zehrende Stoffe) dazu führen, dass wenig freies Ozon in der Lösung vorhanden ist, bewirkt eine Erhöhung des DOC eine verringerte Reaktion von Bromid zu Bromat (Amy und Siddiqui 1999; Song et al. 1996).

In der Literatur werden verschiedene Möglichkeiten zur Reduktion der Bromatbildung während der Ozonung bzw. Entfernung des Bromats aus dem Abwasser im Anschluss an eine Ozonung aufgezeigt. Beispielhaft sind hierzu die Bromatkontrolle durch Ammoniumzugabe, durch eine Reduzierung des pH-Wertes oder durch eine angepasste Regelungsstrategie oder die Bromatreduktion durch Eisen(II)-Salz und Aktivkohle zu nennen (Siddiqui und Amy 1995). Diese Verfahren wurden bislang hauptsächlich im Bereich der Trinkwasseraufbereitung getestet. Nach Gunten (2003) können die Verfahren der pH-Wert-Anpassung sowie der Ammoniumdosierung zu einer Verminderung der Bromatreduktion um bis zu 50 % führen.

Die Ammoniumzugabe gilt als eine der effektivsten Methoden zur Reduktion der Bromatbildung während der Ozonung (Pinkernell und Gunten 2001b). Ammonium reagiert mit der im Zuge der Bromatbildung als Zwischenprodukt gebildeten hypobromigen Säure HOBr, weshalb die Bildung von Bromat vermindert wird. Mit zunehmender Ammoniumkonzentration wird auch die Bromatbildung reduziert (Gunten 2003; Lin et al. 2014). Dies ist bis zu einem bestimmten Schwellenwert der Ammoniumkonzentration der Fall; darüber hinaus ist keine weitere Steigerung der Bromatminimierung zu erwarten. Da Ammonium ausschließlich mit HOBr reagiert und nicht mit Ozon, ist für diesen Prozess keine Reduktion der Wirksamkeit der Ozonung zu erwarten (Pinkernell und Gunten 2001a, 2001b). Die Verminderung des pH-Werts greift ebenfalls in die Reaktion von Bromid zu Bromat ein. Durch die Absenkung des pH-Wertes wird das Gleichgewicht $HOBr/OBr^-$ verschoben und dadurch die Bromatbildung gestört (Gunten 2003). Die Verringerung des pH-Wertes führt somit zur Verminderung der Bromatbildung (Pinkernell und Gunten 2001b). Die Anpassung der Regelungsstrategie zur Verminderung der Bromatbildung baut darauf auf, dass bei hohen spezifischen Ozondosen und hoher Ozonexposition vermehrt Bromat gebildet wird. Entsprechend gilt es diese Zustände frühzeitig zu erkennen und den eingestellten c·t-Wert (Konzentration · Reaktionszeit) weitestgehend zu optimieren (Bouland et al. 2004). Da jedoch auch die Bromidkonzentration und weitere Parameter einen Einfluss auf die Bromatbildung haben ist die Bromatbildung nicht immer konkret vorherzusagen (Li et al. 2017).

Aktivkohle kann im Trinkwasser zur Reduktion von Bromat eingesetzt werden (Siddiqui und Amy 1995). Jedoch wirkt sich eine zunehmende organische Belastung des Wassers, wie sie im Abwasser vorliegt, negativ auf die Reduktion des Bromats aus, weshalb die Anwendung in Abwasser nicht sinnvoll ist (Gunten 2003). Dies ist auf die Konkurrenzreaktionen um die freien Adsorptionsplätze an der Aktivkohle zurückzuführen. Als weiteres Verfahren können Fe^{2+}-Ionen zu einer Re-

duktion des Bromats zu Bromid entsprechend des folgenden Reaktionsweges (Formel 2) führen (Siddiqui und Amy 1995).

Formel 2

$$BrO_3^- + 6Fe^{2+} + 6H^+ \rightarrow Br^- + 6Fe^{3+} + 3H_2O$$

Das reduzierend wirkende Fe^{2+} wird dabei zu Fe^{3+} oxidiert, fällt aus und lässt sich durch eine fest/flüssig Trennung (z. B. Filtration) abscheiden. Da das Wasser nach der Ozonierung sauerstoffgesättigt ist, kann es durch den gelösten Sauerstoff zur Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+} durch gelösten Sauerstoff kommen, wodurch ein Teil des Fe^{2+} dann nicht mehr zur Reduktion von Bromat zu Bromid zur Verfügung steht. Da die Reaktion von Fe^{2+} mit Bromat jedoch schneller abläuft als mit Sauerstoff, kann selbst in einem sauerstoffreichen Milieu prinzipiell eine Bromatreduktion stattfinden (Siddiqui und Amy 1995). Gute Reduktionen werden beispielsweise mit Fe^{2+}-Konzentrationen von ca. 10 mg/l erreicht. Dong et al. (2009) und Gunten (2003) empfehlen eine Eisensulfatkonzentration von 20 mg/l bei der Trinkwasseraufbereitung zur ausreichenden Reduktion der Bromatkonzentration einzusetzen. Insgesamt konnten sie eine Reduktion der Bromatkonzentration von über 60 % mit einer Eisensulfatkonzentration von 30 mg/l nachweisen.

Für den Einsatz auf großtechnischen Kläranlagen scheinen die Verfahren der Ammoniumdosierung und pH-Wert-Verringerung im Ablauf der Nachklärung trotz der guten berichteten Untersuchungsergebnisse jedoch nicht praxisrelevant. Beide Verfahren hätten Nachbehandlungen des Abwassers zur Folge, welche hohe Kosten hervorrufen würden. Im Rahmen des Projekts wurde die Ammoniumdosierung und die Eisen (II)-Salz-Dosierung als Verfahren zur Verminderung der Bromatbildung untersucht, vgl. Kapitel 5.4.4.

2.3.5 Ökotoxizität

Die große und vielfach unbekannte Bandbreite an Transformationsprodukten kann ausschließlich im Rahmen der chemischen Analytik nicht (zu einem wirtschaftlichen Maß) identifizieren werden, daher empfiehlt es sich alternativ oder begleitend ökotoxikologische Untersuchungen einzusetzen, um eine indirekte Kontrolle der Transformationsprodukte im Hinblick auf ihre Effekte bzw. Potenziale des Abwassers durchzuführen.

Zur raschen Erkennung der Toxizität von Abwasserproben findet der Einsatz von Mikroorganismen in Biotests mittlerweile eine breite Anwendung. Mikrobielle Verfahren, wie z. B. der Leuchtbakterientest, gehören wegen ihrer Schnelligkeit (3 h), Wirtschaftlichkeit, Einfachheit in der Handhabung und wegen ihrer Empfindlichkeit zu den wichtigen Screeningverfahren. Im Gegensatz dazu erlaubt der zeitaufwändigere Zellvermehrungshemmtest mit dem Leuchtbakterium *Aliivibrio fischeri*, aufgrund der Betrachtung verschiedener Endpunkte (Biolumineszenz und Wachstumshemmung) einen direkten Vergleich zwischen akuter und chronischer Toxizität. Als weitere Tests werden der Algen-Wachstumshemmtest und der Zellvermehrungshemmtest in Anlehnung an die

standardisierten Testverfahren zur Abwasserbewertung (DIN EN ISO 10712 1996; DIN EN ISO 8692 2012) als Mikrotiterplatten-Verfahren (24-/96-Well) angewendet (High-Throughput Testing). Der Einsatz dieser miniaturisierten Testverfahren erlaubt somit ein einfaches, schnelles und kostengünstiges ökotoxikologisches Screening von Abwasser- und Gewässerproben. Generell ist es im Rahmen des Langzeit-Biomonitorings von Vorteil, einen hohen Probendurchsatz zu gewährleisten.

Eine aktuelle Fragestellung ist, ob die Wirksamkeit einer weitergehenden Reinigungsstufe durch den Einsatz von Biotests bestätigt werden kann oder adverse Effekte beobachtet werden. Im Projekt „Metabolitenbildung beim Einsatz von Ozon“ wurde eine umfangreiche Biotestbatterie untersucht (Schmidt et al. 2014):

So wurden i. d. R. Verbesserungen durch die Ozonung bei der Zytotoxizität und der Östrogenität festgestellt. Nach Ozonung (im Vergleich zum Zulauf der Ozonung) wurden teilweise Effekte im Comet Assay nachgewiesen. Im Wachstumshemmtest konnte vermehrt nach der Ozonung eine verringerte Wachstumsrate festgestellt werden. Ein Toxizitätstest über 28 Tage mit *Lumbriculus variegatus* wies eine Reduzierung der Biomasse am Ablauf der Ozonung (im Vergleich zum Zulauf der Ozonung) auf. Bei der Untersuchung der akuten Toxizität wurden generell keine Effekte gefunden. Keine bis vereinzelte Effekte (Zu- und Ablauf Ozonung, demnach kein deutlicher Einfluss der Ozonung sichtbar) wurden für die Gentoxizität nachgewiesen. (Schmidt et al. 2014)

Hinsichtlich der Effizienzüberprüfung von erweiterten Abwasserbehandlungsverfahren im Rahmen der Untersuchungen am Kreiskrankenhaus Waldbröl wurde in den beiden rezeptorbasierten Testsystemen – ER CALUX® und L-YES – eine signifikante Reduktion der östrogenen Wirksamkeit durch Ozonung festgestellt. Zusätzlich konnten im H295R Steroidgenese-Assay, der inzwischen auch als OECD Guideline (OECD No. 456 2011) vorliegt, adverse Effekte auf die Steroidsynthese nachgewiesen werden (Maletz *et al.*, 2013).

Im Projekt SchussenAktiv*plus*, das die Untersuchung verschiedener weitergehender Kläranlagenreinigungsstufen beinhaltet, wurden unter anderem Tests bezüglich des anti-östrogenen und anti-androgenen Potenzials durchgeführt. Ein Ergebnis der Studie war, dass die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage anti-östrogenes Potenzial nicht eliminieren können. Dieses Potenzial wurde allerdings auch durch eine nachgeschaltete Ozonung nicht vollständig eliminiert. In der Studie von Türk et al. (2015) wurde ebenfalls festgestellt, dass sowohl anti-östrogene als auch anti-androgene Substanzen nicht durch den Einsatz von Ozon aus dem Abwasser entfernt werden konnten. Es erscheint demnach sinnvoll, auch das anti-östrogene, androgene und anti-androgene Potenzial mit zu untersuchen. Daher werden diese Testsysteme in Phase 2 des Projektes ebenfalls angewandt. Außerhalb des Projekts wurde begonnen aktuell die Daten zum anti-östrogene, androgene und anti-androgene Potenzial der Phase 1 im Institut für Umweltforschung zu generieren (nicht Bestandteil von Phase 1a oder 1b), um einen Vergleich der Phase 1 und Phase 2 zu gewährleisten.

Basierend auf den Ergebnissen der drei Mutagenitätstests für unterschiedliche trophische Ebenen – Bakterienzellen (Ames-Fluktuations Assay), Pflanzenzellen (Mikrokerntest), Säugerzellen (Comet Assay) – konnte im KomOzon-Projekt (Schaar et al. 2011) in Österreich nach Behandlung eines Kläranlagenablaufs mit Ozon kein Anstieg des gentoxischen Potenzials nachgewiesen werden. Untersuchungen in der Schweiz, die mit Zebramuscheln durchgeführt wurden, zeigten im Gegensatz dazu einen Anstieg der Mutagenität nach der Behandlung des Kläranlagenablaufs mit Ozon (Schaar et al. 2011).

Auch im EU PILLS-Projekt (pills 2011) wurde eine sehr umfangreiche Batterie von verschiedenen Biotests eingesetzt. Während auch in diesem Projekt die gute Reinigungsleistung der erweiterten Abwasserbehandlungsverfahren für die meisten Untersuchungsaspekte nachgewiesen werden konnte, zeigte sich jedoch ein signifikanter Anstieg unter anderem der Mutagenität (Ames-Fluktuations Assay, Stamm YG 7108) sowie eine Toxizität im Algen- und im Daphnienpopulationstest im Anschluss an die Ozonung.

Bei den Untersuchungen (pills 2011) stellte sich heraus, dass eine Batterie aus akuten und mechanismusspezifischen Biotests, *In vivo*- und *In situ*- Verfahren sowie mikrobiologische Methoden genutzt werden sollten, um alle potenziellen Schadwirkungen mit Sicherheit ausschließen zu können. Vergangene Projekte haben gezeigt, dass hinsichtlich der ökotoxikologischen Potenziale keinesfalls von einer Kläranlage und Abwasserbehandlungsmethodik auf andere geschlossen werden sollte, da u. U. Modes-of-Action übersehen werden könnten, die zu adversen Wirkungen gegenüber Organismen im Ökosystem oder gar dem Menschen führen können.

3 Experimentelles Design

Im Projekt DemO_3AC sind die beiden übergeordneten Ziele

- **die Evaluierung der Ozonung im Hinblick auf die Auswirkungen auf die Gewässerqualität und -biozönose sowie**
- **die verfahrenstechnische Optimierung der Ozonung.**

Der Kern des Projekts ist die Bewertung der Zustandsänderung der Kläranlage Aachen-Soers einschließlich des Vorfluters infolge der Implementierung der Ozonung bezogen auf den Status quo. Um diese Zustandsänderung darzustellen, werden vergleichende Untersuchungen auf der Kläranlage Aachen-Soers und deren Vorfluter, der Wurm, vor Ausgangslage und nach (also die relative Veränderung in Bezug auf die Ausgangslage) Inbetriebnahme der großtechnischen Demonstrationsanlage durchgeführt. Die Voruntersuchungen fanden im Rahmen der Phasen 1a und 1b (2015–2017) statt, die nachfolgenden Untersuchungen werden innerhalb der Phase 2 (2018–2019) größtenteils analog durchgeführt. Vor Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers befindet sich als einzige flussaufwärts liegende Kläranlage die Kläranlage Eilendorf. Daher wurden die Voruntersuchungen der Phase 1a um eine Phase 1b ergänzt, innerhalb derer die Vorbelastung flussaufwärts untersucht und die Datengrundlage um wesentliche Untersuchungen ergänzt wurde. Die gesamten Ergebnisse der Phase 1 (1a und 1b) werden in diesem Abschlussbericht zusammengefasst.

Um die effektbasierte Evaluierung der Ozonungsanlage durchzuführen, wird als Werkzeug eine umfangreiche Testbatterie eingesetzt. Diese Testbatterie vereint übergreifend unterschiedliche Disziplinen der Naturwissenschaften, um die Evaluierung aus möglichst vielen Blickwinkeln zu tätigen. Dieser integrierte Multibarriereansatz ist notwendig, um der Komplexität der Aufgabenstellung gerecht zu werden. Der übergreifende Aufbau des Projekts ist in Abbildung 2 dargestellt.

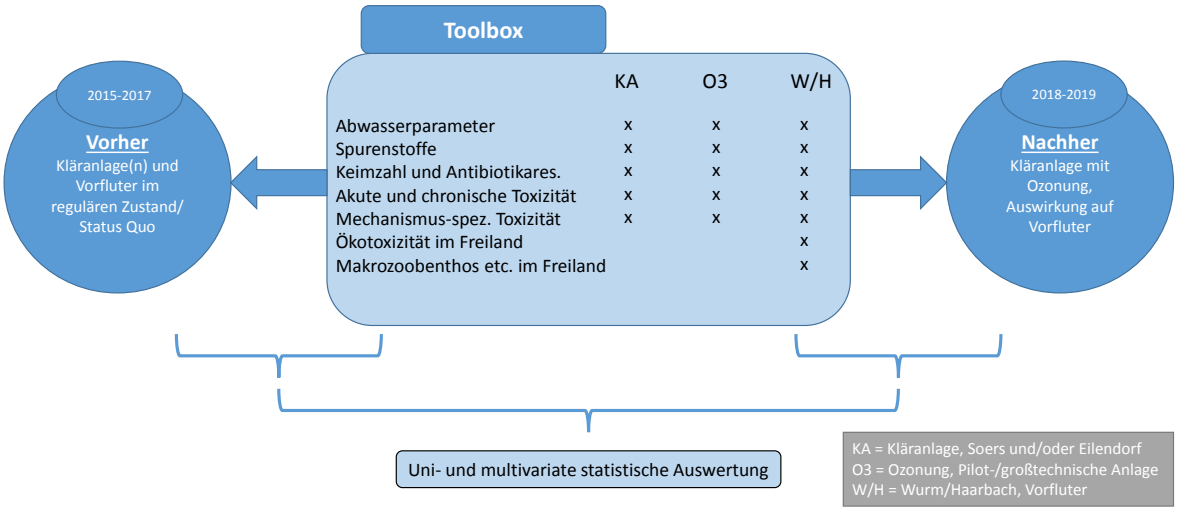

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Projektaufbaus als relativer Bezug der Zustandsänderung (Implementierung einer großtechnischen Ozonungsanlage) zur Ausgangslage (Ist-Zustand der Kläranlage und des Vorfluters) mit den jeweils eingesetzten Bewertungswerkzeugen

Die Toolbox zeigt die übergeordneten Bewertungskategorien einschließlich einer Markierung, ob diese Untersuchungen zur Bewertung der Kläranlage, der Ozonung oder der beiden untersuchten Vorfluter angewendet wurde. Den jeweiligen Kategorien in der Toolbox sind zahlreiche Einzeltests oder Substanzen der folgenden Bereiche hinterlegt:

Über die Abwasser- oder Standardparameter wird die jeweilige Abwassermatrix bewertet, die sich bereits über den Tagesverlauf stark verändern kann. Die Abwassermatrix hat mitunter große Auswirkungen auf das Ergebnis eines Untersuchungsgegenstands, wie beispielsweise die Spurenstoffelimination in der Ozonung. Abwasserparameter dienen bei jeder Untersuchung zur Charakterisierung des zur Analyse verwendeten Abwassers.

Die Spurenstoffanalytik ist Kern der Toolbox, denn die Motivation des Projekts ist primär, dass Spurenstoffe reduzieren werden sollen. Der Analytikdatensatz umfasst bis zu 60 Einzelsubstanzen. Im Laufe des Projekts wurden überdies Indikatorsubstanzen festgelegt, die anstelle der gesamten Palette der Einzelsubstanzen für verschiedene Fragestellungen eingesetzt werden.

Die Bestimmung der Keimzahl, auch für (multiple) antibiotikaresistente Keime, dient zur Bewertung der Reinigungsleistung der Kläranlage und der Ozonung in Bezug auf hygienische Parameter und wird zudem zur Bewertung der Auswirkung einer biologischen Behandlung im Anschluss an die Ozonung eingesetzt.

Sämtliche Tests zur Ökotoxizität ergänzen die chemische Analytik insbesondere im Punkt der Effektbewertung, da die Analytik von allen Transformationsprodukten, die bei der Ozonung entstehen können, nicht wirtschaftlich und/oder umsetzbar ist. Weiterhin gibt die Analyse eines Transformationsproduktes nicht zwangsläufig eine Auskunft über dessen Auswirkung auf Organismen oder eventuelle Auswirkungen ausgehend von Mischungstoxizitäten. Die ökotoxikologische Test-

batterie wird demnach eingesetzt, um den Einfluss von schädlichen Faktoren im Abwasser als Komposition (ozoniert oder nicht ozoniert) auf Zellen und/oder Organismen abzuschätzen. Die jeweiligen Wirkmechanismen unterliegen komplexen Prozessen, da nicht jeder Stoff auf jeden Organismus oder jede Zelle gleich wirkt. Es empfiehlt sich daher, eine breit gefächerte Biotestbatterie einzusetzen, die auch Freilanduntersuchungen umfasst. In DemO_3AC werden unter anderem Untersuchungen zum Fraßverhalten und zur Reproduktion sowie zur Ökotoxizität bei Fischen durchgeführt.

Im Freiland werden neben ökotoxikologischen Potenzialen *in situ* auch die Zusammensetzung verschiedener Lebensgemeinschaften über die Beprobung von Makrozoobenthos, Makrophyten und Phytobenthos untersucht. Auch diese Beobachtungen liefern eine indirekte Einschätzung der als Gesamtheit wirkenden Einflussfaktoren, wie beispielweise den Einfluss der gesamten Kläranlageneinleitung inklusive Spurenstoffen und Nährstoffen oder den Eigenschaften (pH-Wert, Temperatur) des Kläranlagenablaufs. Hierbei werden die Einflüsse über einen längeren Zeitraum integrierend erfasst, so dass hier auch schwächere und/oder chronische Veränderungen aufgezeigt werden können.

Eine übergeordnete Auswertung findet anhand uni- und multivariater statistischer Auswertungen statt, sowohl innerhalb einer Projektphase als auch phasenübergreifend (am Ende der Phase 2). Mittels statistischer Auswertungen sollen korrelationsbasierte Zusammenhänge identifiziert werden. Beispiele für untersuchte Zusammenhänge sind Korrelationen von chemischen Substanzen und deren ökotoxikologischen Auswirkungen, ein Vergleich von Spurenstoffkonzentrationen oder Effekten verschiedener Testverfahren in Abhängigkeit der Probenahmestelle (wie vor und nach Kläranlageneinleitung in den Vorfluter).

Eine Übersicht der durchgeführten Messkampagnen im Rahmen der ersten Projektphase liefert Kap. 4.2.

4 Material und Methoden

4.1 Untersuchungsgebiet

Der Wasserverband Eifel-Rur betreibt 44 Kläranlagen, von denen die größte Kläranlage im Verbandsgebiet mit einer Ausbaugröße von 458.300 Einwohnerwerten die Kläranlage Aachen-Soers ist. Dort werden bis zu 25 Mio. m³/a Abwasser überwiegend mechanisch-biologisch gereinigt (chemische Reinigung z.B. über den Einsatz von Fäll- und Flockungsmitteln).

Der Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers wird in den Vorfluter Wurm geleitet. Die Wurm ist ein silikatischer Mittelgebirgsbach, der im Aachener Wald entspringt und über weite Strecken im Stadtgebiet verrohrt ist. Unterhalb der Verrohrung am Europaplatz liegt die Wasserführung der Wurm bei MNQ bei 0,078 m^3/s (Pegel Kalkofen, (ELWAS-WEB 2017)). Bis zum Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers fließen der Wurm noch der Haarbach (MNQ = 0,07 m^3/s am Pegel Haaren; (ELWAS-WEB 2017)) und der Wildbach zu. Unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers macht das gereinigte Abwasser dieser Anlage dann bis zu 70 % der Wasserführung der Wurm aus (MKULNV 2014).

Am zufließenden Haarbach befindet sich die Kläranlage Aachen-Eilendorf. Da im Rahmen der im Projekt laufenden Untersuchungen eine starke Vorbelastung in der Wurm festgestellt worden ist, wurde das ursprüngliche Untersuchungsgebiet um diese Kläranlage und den Haarbach erweitert. Die Kläranlage Eilendorf hat eine Ausbaugröße von 87.000 EW und behandelt 4,5 Mio. m³ Abwasser pro Jahr. Hierzu zählt neben kommunalem Abwasser auch das Abwasser eines ansässigen Pharmaunternehmens. Die Kläranlage Eilendorf ist verfahrenstechnisch ähnlich aufgebaut wie die Kläranlage Aachen-Soers (vgl. Kap. 5.1.2). Ihr Anteil an eingeleitetem gereinigtem Abwasser am Abfluss des Haarbachs beträgt bei MNQ ca. 77 %. Das Abflussverhältnis zwischen Haarbach und Wurm liegt an der Mündung des Haarbachs in die Wurm bei fast 1:1 (ELWAS-WEB 2017; MKULNV 2014).

Insgesamt ist die Wurm daher alleine durch die Kläranlageneinleitungen sehr stark abwassergeprägt. Als weitere Abwassereintragspfade leiten auch Mischwasserbehandlungsanlagen in die Wurm ein. Innerhalb dieses Projekts wird das Regenüberlaufbecken (RÜB) Soers untersucht, da es aufgrund seiner Lage und des Abschlagsverhaltens von großer Relevanz für den betrachteten Gewässerabschnitt ist. Der potenziell erhebliche Einfluss des RÜB Soers auf die Wurm hinsichtlich hydraulischer und stofflicher Belastung ergibt sich aus seinem Abschlagverhalten. Das RÜB schlägt vergleichsweise häufig ab: an 40 oder mehr Tagen im Jahr (Auswertung ab 2015) werden mit einer Gesamtsumme des Abschlagsvolumens von über 1,2 Mio. m^3/a (2015 & 2016) erhebliche Mengen Mischwasser in das Gewässer eingeleitet. Das RÜB Soers befindet sich vor dem Gelände der Kläranlage Aachen-Soers und wurde im Rahmen des Projekts aufgrund seiner relevanten Gewässerbeeinflussung gesondert untersucht (vgl. Kap. 5.2). Das Speichervolumen des RÜB Soers

beträgt 10.000 m³ und zusätzlich kann ein weiteres Volumen von 6.200 m³ im Kanal genutzt werden.

Auf der Kläranlage Aachen-Soers wurden der Zulauf (nach dem Rechen), der Ablauf der Nachklärung und der Ablauf des Filters, der dem Ablauf der Kläranlage entspricht, untersucht. Auf der Kläranlage Eilendorf wurden die Messstellen Zulauf und Ablauf der Kläranlage ausgewählt. Als Grundlage für eine Machbarkeitsstudie wurden darüber hinaus auch der Zulauf der Biologie und der Ablauf der Nachklärung der Kläranlage Eilendorf beprobt und auf Abwasserparameter und Spurenstoffe hin untersucht.

Im Untersuchungsgebiet wurden zahlreiche Probenahmestellen in der Wurm (W1 bis W5), im Haarbach (H1 und H2) sowie auf den Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf untersucht. Das gesamte Untersuchungsgebiet mit den Kläranlagen- und Gewässerprobenahmestellen ist in Abbildung 3 zu sehen. Weiterhin zeigt Abbildung 3 die Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf sowie das RÜB Soers. Abbildung 4 und Abbildung 5 stellen das relevante Einzugsgebiet (10.127,8 ha) der Wurm bezogen auf Landnutzungsarten dar. Die größten Flächenanteile machen Landwirtschaft, Wohnbaufläche und Wald aus (vgl. Tabelle 4).

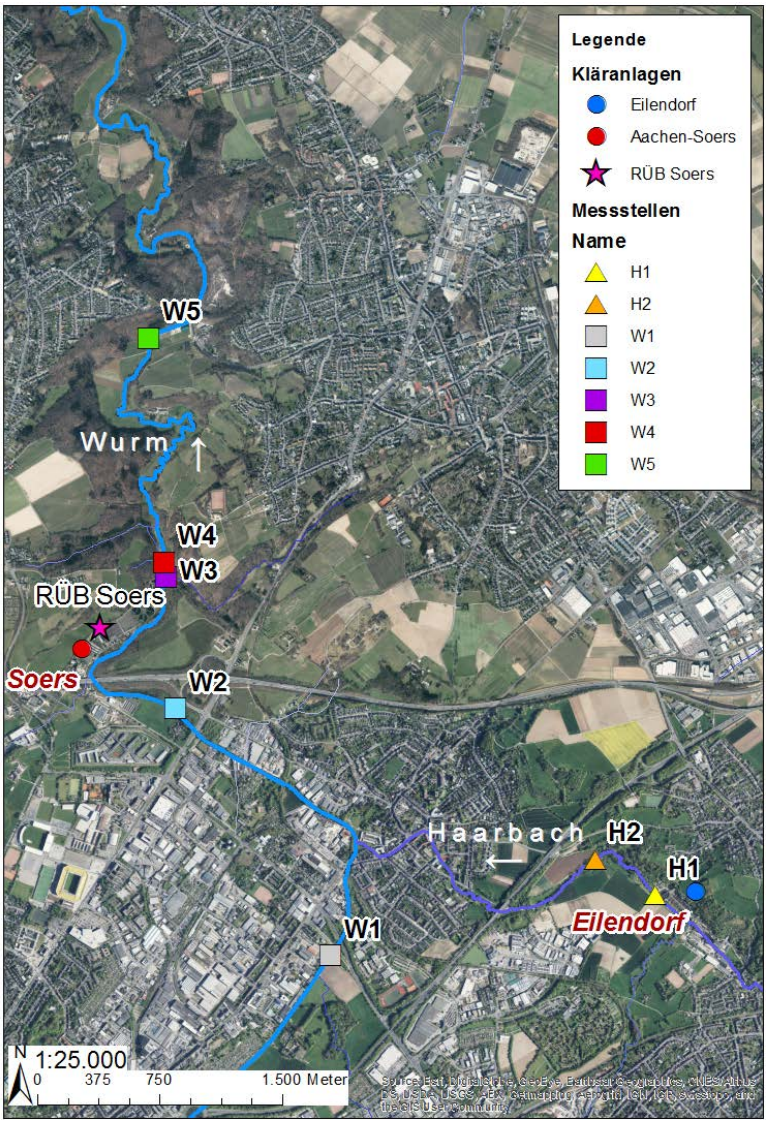

Abbildung 3: Untersuchungsgebiet DemO$_3$AC mit Abwasseranlagen und Gewässerprobenahmestellen (Esri 2016)

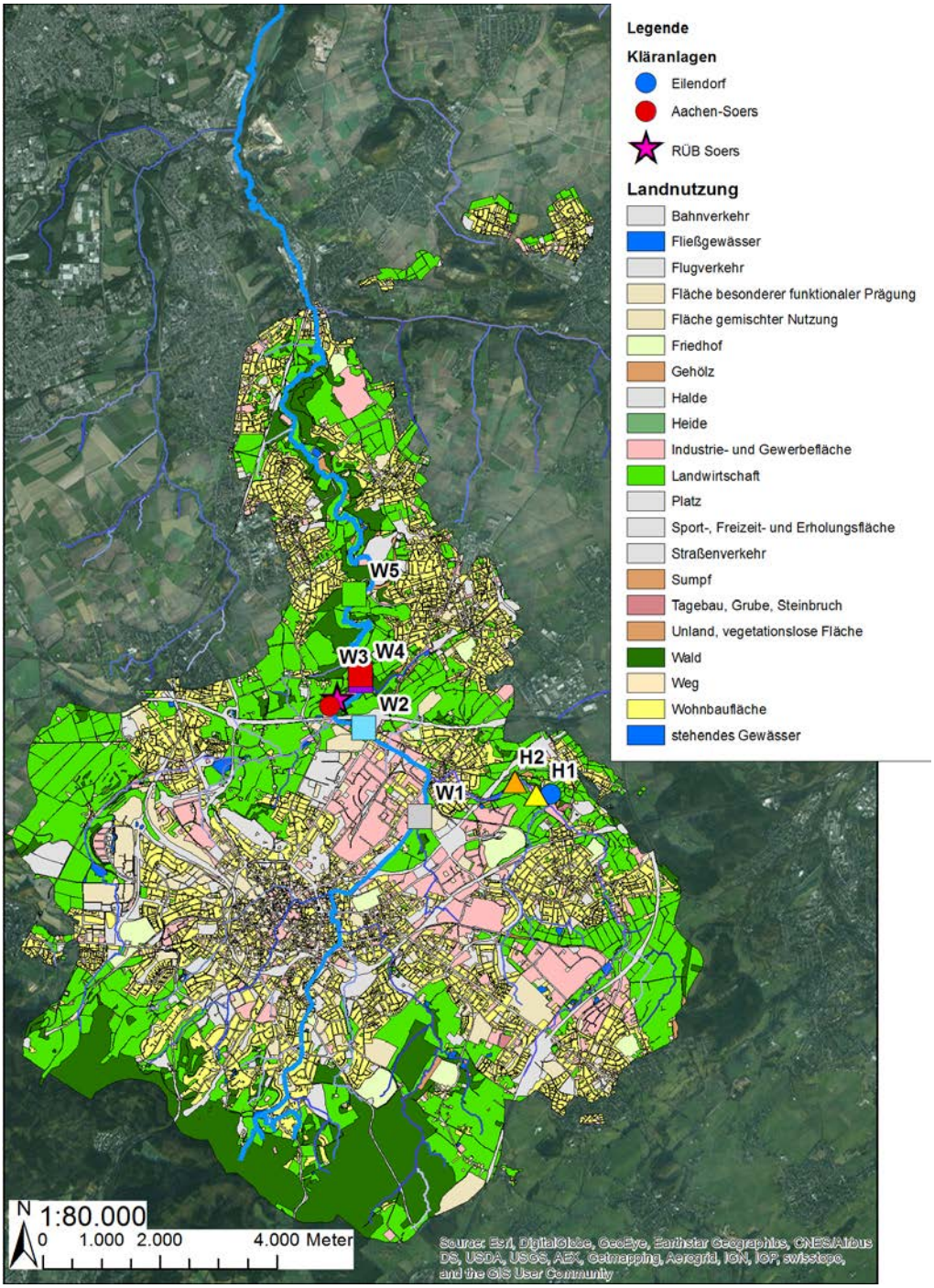

Abbildung 4: Landnutzung im Einzugsgebiet der Wurm (Esri 2016)

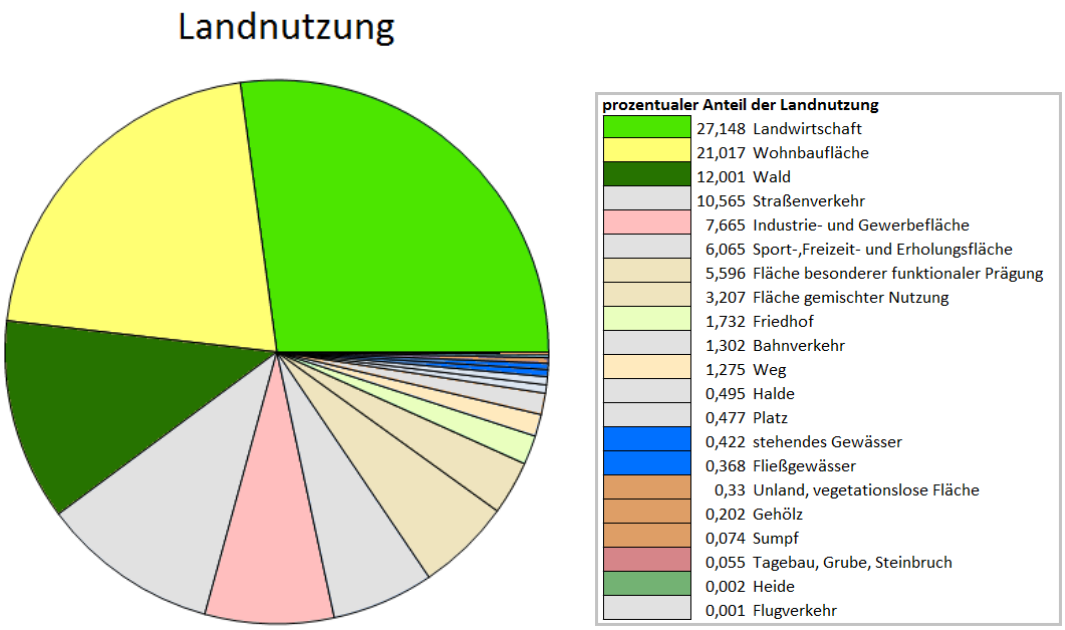

Abbildung 5: Prozentuale Flächenanteile der Landnutzung im Einzugsgebiet der Wurm (Esri 2016)

Tabelle 4: Flächenanteile in ha der fünf stärksten Landnutzungsarten im Einzugsgebiet der Wurm

Landnutzungsart	Fläche [ha]
Landwirtschaft	2.750
Wohnbaufläche	2.129
Wald	1.215
Straßenverkehr	1.070
Industrie- und Gewerbefläche	776

Obwohl die Wurm kurz nach der Quelle zunächst kanalisiert durch das Stadtgebiet verläuft, ist insgesamt auch eine landwirtschaftliche Prägung vorhanden. Spurenstoffmessungen an der Stelle H1, also vor Kläranlageneinleitung, ergaben bereits Befunde von Substanzen aus unterschiedlichen Gruppen, also neben Substanzen, die typischerweise diffusen Quellen zugeordnet werden (darunter fällt beispielsweise die Landwirtschaft), auch z. B. Pharmaka (typischerweise aus Haushalten, vgl. Kap. 5.3).

4.2 Untersuchungsprogramme in den Projektphasen 1a und 1b

Die in diesem Abschlussbericht vorgestellten Ergebnisse fassen die Untersuchungen aus den Phasen 1a und 1b zusammen. Phase 1a lief über 2 Jahre (2015 bis 2016) und Phase 1b im Jahr 2017. Beide Phasen beinhalten die Ergebnisse umfangreicher Messprogramme, von denen jeder Messtag im Bericht als „Screening“ bezeichnet wird.

Im Projekt DemO$_3$AC wurden die Daten auf zwei grundlegende Arten ausgewertet: erstens sehr detailliert in Bezug auf einzelne Ereignisse und generelle Trends, um beispielsweise den Einfluss der jeweiligen Wetterbedingungen o. ä. auszuwerten und zweitens statistisch, wobei dafür gezielt auf statistische Mittel zurückgegriffen wurde (z. B. Median, arithmetisches Mittel, Varianz etc.). Die Screenings werden durchnummeriert, um einen Vergleich zwischen den verschiedenen Testverfahren zu ermöglichen. Tabelle 5 liefert eine Übersicht ausgewählter Randbedingungen (Zulaufmenge, Wetter etc.) der Screenings sowie den jeweils angewandten Untersuchungsumfang.

Tabelle 5: Übersicht der durchgeführten Screenings

Projekt-phase	Screening	Durchführung	Wetter	Q_{zu} Soers	Q_{zu} Eilendorf	Q_{Wurm} vor KA-Einleitung	$Q_{Haarbach}$ vor KA-Einleitung	Untersuchungsumfang		
				m³/d	m³/d	m³/s	m³/s	SpSt AbwP	K ABR	ÖTx
1a (2015-2016)	1-1	07/2015	TW	69.236	-	0,226	-	X	-	X
	1-2	09/2015	RW	103.770	-	0,724	-	X	-	X
	1-3	11/2015	RW	71.489	-	0,62	-	X	X	X
	1-4	04/2016	TW	64.481	-	0,389	-	X	X	X
	1-5	10/2015	RW	56.130	-	0,54	-	X	X	-
	1-6	03/2016	RW	128.607	-	1,028	-	X	X	-
	1-7	04/2016	TW	67.667	-	0,265	-	X	X	-
	1-8	04/2016	TW	68.327	-	-	-	X	X	-
	1-9	05/2016	TW	70.757	-	0,389	-	X	-	-
	1-10	05/2016	RW	198.401	-	2,35	-	X	-	-
	1-11	07/2016	TW	69.877	-	-	-	X	-	-
	1-12	08/2016	TW	63.645	-	-	-	X	-	-
	Wochengang, 7 SCR	11/2015	RW + TW	62.145-138.351	-	1,065*	-	X	-	-
	Tagesgang	02/2016	TW	80.936	-	-	-	X	-	-
	Tagesgang	04/2016	RW	159.322	-	-	-	X	-	-
	1-13 (72h)	03/2016	TW	73.723*	-	-	-	X	-	-
	1-14 (72h)	04/2016	RW	98.401*	-	-	-	X	-	-
	1-15 (72h)	04/2016	TW	67.825*	-	-	-	X	-	-
	1-16 (72h)	06/2016	RW	158.990*	-	-	-	X	-	-
	1-17 (72h)	07/2016	RW	71.536*	-	-	-	X	-	-
	1-18 (72h)	08/2016	TW	61.462*	-	-	-	X	-	-
1b (2017)	2-1	03/2017	TW	67.617	8.939	0,393	0,024	X	X	X
	2-2	05/2017	RW	147.293	20.698	0,702	0,027	X	X	X
	2-3	06/2017	RW	84.245	9.183	0,248	0,006	X	X	X
	2-4	08/2017	TW	55.631	6.274	0,129	0,003	X	X	X

*Mittelwert über Messzeitraum

Die Proben der Screenings auf den Kläranlagen wurden als volumenproportionale 24 h-Mischproben genommen. Die Beprobung der Vorfluter erfolgte aus technischen Gründen in Form von Stichproben. Hygienische Parameter wurden überdies in gesonderten sterilen Stichproben untersucht.

Als Trockenwetterkriterium wurde die in Nordrhein-Westfalen gesetzlich festgelegte Ermittlungsmethode gewählt. Demnach herrscht Trockenwetter, wenn am Tage der Messung und am Tage davor die Niederschlagshöhe < 0,3 mm beträgt. Die Niederschlagsmessung erfolgte auf dem Gelände der Kläranlage Aachen-Soers. Die Zulaufmengenmessungen zur Kläranlage sind in diesem Zusammenhang ein guter Indikator für die jeweils vorherrschenden Bedingungen, da zum Beispiel

auch eine dem Trockenwetter vorangegangene Regenperiode noch längere Zeit einen messbaren Nachlauf aufweisen kann.

Zusätzlich zu den Einzelereignissen wurden zwei Tagesgänge bestehend aus je zwölf 2 h-Mischproben aufgenommen sowie sechs Screenings über 72 h (zeitproportionale Probenahme). Um den Verlauf über eine Woche zu erfassen, wurden sieben Screenings unmittelbar hintereinander durchgeführt.

Obwohl das RÜB Soers ca. 40 Mal im Jahr in die Wurm entlastet, wurde kein bemerkenswertes Ereignis in den Screenings in Phase 1a erfasst. Vor dem Screening 1-10 fand ein kleineres, nahezu vernachlässigbares Abschlagsereignis statt. Aus diesem Grund wurde in Phase 1b das RÜB Soers gesondert untersucht und ein zusätzliches Screening zur Bewertung des RÜB-Abschlags durchgeführt.

SCR 2-1 wurde während einer längeren Trockenperiode durchgeführt. SCR 2-2 fand während eines Regenereignisses statt, dem eine mehrtätige Trockenperiode vorausging. In der Nacht vor der Probenahme fand überdies ein Abschlagsereignis des RÜB (Einleitung etwa bei der Stelle W3) statt. SCR 2-3 wurde während einer mehrtägig anhaltenden Regenwetterperiode durchgeführt und SCR 2-4 während kurzzeitigen Trockenwetters, das zwischen einer Regenwetterperiode vorherrschte.

Die Untersuchungen der Lebensgemeinschaften in der Wurm (Makrozoobenthos, Phytobenthos, Diatomeen und Makrophyten) erfolgte in von den Screenings unabhängigen Messkampagnen.

In Phase 1b wurde darüber hinaus ein sogenanntes Monitoring der Kläranlage Eilendorf durchgeführt, das aus fünf Messkampagnen bei Trockenwetter besteht. Das Monitoring dient als Datengrundlage für eine Machbarkeitsstudie zur Überprüfung der technischen Umsetzbarkeit einer großtechnischen Behandlungsstufe zur Spurenstoffelimination auf der Kläranlage Eilendorf. Die Daten des Monitorings werden im Zusammenhang mit der Machbarkeitsstudie vorgestellt (vgl. Kap. 8.1, Anlage 2).

Die Messkampagnen und der jeweilige Untersuchungsumfang im Rahmen der Pilotversuche zur Ozonung von Abwasser sind in Kap. 4.5 bzw. in Tabelle 9 ff. aufgeführt.

4.3 Abwasserparameter

Die Analyse der abwassertechnischen Standardparameter erfolgte im Labor des WVER auf der Kläranlage Aachen-Soers und die Messung von Bromid im Labor des WVER auf der Kläranlage Düren-Merken. Die Analyseverfahren zum jeweiligen Parameter mit Hinweis auf angewandte Normen o. ä. sind Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Analyseverfahren der abwassertypischen Standardparameter

Parameter	Norm	System-Nr.
Färbung 436 nm als SAK 436 nm	(DIN EN ISO 7887 2012)	C1
Trübung	(ISO 7027 1999)	C2
SAK 254 nm	(DIN 38404-3 2005)	C3
Temperatur	(DIN 38404-4 1976)	C4
pH-Wert	(DIN EN ISO 10523 2012)	C5
Leitfähigkeit	(DIN EN 27888 1993)	C8
Nitrit-Stickstoff	(DIN EN 26777 1993)	D10
Phosphor gesamt	(DIN EN ISO 6878 2004)	D11
Phosphat gelöst (ortho-P)	(DIN EN ISO 6878 2004)	D11
Ionenchromatographie (Bromid, Chlorid, Sulfat, Nitrit, Nitrat)	(DIN EN ISO 10304 2009)	D20
Gesamthärte (Ca, Mg)	(DIN 38406-3 2002; DIN 38409-6 1986)	E3, H6
Ammonium-Stickstoff (photometrisch)	(DIN 38406-5 1983)	E5-1
Sauerstoff gelöst (optisch)	(DIN ISO 17289 2014)	G25
abfiltrierbare Stoffe	(DIN 38409-2 1987)	H2
TOC/DOC/NPOC	(DIN EN 1484 1997)	H3
Stickstoff gesamt (TNb)	(DIN EN 12260 2003)	H34
Säure- und Basekapazität, KS 4,3	(DIN 38409-7 2005)	H7
Dr. Lange Küvettentests	**Testsatz**	**Messbereich**
CSB	LCK 314	15-150 mg/l
NO_3-N	LCK 339	0,23-13,5 mg/l
NO_3-N	LCK 340	5-35 mg/l
CSB	LCK 414	5-60 mg/l
CSB	LCK 514	100-2000 mg/l

4.4 Spurenstoffe

Die Analytik der Spurenstoffe umfasst insgesamt 60 Parameter, die mit verschiedenen Verfahren bestimmt werden. Die Substanzen werden unter folgende neun Gruppen zusammengefasst, welche jeweils mit der gleichen Methode analysiert werden können:

- Pharmaka,
- endokrin wirksame Substanzen (EDC),
- Pflanzenschutzmittel (PSM),
- Röntgenkontrastmittel (RKM),
- Phtalate,
- Organozinnverbindungen,
- Komplexbildner,
- Flammschutzmittel und
- phosphororganische Verbindungen.

Die Methoden zur Quantifizierung der entsprechenden Spurenstoffe werden, sofern es keine durch Verordnungen standardisierten Verfahren sind, nachfolgend dargestellt.

Die Pharmaka werden mittels Festphasenextraktion (solid phase extraction – SPE) aus dem Wasser extrahiert und angereichert. Nach Elution der SPE Kartuschen werden die Substanzen mit Hilfe der Flüssigchromatographie getrennt und anschließend mit einem Massenspektrometer detektiert und quantifiziert.

Folgende Geräte kommen zum Einsatz:

- Autotrace SPE Workstation (Thermo Fisher Scientific)
- TurpoVap LV (Biotage)
- LC/MS-System (Orbitrap, Thermo Fisher Scientific) - Steuerung und Auswertung mittels Xcalibur Software
- Oasis HLB-SPE-Kartuschen 60 mg, Waters, N-Vinylpyrrolidon-Divinylbenol-Kopolymer
- HPLC Trennsäule: Hypersil Gold aQ 150 x 2.1 mm 5µ (Thermo Fisher Scientific)

Die Probenahme erfolgt in Glasgefäßen, um evtl. Verluste durch Adsorption zu vermeiden. Zur Verhinderung von mikrobiellem Abbau wurden die Proben direkt weiterverarbeitet. Ist dies nicht möglich, werden sie bei -20 °C gelagert und spätestens nach 48 Stunden mittels SPE extrahiert. Auf SPE Kartuschen extrahiertes Probenmaterial ist bei -20 °C drei Monate ohne Verluste lagerbar.

Zur Anreicherung der Wirkstoffe auf eine SPE Kartusche wird eine Autotrace SPE Workstation verwendet. Um eine Verblockung des Gerätes zu vermeiden werden die Proben vor der Anreicherung durch einen Membranfilter (Porengröße 0,45 µm) filtriert. Die SPE erfolgt mittels N-Vinylpyrrolidone-Divinylbenol-Kopolymer SPE-Kartuschen (Oasis HLB 60 mg). Die Konditionierung wird bei einer Fließgeschwindigkeit von 2 ml/min zuerst mittels 5 ml Methanol und dann mit 5 ml MilliQ-Wasser durchgeführt. Das anzureichernde Probenvolumen ist vom TOC-Gehalt der Probe abhängig, bis zu einer TOC-Konzentration von 200 mg_C/l können 100 ml Proben angereichert werden (Anreicherungsfaktor 1:100). Nachdem die Proben bei einem Fluss von 5 ml/min angereichert sind, werden die SPE Kartuschen im Stickstoffstrom für 30 min getrocknet. Die Analyten werden mit einem Fluss von 2 ml/min mit jeweils 2 ml Methanol, 2 ml Methanol mit 5 mM Ammoniumacetat und nochmals 2 ml Methanol wieder eluiert. Das Eluat wird bei 60 °C im Stickstoffstrom zur Trockne eingeengt und anschließend mit 0,5 ml Methanol und 0,5 ml Wasser rekonditioniert. Die Kartuschen werden verworfen. Als Eluenten bei der chromatographischen Trennung dienen Methanol mit 2 mM Ammoniumacetat und 0,1 % Essigsäure und Wasser mit 2 mM Ammoniumacetat und 0,1 % Essigsäure. Das Injektionsvolumen beträgt 10 µl, zur chromatographischen Trennung wird eine Hypersil Gold aQ Säule (125·2,1 µm) verwendet.

Die Quantifizierung erfolgt im HR-SIM Modus, wobei die entsprechenden Massenspuren mit einer Toleranz von 10 mmu aus dem Totalionenstrom extrahiert werden. Die Identifizierung der Wirk-

stoffe erfolgt über die parallele Aufnahme der MSMS-Spektren. Die Auswertung erfolgt über die Quantifizierungsmassen. Durch Vergleich der Peakflächen von Standard und Probe sowie unter Berücksichtigung der Verdünnungsfaktoren wird der Gehalt in der Probe automatisch, mit Hilfe der Software Xcalibur berechnet. Die Nachweisgrenze der Stoffe liegt bei 10 ng/l.

Wegen verschiedener interner Standards und einer separaten Auswertemethode muss separat die gleiche Probenvorbereitung und chromatographische Trennung für die Pflanzenschutzmittel durchgeführt werden.

Die Probenvorbereitung und Analytik für die endokrin wirksamen Substanzen erfolgt analog. Als Anreicherungskartusche kommt hier eine C18 SPE Säule zum Einsatz. Die HPLC-Trennsäule ist eine Betasil C18 (150·2,1 µm), die Eluenten sind Methanol und Wasser.

Zur Bestimmung der Röntgenkontrastmittel werden die Proben zunächst mit Schwefelsäure auf pH 3,5 angesäuert. Die Anreicherung erfolgt analog zur Anreicherung der Pharmaka, als SPE-Kartusche wird eine ENV+SPE-Kartusche verwendet. Die chromatographische Trennung erfolgt über eine Accucore Phenyl-X (100·2,1 µm) Trennsäule, als Eluenten werden Methanol und Wasser eingesetzt, jeweils mit 0,5 % Ameisensäure.

Phtalate werden gemäß der DIN EN ISO 18856 (2005) und Organozinnverbindungen gemäß DIN EN ISO 17353 (2005) quantifiziert.

Für die Bestimmung der Komplexbildner wird ein definiertes Volumen (100 ml) der abgesetzten Wasserprobe zur Trockne gebracht. Der Komplexbildner wird zu Methylester umgesetzt, in eine organische Phase überführt und mittels GC-MS detektiert. Zur Probe wird CyDTA-Lösung als interner Standard hinzugegeben. 100 ml Probe werden im Trockenschrank zur Trockne gebracht und der Rückstand mit 10 ml Salzsäure (1 mol/l) aufgenommen und quantitativ in ein 12 ml-Probefläschchen (CSB-Röhrchen) überführt. Die Lösung wird im Heizblock bei 90 °C unter einem kontinuierlichen Stickstoffstrom zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird mit 1 ml Veresterungsreagenz versetzt, das Gefäß verschlossen und für mindestens 60 min in den Heizblock gestellt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden 5 ml NaOH (1 mol/l) und 1 ml Dichlormethan zugegeben. Nach der Phasentrennung wird der Dichlormethan-Extrakt mit einer 1 ml-Spritze abgenommen und in ein 1,5 ml-Probenvial gegeben.

Folgende Geräte und Einstellungen werden für die GC-MS-Analytik verwendet:

- Gaschromatograph: HP 6890
- Autosampler: CTC CombiPal xt
- Injektionsvolumen: 2 µl splitless
- Injektor: 280 °C
- Temperaturprogramm: 60 °C (3 min); 10 °C/min auf 280 °C (5 min)
- Trennsäule: SGE HT8, 50 m Länge, 0,22 µm FD, 0,25 mm ID
- Fluss: 1 ml/min konstant

- Transferline: 280 °C
- Massenspektrometer: Finnigan MAT 95 XL
- Resolution: 8.000–10.000
- Ionisierung: EI positiv
- Temperatur Ionenquelle: 240 °C
- Scanmethode: MID
- Ionisierung: EI positiv
- Temperatur Ionenquelle: 240 °C
- Software: Thermo XCalibur® 2.0 HR

Die Bestimmungsgrenze liegt bei 0,5 µg/l.

Die phosphororganischen Verbindungen werden per Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS) bestimmt.

Folgende Geräte kommen zur Anwendung:

- Thermo Finnigan MAT95 und CTC CombiPal xt Autosampler
- Stationäre Phase: SGE HT8, 50 m Länge, 0,22 µm FD, 0,25 mm ID
- Injektor: Split/Splitless, 260 °C Injektortemperatur; Splitlessinjektion, Trägergas Helium 40 cm/min.
- Temperaturprogramm: 60 °C, 3 min. isotherm – 12 °C/min bis 200 °C – 5 °C/min bis °C, 5 min isotherm – 10 °C/min bis 300 °C, 10 min, isotherm
- Zymark AutoTrace

Als interner Standard wird D27-Tributylphosphat eingesetzt. Tris(2-chlorisopropyl)-phosphat und Tritolylphosphat liegen als Isomerengemische vor und werden als Isomerenpeakgruppe integriert. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 10 ng/l. Die Probenahme wird in 2,5 l-Braunglasflaschen vorgenommen, womit die Proben im Kühlschrank ca. 7 Tage lagerfähig sind. Die angereicherten Extrakte werden kühl gelagert. Zur Probenvorbereitung wird 1 Liter der Probe mittels Membranfilter filtriert, mit 100 µl internem Standard 1 mg/l D27-TBP-Lsg. versetzt und über das Autotrace-Gerät auf einer HR-P Festphase der Fa. Macherey-Nagel angereichert. Die Festphasen werden nach Anreicherung im Stickstoffstrom getrocknet. Die Elution erfolgt mit 3 ml und 2 ml Ethylacetat. Nach der Anreicherung wird das Ethylacetat-Eluat unter Stickstoff am Thermostaten (max. 40 °C) auf unter 1 ml eingedampft. Der Rückstand wird mit Ethylacetat auf 1 ml aufgefüllt und in ein Vial transferiert. Gemessen wird am GC-MS-System im Selected Ion Monitoring (SIM).

4.5 Pilotanlage zur Ozonung von Abwasser

An der Pilotanlage auf der Kläranlage Aachen-Soers wurden von September 2015 bis Juli 2017 Untersuchungen zur Ozonung von Abwasser durchgeführt. Schwerpunkt dieser Untersuchungen war die Ermittlung der für die Spurenstoffelimination erforderlichen Ozondosis sowie der Einfluss

der Reaktionszeit und der Abwassermatrix auf den Spurenstoffabbau. Als weiterführende Untersuchungsinhalte wurden die Reduktion von Mikroorganismen und deren Antibiotikaresistenzen, die Bildung von Bromat als Transformationsprodukt der Ozonung und die Auswirkung der Ozonung auf das öko- und zelltoxikologische Potenzial des Abwassers betrachtet.

Die Pilotanlage zur Ozonung des Ablaufs der Nachklärung auf der Kläranlage Aachen-Soers wurde im Rahmen des Projekts DemO_3AC vom Wasserverband Eifel Rur erworben und für die Versuchsdurchführung bereitgestellt (vgl. Abbildung 6). Die Pilotanlage wurde auf dem Kläranlagengelände im Anschluss an die Nachklärung aufgestellt, um lange Förderwege des zu behandelnden Abwassers zu vermeiden. Die Anlage besteht aus einer Kontaktsäule und zwei weiteren Reaktorsäulen mit einem Durchmesser von jeweils 400 mm und einer Höhe von ca. 5 m. Ein Verfahrensfließbild der Anlage ist in Abbildung 7 dargestellt.

Die Beschickung der Pilotanlage erfolgte mit Abwasser aus dem Ablauf der Nachklärung. Das Abwasser wurde zunächst über eine Kolbenpumpe in einen Vorlagebehälter gefördert. Anschließend wurden die Ozonreaktoren mit Hilfe einer Kreiselpumpe beschickt. Zunächst wurde zur Beschickung der Ozonanlage das Abwasser direkt aus dem Ablaufgerinne der Nachklärung gefördert, in dem alle vier Nachklärbecken zusammenlaufen. Während der ersten Monate kam es hierbei jedoch zu regelmäßigen Störungen der Anlage, da durch den starken Algenwuchs im Ablaufgerinne der Nachklärung Algen in die Anlage gefördert wurden und die Kreiselpumpe blockierten. Das Abwasser für den Zulauf zur Ozonanlage wurde daher seit November 2015 aus dem Zulauf zur Nachnitrifikation entnommen. An der neuen Entnahmestelle liegt eine hohe Strömung vor, sodass dort weniger Algen wachsen können. Davon abgesehen entspricht das Abwasser an dieser Stelle in seinen Eigenschaften dem Abwasser aus dem gemeinsamen Ablauf der vier Nachklärbecken. Die Kolbenpumpe wurde so eingestellt, dass der Überlauf des Vorlagebehälters ständig aktiviert ist. Dadurch wurde ein Trockenlaufen der Kreiselpumpe vermieden. Die Förderleistung der Kreiselpumpe betrug bis zu 10 m^3/h. Das führt dazu, dass eine minimale hydraulische Verweilzeit in der Ozonanlage von ca. 13 Minuten eingestellt werden konnte.

Der Reinsauerstoff, als Edukt der Ozonerzeugung, wurde in einem Sauerstofftank gespeichert und nach Bedarf in den Ozongenerator (GSO 30 der Firma Xylem) geleitet. Die Ozonkonzentration im eingeleiteten Gas wurde über die angelegte Spannung im Ozongenerator eingestellt und mit einem nachfolgenden Ozonmessgerät überprüft. Der Gasvolumenstrom wurde konstant bei 1 m^3/h gehalten. Die Ozonkonzentration im Off-Gas sowie die Ozonkonzentration im Abwasser im Ablauf des Entgasungsreaktors wurden permanent über Sensoren gemessen (die Messung der Ozonkonzentration im Abwasserablauf wies teilweise Funktionsstörungen auf). Weitere Messeinrichtungen waren eine Temperatur-, pH-Wert-, SAK_{254}-, SAK_{436}-, DOC- und AFS-Messung im Zulauf und im Ablauf der Ozonanlage.

Abbildung 6: Pilotanlage zur Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers.

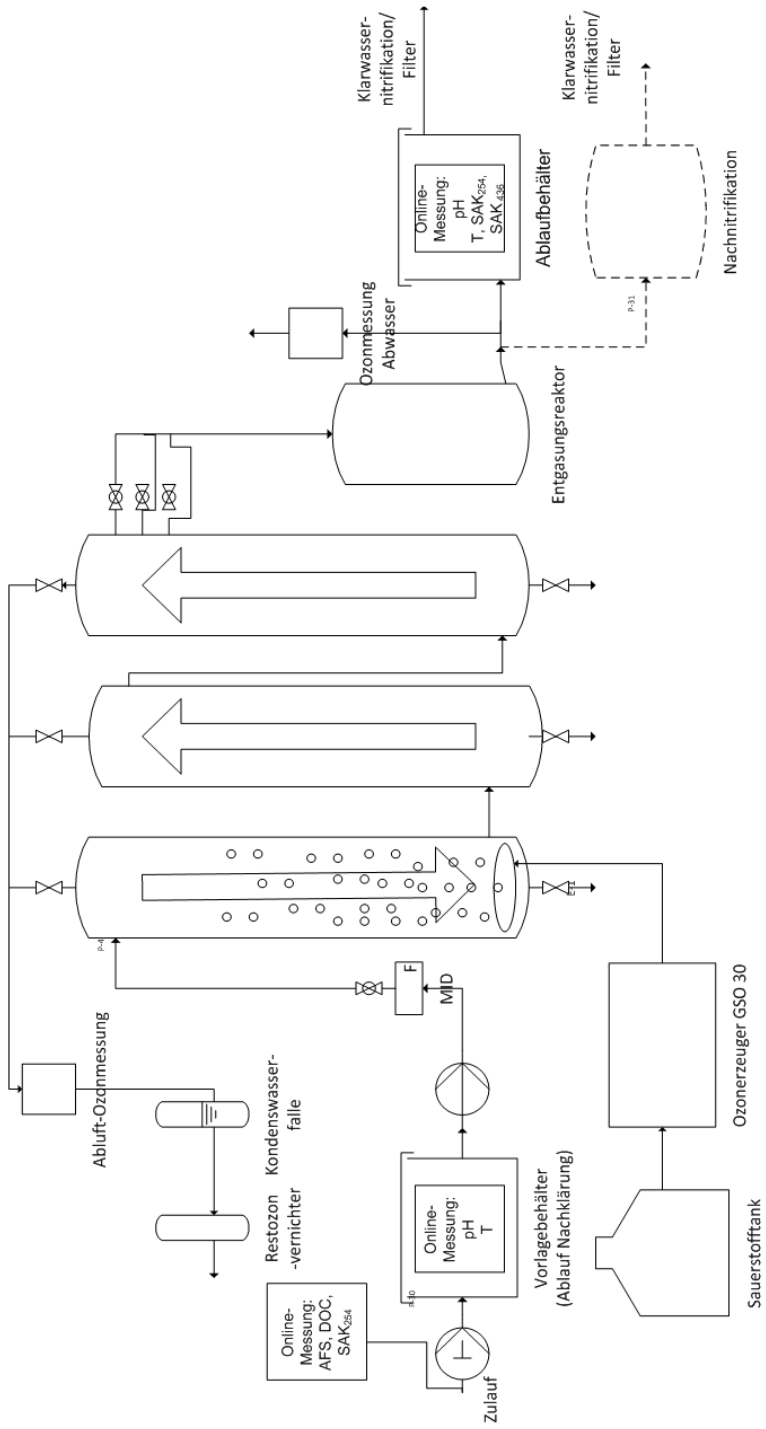

Abbildung 7: Schematisches Verfahrensfließbild der Pilotanlage zur Ozonung des Abwassers der Kläranlage Aachen-Soers.

4.5.1 Untersuchungsprogramm Pilotanlage

Die Untersuchungen an der Pilotanlage wurden in zwei Phasen durchgeführt, die sich in statische Versuchseinstellungen mit fester Einstellung des Beschickungsvolumenstroms und der Ozondosis und dynamische Versuchseinstellungen, einer volumenproportionalen Steuerung entsprechend,

aufteilen. Die statische Versuchsphase wurde von September 2015 bis Januar 2016 durchgeführt und diente der Ermittlung der grundlegenden Parameter für den Betrieb einer Ozonanlage auf der Kläranlage Aachen-Soers. Anschließend erfolgte eine Umstellung der Programmierung und es wurde eine dynamische Versuchseinstellung gewählt, um eine realistische Nachbildung der großtechnischen Anlage zu gewährleisten. Der Umfang der beiden Versuchsphasen und die zugehörigen Anlayseprogramme werden in den folgenden Kapiteln vorgestellt.

Statische Versuchseinstellung

Um eine Aussage über die erforderliche Ozondosis zur Elimination der Spurenstoffe auf der Kläranlage Aachen-Soers treffen zu können, erfolgten zunächst Versuche mit festen Einstellungen der Ozondosis sowie der Reaktionszeit gefahren und jede dieser Einstellungen wurde ein- bis dreimal, entsprechend Tabelle 7, beprobt.

Tabelle 7: Versuchseinstellung der Pilotuntersuchungen auf der Kläranlage Aachen-Soers von Oktober bis Dezember 2015.

Ozondosis [mg/l]	Reaktionszeit [min]	Anzahl der Versuchsdurchführungen
2	13	1
2	20	3
3	13	3
3	20	2
4	20	3
5	20	3
6	20	3

Für alle Proben wurden qualifizierte Stichproben (qSP) aus dem Zulauf (hinter der Kreiselpumpe, im Zulauf zum Kontaktreaktor) und dem Ablauf der Ozonung (hinter dem Entgasungsreaktor) genommen. Für die qualifizierten Stichproben wurden insgesamt 5 Proben innerhalb von 40 Minuten für die Versuche mit einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 Minuten und innerhalb von 20 Minuten für die Versuche mit einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 13 Minuten gezogen. Insgesamt wurden 18 Versuchstage angesetzt. Die Ozondosis wurde von 2 mg/l bis 6 mg/l variiert. Der zugeführte Abwasservolumenstrom wurde mit 6,15 m³/h bzw. 9,90 m³/h, entsprechend einer gesamten hydraulischen Aufenthaltszeit von ca. 20 min bzw. 13 min, eingestellt. Die kurzen Aufenthaltszeiten in der Ozonanlage wurden vorzugsweise an den Tagen eingestellt, an denen Niederschlag fiel, um die Verkürzung der Aufenthaltszeit des Mischwassers im Zuge einer Ozonung zur Vollstrombehandlung zu simulieren. Die Pilotanlage wurde für eine Zeit von mindestens der zweifachen hydraulischen Aufenthaltszeit betrieben, bevor mit der Probenahme begonnen wurde.

Die von der Pilotanlage entnommenen Proben wurden für diese Probenahme-Kampagne auf die in Tabelle 8 aufgelisteten Parameter untersucht. Während der Untersuchungen wurde der Umfang der Standardparameter um die Substanzen reduziert, die entweder keine Auswirkungen auf die Ozonierung ausübten und die nachweislich auch nicht durch Ozon beeinflusst wurden, oder die bereits online zuverlässig überwacht wurden.

Tabelle 8: Analysenumfang für die Beprobung der Pilotanlage

Gruppe	Zulauf	Ablauf	Labor
Standard-parameter	Leitfähigkeit, pH-Wert*, AFS, SAK$_{254nm}$, SAK$_{436nm}$, CSB, TOC, DOC, TN$_b$*, NH4-N, NO3-N, NO2-N, N$_{org.}$*, o-Phosphat*, P$_{ges.}$*, KS$_{4,3}$, Gesamthärte,		WVER Aachen
Standard-parameter	Bromid, Chlorid, Sulfat		WVER Düren
Spurenstoffe	Atenolol, Benzotriazol, Bisoprolol, Candesartan, Carbamazepin, Clarithromycin, Diclofenac, Methylbenzotriazol, Metoprolol, Sotalol, Sulfamethoxazol, Telmisartan, Tramadol, Valsartan		ISA
Online-Messung	T, pH-Wert, DOC SAK$_{254}$	T, pH-Wert	-

*Diese Parameter wurden aufgrund geringen Einflusses auf den Ozonungsprozess aus dem Analyseumfang gestrichen.

4.5.2 Dynamische Versuchseinstellung (Volumenproportionale Steuerung)

In einer zweiten Versuchsphase wurde die Pilotanlage proportional zum Zulauf der Kläranlage beschickt. Dadurch wurde die dynamische hydraulische Belastungssituation auf der Kläranlage nachgestellt, die auch später in der großtechnischen Ozonungsanlage vorzufinden ist. Die Ozondosierung erfolgte während der angegebenen Zeit volumenproportional mit einem festen Gasvolumenstrom von 1 m³/h ozonhaltigen Feedgases und einer entsprechend des Abwasserzulaufs variierenden Ozonkonzentration im Feedgas. Eine Beschränkung der Ozondosierung, z. B. an Regenwettertagen, wurde nicht vorgenommen. Von Juni bis September 2016 wurde zusätzlich die Nachbildung einer Klarwassernitrifikation nach dem Ablauf der Ozonanlage betrieben. Dafür wurde der Ablauf der Ozonung durch einen 100 l Kunststoff-Behälter geleitet, der mit Linpor®-Würfeln (vgl. Morper 1994) und einer Tauchpumpe zur Umwälzung dieser Aufwuchskörper ausgestattet war (Modell-Nitrifikation).

Für alle Abläufe wurden mittels automatischer Probenehmer volumenproportionale 24 h Mischproben genommen. Es wurden Untersuchungen zur Spurenstoffelimination für folgende Ozondosierungen durchgeführt: 3 mg/l, 4 mg/l, 5 mg/l und 6 mg/l. Des Weiteren wurden ausgewählte Proben mit einer Dosierung von 4 mg/l und 6 mg/l auf die Wirksamkeit der Ozonung hinsichtlich der Reduktion von antibiotikaresistenten Keimen sowie auf auftretende öko- und zelltoxikologische Effekte untersucht. Eine Übersicht des Untersuchungsumfangs für die verschiedenen Ozondosierungen ist in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Versuchseinstellung der Pilotversuche auf der Kläranlage Aachen-Soers von Januar bis September 2016.

Ozon-dosis [mg/l]	Anzahl der Versuche	Beprobung Nachnitrifikation	Analyse Spuren-stoffelimination	Analyse Keim-reduktion	Analyse Toxiko-logie
3	6	nein	ja	nein	nein
4	4	nein	ja	nein	nein
4	5	ja	ja*	ja	Ja*
5	2	nein	ja	nein	nein
6	3	nein	ja	nein	nein
6	5	ja	ja	ja	ja

*Analysen wurden 3 x durchgeführt

Die im Rahmen dieser Versuche durchgeführten Spurenstoffuntersuchungen zeigen die Auswirkungen der Ozonung auf die Spurenstoffelimination bei volumenproportionaler Steuerung auf. Die Ergebnisse flossen in die Dimensionierung der großtechnischen Demonstrationsanlage ein. Die darüber hinaus durchgeführten Keimzahlbestimmungen am Zulauf (ZO3) und Ablauf der Ozonung (AO3) dienen zur Feststellung der Keimreduktion durch die unterschiedlichen Konzentrationen an zudosiertem Ozon. Der Vergleich der Keimzahlen des Ablaufs O3 und des Ablaufs der Modell-Nitrifikation (AMNK) gibt Informationen zu einer möglichen Erholung der Mikroorganismen während der biologischen Nachbehandlung sowie dem Wiederverkeimungspotenzial. Während der Versuche wurde die Bestimmung der Antibiotikaresistenzen analog zur Keimzahlbestimmung für jede der drei Probenahmestellen durchgeführt. Dadurch wird eine mögliche Änderung des Anteils antibiotikaresistenter Mikroorganismen während einer Ozonung und einer weitergehenden biologischen Reinigungsstufe untersucht. Die Keimzahlbestimmung und Detektion der Antibiotikaresistenzen wurden nach den in Kap. 4.8 genannten Verfahren durchgeführt. Zusätzlich wurde ein Lagerungsversuch, bei dem die Proben für 24 Stunden bei 15 °C (orientiert an der Wasser-

temperatur in der Wurm) gelagert und anschließend ein weiteres Mal untersucht wurden, durchgeführt, um eine mögliche Wiederverkeimung im Gewässer nach 24 Stunden nachzustellen. Mit der Überwachung der toxikologischen Effekte des Abwassers wurde der Fragestellung nachgegangen, ob die Ozonung, neben der Reduktion der chemischen Parameter, zu einer Verbesserung der toxikologischen Potenziale des Abwassers führt oder aber negative Effekte infolge der ablaufenden chemischen Reaktionen auftreten.

Der Analyseumfang während der Untersuchungen zu der Spurenstoffelimination und der Keimreduktion ist in Tabelle 10 zusammengefasst.

Tabelle 10: Analysenumfang für die Beprobung der Pilotanlage im Jahr 2016

Gruppe	Zulauf	Ablauf	Labor
Standard-parameter	Leitfähigkeit, AFS, SAK_{254nm}, SAK_{436nm}, CSB, TOC, DOC, NH_4-N, NO_3-N, NO_2-N, $KS_{4,3}$, Gesamthärte,		WVER Aachen
Standard-parameter	Bromid, Chlorid, Sulfat		WVER Düren
Spurenstoffe	Benzotriazol, Candesartan, Clarithromycin, Diclofenac, Metoprolol, Tramadol, Röntgenkontrastmittel*		ISA
Keimreduktion	E. coli (Ampicillin, Gentamycin, Clarithromycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim); Intestinale Enterokokken (Ampicillin, Gentamycin, Clarithromycin, Vancomycin); Staphylokokken (Ampicillin, Gentamycin, Clarithromycin, Vancomycin)		iAMB
(Öko-) und Zell-toxikologie	FET, ERα CALUX® Test, L-Yes Test, Ames-Fluktuation Assay, Mikrokerntest, Bakterien-, Algen-, Wasserlinsen-, Daphnientoxizität		IfU und ISA
Online-Messung	T, pH-Wert, DOC, SAK_{254}	T, pH-Wert, SAK_{254}, SAK_{436}, DOC, O_3	-

*für Proben mit einer Ozondosierung von 6 mg/l

4.5.3 Untersuchungsprogramm Bromat

Die Bildung des Transformationsprodukts Bromat wurde für unterschiedliche Ozondosierungen und Reaktionszeiten an der Pilotanlage überprüft. In der Regel fand die Beprobung der Pilotanlage mit Blick auf die Bromatbildung parallel zu den Untersuchungen zur Spurenstoffelimination und Keimreduktion statt. An vier Versuchstagen wurden jedoch zusätzlich gezielt bestimmte Ozondosierungen und Reaktionszeiten eingestellt, um die Größe des Einflusses der Ozondosis und der Reaktionszeit auf die Bromatbildung abbilden zu können. Insgesamt wurden die in Tabelle 11 aufgelisteten Einstellungen auf die im Ablauf der Pilotanlage vorliegende Bromatkonzentration untersucht und ausgewertet. An allen Probenahmetagen wurden zusätzlich Proben des Zulaufs zur Ozonanlage genommen und diese auf die Parameter DOC, Bromid, pH-Wert (online), Temperatur (online), sowie teilweise CSB, Nitrit und Ammonium untersucht.

Tabelle 11: Untersuchungsumfang zur Bromatkonzentration im Ablauf der Pilotanlage

Ozondosis	Stichproben	qualifizierte Stichproben	24h-Mischproben
1 mg/l	x	2	x
2 mg/l	x	2	x
3 mg/l	x	5	5
4 mg/l	11	1	9
5 mg/l	x	1	4
6 mg/l	17	x	5
7 mg/l	x	x	x
8 mg/l	11	x	x

*Summe: 39 · SP; 11 · qSP; 23 · 24h-MP

Zur Überwachung der Bromatbildung im Laufe eines Tages wurden im Zeitraum 25.04.–26.04.2016 über eine Dauer von 24 h jeweils 2 h-Mischproben aus dem Ablauf der Ozonanlage entnommen und die Bromatkonzentration gemessen. Des Weiteren wurden vom 26.07.2017 bis zum 29.07.2017 insgesamt 18 mal 4 h-Mischproben aus dem Zulauf und dem Ablauf der Pilotanlage entnommen und auf die zuvor genannten Parameter untersucht. Die Ozonanlage wurde bis auf kurze Unterbrechungen infolge des Wechsels der Probenahmegefäße kontinuierlich beprobt. In diesem Zeitraum wurde ein volumenproportionaler Betrieb mit einer Ozondosierung von 6 mgO_3/l durchgeführt. Die vergleichsweise hohe Ozondosis wurde gewählt, um eine Bromatbildung sicherzustellen und den Einfluss der verschiedenen Prozessparameter und Änderungen dieser auf die Bromatbildung zu untersuchen. Im Anschluss an diese Versuchsphase wurde die Ozonanlage am 29.07.2017 auf eine Ozondosis von 8 mgO_3/l eingestellt und bis zum 03.08.2017 wurden ebenfalls insgesamt 18 mal 4 h-Mischproben genommen. Weitere Untersuchungen zur Bromatbildung im Labormaßstab sind in Kapitel 4.6.2 beschrieben.

4.6 Laborversuche

4.6.1 Zehrungsversuche

Das Zehrungsverhalten des Soerser Abwassers und der Einfluss unterschiedlicher Abwasserparameter wurden während der Zeit von Juli bis November 2015 an zehn Tagen durch Zehrungsversuche im Umweltanalytischen Labor des ISA der RWTH Aachen untersucht. Die Zehrungsversuche wurden in einem Batchreaktorsystem nach Hoigné und Bader (1994) durchgeführt. Die gelöste Ozonkonzentration wurde bei den durchgeführten Versuchen mittels der Indigo-Referenzmethode unter Berücksichtigung des Normverfahrens DIN 38408-3 (2011) bestimmt (Bestimmungsgrenze: 0,05–10,00 mg/l). Die Messung erfolgt photometrisch bei einer Wellenlänge von 600 ± 5 nm (Extinktionskoeffizient: 20.000 M^{-1} cm^{-1}).

Für die Zehrungsversuche wird durch den Eintrag von Ozon in destilliertes Wasser zunächst eine Ozonstammlösung hergestellt. In einer Schottflasche wird das zu untersuchende Abwasser aus dem Ablauf der Nachklärung der Kläranlage Aachen-Soers vorgelegt und durch die Zugabe der Ozonstammlösung die Ozonkonzentration im Abwasser eingestellt. Die Einmischung der Ozonstammlösung erfolgt über einen Magnetrührer. Sobald die Ozonstammlösung zur Abwasserprobe gegeben wird, wird die Zeit gestartet und die Schottflasche mit einem Dispenser verschlossen. In festen Intervallen wird mit dem Dispenser ein Probenvolumen des mit Ozon versetzten Abwassers von 5 ml in einen Messkolben mit einer Vorlage von 10 ml der nach DIN 38408-3 (2011) hergestellten Indigotrisulfonatlösung gegeben. Durch die unmittelbare Reaktion von Ozon mit Indigotrisulfonat wird die Lösung entfärbt und die Ozonreaktion gestoppt. Die Entfärbung der Indigotrisulfonatlösung wird durch eine photometrische Messung der Lösung bei 600 nm ermittelt und mittels Formel 3 wird die Ozonkonzentration berechnet.

Formel 3

$$\rho = \frac{(A_A - A_B) \cdot f \cdot V_{max}}{s \cdot V_p}$$

ρ: Massenkonzentration des Ozons in der Abwasserprobe [mg/L]

A_A: Absorbanz der Referenzlösung

A_B: Absorbanz der behandelten Abwasserprobe

f: Kalibrierfaktor: f = 2,4 (mg·cm)/L

V_{max}: Volumen der Messkolben [ml]

s: Schichtdicke der Küvette [cm]

V_P: Volumen der Abwasserprobe [ml]

Die erhaltenen Zehrungskurven geben Auskunft darüber, wie lange Ozon nach Hinzudosierung noch im Abwasser vorhanden ist und beeinflussen somit die Auslegung der Ozonungsstufe.

4.6.2 Bromatbildung und -reduktion

Die Versuche zur Bromatbildung im Labormaßstab wurden mit Abwasser aus dem Ablauf der Nachklärung durchgeführt. 200 ml des Abwassers wurde in Schottflaschen vorgelegt und mit unterschiedlichen Mengen an Ozonstammlösung versetzt, um feste Ozondosierungen einzustellen. Die Schottflaschen mit dem Gemisch aus Ozonstammlösung und Abwasser wurden fest verschlossen und durch starkes Schütteln vermengt. Anschließend wurden die Flaschen bis zur Analyse (frühestens nach 2 Stunden) für die Reaktion verwahrt.

Für die Bromatreduktion wurden zwei verschiedene Verfahren eingesetzt: die Kontrolle der Bildung von Bromat infolge der Zugabe von Ammonium und die Reduktion der gebildeten Bromatkonzentration durch die Dosierung von Eisen(II)-Salzen im Anschluss an die Ozonung.

Für die Versuche zur Bromatvermeidung durch die Ammoniumdosierung wurde zunächst eine Ozonstammlösung im Labor hergestellt. Im Labor wurde nun, analog zu den zuvor beschriebenen Experimenten zur Bromatbildung, Abwasser in Schottflaschen vorgelegt. Das Abwasser wurde mit verschiedenen Konzentrationen (0; 0,25; 0,5; 1; 2 mg_{NH4+}/l) an Ammoniumsalzen versetzt. Es wurden sowohl Ammoniumchlorid als auch Ammoniumsulfat zur Einstellung der gewünschten Ammoniumkonzentration eingesetzt.

Die Bromatentfernung mittels Eisen(II)salz wurde ebenfalls im Labormaßstab durchgeführt. Hierzu wurde Abwasser aus dem Ablauf der Nachklärung so vorbereitet, dass eine feste Konzentration Bromid im Abwasser vorlag. Die Abwasserproben wurden in Bechergläser aufgeteilt, auf Rührplatten gestellt und anschließend mit verschiedenen Konzentrationen Eisen(II)-Sulfat (0; 1; 2; 5; 7; 10; 15; 20 mg_{Fe2+}/l) versetzt. In einer ersten Phase zur Einmischung (ca. 2 min) wurde die Lösung sehr schnell gerührt, wohingegen eine zweite Phase der Reaktion (ca. 20 min) unter gemäßigtem Rühren stattfand. Abschließend wurden die Proben filtriert und für die Beprobung vorbereitet.

4.7 Ökotoxizität

Eine verlässliche Abschätzung des ökotoxikologischen Potenzials von zu untersuchenden Umweltproben alleine aufgrund eines Toxizitätstest an nur einem einzelnen Organismus ist nicht möglich. Dafür ist immer eine Kombination mehrerer Biotests, eine sogenannte Biotestbatterie, notwendig. In einer Biotestbatterie ist es zudem sinnvoll akute, chronische und mechanismusspezifische Testsysteme zu untersuchen. Chronische Testsysteme spiegeln die Realität besser wider, da sie nicht nur den Organismus, sondern auch die Vermehrungsfähigkeit einer Population (mehrere Generationen) betrachten.

Für das aquatische Kompartiment werden im Rahmen des Projekts neben den empfohlenen standardisierten Testverfahren für die Abwasserbewertung nach DIN und ISO (Bakterien-, Algen- und Daphnientoxizität) chronische Bakterientests durchgeführt. Die untersuchten Testorganismen decken verschiedene trophische Ebenen ab (Primärproduzenten – Destruenten – Primärkonsumenten). Es werden sowohl akute als auch chronische Wirkungen der verschiedenen Abwässer und Flusswässer, einschließlich potenzieller Wechselwirkungen des enthaltenen Substanzmix erfasst.

4.7.1 *In vivo* und *in situ*-Untersuchungen

Lemna-Wachstumshemmtest

Die Wasserlinse *Lemna minor* dient als Modellorganismus für höhere Wasserpflanzen. Der Wachstumshemmtest wurde nach DIN EN ISO 20079 (2006) durchgeführt. Dabei wird die Wachstumshemmung dieser Primärproduzenten auf Basis von mindestens zwei Beobachtungsparametern (Frondzahl und Frondfläche) mit Hilfe definierter Berechnungsverfahren ermittelt. Als Ergebnis wird die am höchsten konzentrierte Verdünnungsstufe (G-Wert G_{Le}) angegeben, bei der die

Hemmung das erste Mal unter 10 % liegt. In der Verdünnungsstufe $G_{LE}1$ liegt der Probenvolumenanteil bei 90 %.

Algen-Wachstumshemmtest

Der Algen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen (Primärproduzenten), welche im Süßwasser leben (hier: *Desmodesmus subspicatus*) wurde als Teil der Biotestbatterie nach DIN EN ISO 8692 (2012) und DIN 38412-33 (1991) zur Untersuchung der Toxizität durchgeführt. Die Alge ist als Primärproduzent von großer Bedeutung im limnischen Nahrungsnetz und dient vielen Organsimen als Nahrung. Der Test dauert 72 h und betrachtet somit nicht nur den Organismus selbst, sondern auch die Vermehrungsfähigkeit, so dass dieser als chronischer Test einzustufen ist. Der Test wurde in 24-Well Mikrotiterplatten durchgeführt. Dies ist im Vergleich zum Ansatz in Kolben ein einfaches und schnelles Verfahren mit einem höheren Probendurchsatz (High-Throughput Testing). Der Testorganismus wird in Form einer exponentiell wachsenden Kultur verschiedenen Abwasserkonzentrationen ausgesetzt. Für die Kontrollen werden 6 Replikate, für die jeweilige Verdünnungsstufe 3 Replikate getestet. Zusätzlich wird eine Hintergrundprobe mit inkubiert (nur Probe), um auszuschließen, dass in der Probe bereits vorhandene Algen das Ergebnis beeinflussen. Es wird die Wachstumshemmung anhand der *in-vivo*-Chlorophyll-Fluoreszenz über einen Zeitraum von 72 h in einem Messintervall von 24 h aufgezeichnet. Im Vergleich zur Kontrolle wird der Effekt der einzelnen Ansätze berechnet. Ab einer Hemmung von 5 % wird von einer Algentoxizität gesprochen. Als Ergebnis wird die niedrigste Verdünnungsstufe (also der kleinste G-Wert G_A) angegeben, bei der die Hemmung das erste Mal unter 5 % liegt.

Daphnientest

Der akute Daphnientest wurde nach DIN EN ISO 6341 (2013) durchgeführt. Für diesen Test werden neonate Süßwasserkrebse der Art *Daphnia magna* Straus (Primärkonsument) eingesetzt, die aus einer drei bis vier Wochen alten Zucht stammen. Als Maß für die Toxizität von (Ab-) Wässern wird die Schwimmunfähigkeit des Wasserflohs nach 24-stündiger Exposition gegenüber der Probe unter definierten Bedingungen bestimmt. Pro Ansatz werden vier Replikate mit je fünf Tieren getestet. Als Ergebnis wird die Verdünnungsstufe G (G-Wert G_D) angegeben, bei der die Hemmung das erste Mal ≤ 10 % liegt.

Akuter Leuchtbakterientest

Beim akuten Leuchtbakterientest wird die Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission des lumineszierenden Bakteriums *Vibrio fischeri* (Destruent) nach DIN EN ISO 11348-1 (2009) bestimmt. Maßgebliches Testkriterium ist die Abnahme der Lumineszenz nach einer Expositionsdauer von 30 min. In diesem Zeitintervall können sich die Bakterien nicht vermehren, so dass dieser Test zu den akuten Testsystemen zählt. Es wurden für alle Ansätze und die mitgeführten Positiv- und Negativkontrollen eine Doppelbestimmung gemessen. Im Vergleich zu den Kontrollen wird die Hemmung oder Förderung berechnet. Von Toxizität oder Effekt wird erst ab einer Hemmung von 20 % gesprochen. Als Ergebnis wird die Verdünnungsstufe G (G-Wert G_L) angegeben, bei der die Hemmung das erste Mal unter 20 % liegt.

Chronischer Leuchtbakterientest

Der chronische Leuchtbakterientest mit *Vibrio fischeri* nach DIN 38412-37 (1999) betrachtet die Hemmung der Zellvermehrung. Die Zellen müssen sich laut DIN um den Faktor 10 vermehren, um einen vergleichbaren Endpunkt zu gewährleisten. Dies wird zwischen 6 und 8 Stunden erreicht. In Kombination mit dem akuten Leuchtbakterientest erlaubt der Zellvermehrungshemmtest einen direkten Vergleich zwischen akuter und chronischer Toxizität bei Betrachtung verschiedener Endpunkte (Biolumineszenz und Wachstumshemmung). Der Test wurde abweichend von der Norm in 96-Well Mikrotiterplatten kultiviert und erlaubt dadurch eine hohe Replikatzahl von acht (Schmitz et al. 1998). Die Wachstumskinetik wird hierbei durch Messung der optischen Dichte erhoben. Ab einer Hemmung von 20 % ist die Verdünnung als toxisch einzustufen. Als Ergebnis die Verdünnungsstufe G (G-Wert G_{LW}) angegeben, bei der die Hemmung das erste Mal unter 20 % liegt.

Fischembryo-Toxizitätstest (FET, *Danio rerio*)

Der Fischeitest mit dem Zebrabärbling (*Danio rerio*) ist ein DIN-Verfahren, in dem die embryotoxische Wirkung unterschiedlicher Proben auf die Entwicklung des Zebrabärblings ermittelt wird (Hollert et al. 2003). Der Test liegt als DIN EN ISO 15088 (2009) für die Abwasserbewertung vor und ersetzt seit 2005 den Fischtest mit der Goldorfe. Es handelt sich bei diesem Testverfahren um eine Alternativmethode zu Tierversuchen, da er frühe Lebensstadien nutzt und er wurde unter maßgeblicher Mitarbeit der AG Hollert validiert und bereits in zahlreichen Studien erfolgreich für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Gartiser et al. 2010; Lahnsteiner 2008). Neben den Untersuchungen der Abwasserproben (nativ und Extrakte) lässt sich der Zebrabärbling hervorragend in der Testung von Sedimenten, als sogenannter Sedimentkontakttest, einsetzten. Dabei werden die Embryonen direkt der Sedimentprobe ausgesetzt. Durch diese Art der Belastung erhält man ein sehr realistisches Expositionsszenario, bei dem die Bioverfügbarkeit der Probe direkt mit einbezogen werden kann und so eine Extrapolation auf die Feldsituation möglich ist. Untersucht werden Effekte (subletal und letal), die die zu untersuchende Probe nach einer Expositionszeit von 24, 48, 72 und 96 Stunden nach Befruchtung (hpf; hours post fertilization) auslöst. Die hierbei Untersuchten Endpunkte sind der LC50-Wert (letal) und der EC50-Wert (Effekt) nach 48 und 96

hpf. Diese Werte geben jeweils die berechnete Konzentration an, bei der 50 % Letalität/Effekt gemessen werden konnten. Durchgeführt wird der Test in 24-Well-Platten mit je zehn Embryonen pro Probe bzw. Konzentration. Zudem werden eine Positiv- und eine Negativkontrolle sowie, wenn nötig, eine Lösungsmittel- und Prozesskontrolle (Extraktuntersuchungen) mit untersucht.

Fraßtest mit *Gammarus pulex*

Der Fraßtest mit *G. pulex* eignet sich zur Erfassung möglicher Auswirkungen von Schadstoffen auf das Nahrungsnetz in Fließgewässern. Das Fraßverhalten der eingesetzten Spezies lässt direkte Rückschlüsse auf die Dekompostierung von Laub in Fließgewässern zu und ist damit ein sehr wichtiger Indikator für die Störung einer wichtigen Ökosystem-Dienstleistung. Der Test wurde bereits in früheren Studien erfolgreich für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Bundschuh et al. 2011a; Bundschuh et al. 2011b). Im DemO_3AC-Projekt wurden die Gammariden direkt in der Wurm exponiert. Dazu wurden die Gammariden in kleine Käfige mit einer definierten Menge Futter für eine Periode von 7 Tagen an den entsprechenden Probenahmestellen eingesetzt. Der Vorteil einer solchen Untersuchungen *in situ* liegt darin, dass sämtliche Parameter, die einen Einfluss haben können, wie Temperatur, pH-Schwankungen etc., direkt miterfasst werden. Am Ende der Untersuchung wurde sowohl mit Hilfe des Gewichts der Gammariden als auch mit Hilfe des Gewichts der übrig gebliebenen Futtermenge als Endpunkt die Fraßrate in mg pro mg Gammarid pro Tag bestimmt.

Extraktionsversuche mit *Gammarus pulex* (QuEChERS-Methode)

Mit Hilfe der QuEChERS-Methode (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe), die ursprünglich dazu verwendet wurde, Pestizide aus Lebensmitteln wie Obst und Gemüse nachzuweisen, kann die interne Schadstoffbelastung von Biota gemessen werden. Die hier verwendete Methode wurde von Inostroza et al. (2016) unter Mitwirkung der AG Hollert entwickelt. Die chemisch analytischen Ergebnisse können Rückschlüsse auf das Bioakkumulationspotenzial von Schadstoffe in Makroinvertebraten liefern. Im Gegensatz zum Fraßtest wurden hier allerdings Gammariden an den Probenahmestellen selbst entnommen, um so die über längere Zeit angereicherten Schadstoffe in den Geweben der Gamariden messen zu können.

Reproduktionsversuche mit *Potamopyrgus antipodarum*

Der Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* wird dazu verwendet, reproduktionsschädigende Effekte von Umweltproben oder Substanzen/Substanzgemischen nachweisen zu können. Hierbei zeigt eine erhöhte Embryonenzahl der eingesetzten Testorganismen Effekte an, die durch östrogene Substanzen ausgelöst werden können. Die hier verwendete Methode beruht auf der OECD No. 242 (2016). Als Endpunkt wird die Anzahl an Embryonen pro Schnecken festgestellt, wodurch es möglich ist, das Reproduktionspotenzial der Individuen an verschiedenen Untersuchungsstellen zu vergleichen. Sie wurde dahingehend angepasst, dass es sich hierbei nicht um Versuche im Labormaßstab handelt, sondern die

Schnecken im Freiland in kleinen Käfigen direkt für 28 Tage exponiert werden. So lassen sich genauere Aussagen über die Effekte des Gewässers an den Probenahmestellen treffen, da alle Faktoren berücksichtigt werden, die dort vorherrschen. Im Anschluss an die Expositionszeit wurden die Embryonen in der Bruttasche der Schnecken gezählt und gegen eine Laborkontrolle verglichen.

Biomarkeruntersuchungen mit *Oncorhynchus mykiss*

Expositionsuntersuchungen (Caging-Experimente) mit juvenilen Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) haben sich in zahlreichen Untersuchungen, wie z. B. dem SchussenAktiv-Projekt und dem EU-Projekt Solutions, als sehr geeignet erwiesen, um mit diesen Biomarkeruntersuchungen durchzuführen. Für die Caging-Experimente wurden juvenile Regenbogenforellen an den Probenahmestellen in der Wurm in Edelstahlkäfigen exponiert. Die Exposition erfolgte dabei über sieben Tage. Pro Versuchsperiode werden 15 Tiere pro Probestelle und Laborkontrolle eingesetzt. Nach Beendigung der Expositionszeit werden die Fische unmittelbar nach der Entnahme aus dem Gewässer betäubt, getötet und direkt präpariert. Die gewonnenen Proben wurden anschließend bis zur weiteren Biomarkeruntersuchung (Messung des Vitellogeningehalts und der Mikrokernbildung) eingefroren.

4.7.2 Zelltoxikologische Untersuchungen

Die zelltoxikologischen Untersuchungen fanden hauptsächlich mit den zuvor mittels Festphasenextraktion hergestellten Extrakten statt. Die Konzentration des erhaltenen Extraktes wird in REF (relative enrichment factor) angegeben. Diese Konzentrationseinheit berechnet sich aus der durch die Extraktion entstandene Aufkonzentrierung und der für den Test spezifischen Verdünnung, woraus eine teilweise unterschiedlich eingesetzte Höchstkonzentration der verwendeten Assays resultiert.

Viabilitätstest (MTT Test)

Der MTT Test wird für die Ermittlung der Zelltoxizität einer Probe eingesetzt und muss zwangsläufig vor jedem Zelltest durchgeführt werden, um die akute Toxizität auszuschließen, die sonst den gewünschten mechanismusspezifischen Effekt überlagert. Der Endpunkt der prozentualen Viabilität der Zellen nach Exposition wird über den Umsatz des Farbstoffes 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid ermittelt (Berridge und Tan 1993).

Lyticase assisted Yeast Östrogen Screen (L-YES)

Der L-YES Assay ermöglicht eine schnelle und kostengünstige Identifizierung östrogen wirksamer Substanzen. Er wird mit einer rekombinanten Hefezelllinie (*Saccharomyces cerevisiae*) durchgeführt, in deren Chromosom der humane Östrogenrezeptor (hER) integriert sowie ein Plasmid mit dem Rezeptorgen lac-Z eingeschleust wurde, das für das Enzym ß-Galactosidase (ß-Gal) codiert (Routledge und Sumpter 1996). Dieser Test wurde bereits in zahlreichen Studien erfolgreich für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Leusch 2008; Leusch et al. 2010; Maletz et al. 2013).

Die erhaltenen Ergebnisse werden in Estradiolequivalentquotienten (EEQ-Werte) angegeben, die angeben, welches östrogene Potenzial die untersuchte Probe im Vergleich zur Standardsubstanz 17β-Estradiol ausweist.

Östrogen-Responsive Chemical-Activated Luciferase gene eXpression (ERα CALUX®)

Der ERα CALUX® Assay ist eine schnelle und sehr sensitive Methode für die Ermittlung von Substanzen, die an den hER binden. Dieser Test wurde bereits in zahlreichen Studien erfolgreich für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Leusch 2008; Leusch et al. 2010; Maletz et al. 2013; Murk et al. 2002; van der Linden et al. 2008) und befindet sich derzeit (wie auch der L-YES) unter Mitarbeit der AG Hollert in der DIN/ISO Validierungsphase. Analog zum L-YES Assay werden auch hier die Ergebnisse in EEQ-Werten angegeben.

Der ERα CALUX® Assay wurde als einziger Test mit den Proben der Screenings aus Phase 1b zusätzlich mit nativen Proben durchgeführt.

Ames-Fluktuations Assay

Mit Hilfe des Ames-Fluktuations Assays (ISO 11350 2012) wird die mutagene Wirkung auf zwei gängige Salmonella-Stämme (TA98 und TA100) für den Nachweis von Basenaustausch- und Rasterschubmutationen ermittelt. Die Zugabe einer Enzymmischung aus der Rattenleber (S9) soll die Biotransformation in Wirbeltieren nachahmen. Der Ames-Fluktuations Assay ist eine Abwandlung des bekannten Ames-Assays, bei dem die Kultur in Flüssigmedien durchgeführt wird (Reifferscheid et al. 2012). Dieses Testsystem wurde bereits in zahlreichen Studien für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Abdel-Massih et al. 2013; Jolibois und Guerbet 2006; Whatley und Cho 2010). Die Ergebnisse zur Bestimmung der Mutagenität werden als die Konzentration angegeben, bei der statistisch noch ein Effekt nachgewiesen werden kann (lowest observed effekt concentration (LOEC)). Die AG Hollert hat an der ISO-Validierung der Methode maßgeblich mitgewirkt.

Mikrokerntest

Mit dem Mikrokerntest können Chromosomenschäden in Zellen nachgewiesen werden. Der Test ist mit verschiedenen Zelllinien sowie Primärzellkulturen durchführbar. Die Ergebnisse werden als Anteil Mikrokerne pro Anzahl ausgezählter Zellen angegeben. Für die Anwendung mit der Hamsterzelllinie V79 liegen sowohl eine DIN-Vorschrift zur Abwassertestung (DIN EN ISO 21427-2 2009)

als auch eine OECD-Guideline (OECD No. 487 2010) vor. Auch dieser Test wurde bereits erfolgreich für die Bewertung von Abwasser eingesetzt (Liney et al. 2005; Reifferscheid et al. 2008). Die AG Hollert hat an der DIN-Validierung der Methode maßgeblich mitgewirkt.

4.8 Mikrobiologische Analysen

Die Keimzahlen wurden mit dem most-propable-number (MPN) Verfahren nach DIN durchgeführt (DIN EN ISO 9308-3 1998; ISO 7899-1 1998). Zur Realisierung der MPN Methode wurden verschiedene „ready-to-use“ Mikrotiterplatten (befüllt, 96-well) für *E. coli* und Enterokokken verwendet (BioRad MUG/EC well plates für *E. coli* und MUD/SF well plates für Enterokokken). Alle Proben wurden im Triplikat analysiert.

Enterokokken und Staphylokokken wurden auf Antibiotikaresistenzen gegen Ampicillin (20 µg/ml), Gentamycin (20 µg/ml), Clarithromycin (20 µg/ml) und Vancomycin (20 µg/ml) hin überprüft, während *E. coli* zusätzlich zu den ersten drei Antibiotika auf Resistenzen gegen Sulfamethoxazol/Trimethoprim (20 µg/ml) als Kombinationspräparat und in der Phase 1b auf Resistenzen gegen Cefotaxim anstelle von Clarithromycin untersucht wurde. Clarithromycin wurde im Zusammenhang mit *E. coli* durch Cefotaxim ersetzt, da *E. coli* gegen Makrolidantibiotika generell keine Empfindlichkeit aufweisen. Für eine quantitative Ermittlung der Resistenzen wurden verschiedene selektive Nähragarplatten für die verschiedenen Mikrobengruppen verwendet. Für Enterokokken wurde Slanetz-Bartley Agar (Roth) verwendet, für *E. coli* RAPID *E. coli* 2 Agar (Bio-Rad) und für Staphylokokken Mannit-Kochsalz Agar (eigene Herstellung). Um die Antibiotikaresistenz in Prozent für jede einzelne Mikrobengruppe zu ermitteln wurden die Proben zunächst mikrofiltriert (0,45 µm) und anschließend auf die entsprechenden selektiven Agarplatten mit und ohne Antibiotikum ausplattiert. Nach einer Inkubation bei 37 °C wurden die Kolonien gezählt und die Kolonieanzahlen der Platten ohne Antibiotikum wurden auf die Kolonieanzahlen der Platten ohne Antibiotikum normiert.

Innerhalb der Untersuchungen an der Pilotanlage wurden die Keimzahlen und die Antibiotikaresistenzen an den drei Probenahmestellen (Zulauf Ozonung, Ablauf Ozonung und Ablauf Modell-Nitrifikation) der Pilotanlage bestimmt. Die Keimzahlbestimmung und der Vergleich der Keimzahlen am Zulauf (ZO3) und Ablauf der Ozonzufuhr (AO3) dienten zur Feststellung der Desinfektionsleistung durch die unterschiedlichen Konzentrationen an zugefügtem Ozon. Der Vergleich der Keimzahlen des Ablaufs O3 und des Ablaufs der Modell-Nitrifikation (AMNK) sollte Informationen zu einer möglichen Erholung der Mikroorganismen in diesem Schritt, sowie dem Wiederverkeimungspotenzial geben. Die Bestimmung der Antibiotikaresistenzen wurde analog zur Keimzahlbestimmung an jeder der drei Probenahmestellen durchgeführt. Der Vergleich der im Zulauf und Ablauf der Ozonzufuhr, sowie dem Ablauf der Modell-Nitrifikation auftretenden Antibiotikaresistenzen sollte eine Aussage über Auswirkungen des Ozons auf die Ausbildung von Resistenzen und das Risiko der Akkumulation von resistenten Mikroorganismen definieren. Die Keimzahlbestim-

mung und Detektion der Antibiotikaresistenzen wurden nach den bereits genannten Verfahren durchgeführt. Zusätzlich wurde ein Lagerungsversuch, bei dem die Proben über 24 Stunden bei 15 °C gelagert und anschließend ein weiteres Mal untersucht wurden durchgeführt, um eine mögliche Wiederverkeimung im Gewässer nach 24 Stunden nachzustellen und zu untersuchen.

Die Testung auf multiple Antibiotikaresistenzen wurde nach standardisierten Verfahren mittels Agardiffusionstest durchgeführt (CLSI 2015; EUCAST 2017). Um multiple Antibiotikaresistenzen bestimmen zu können, wurden die innerhalb der Antibiotikaresistenztestung als resistent detektierten Mikroorganismen von den Selektionsnährmedien isoliert und auf unterschiedliche zusätzliche Antibiotikaresistenzen hin untersucht. Die Testung auf multiple Antibiotikaresistenzen erfolgte jeweils in vier biologischen Replikaten pro Antibiotikaresistenz. Resistente *E. coli* wurden zusätzlich auf Resistenzen gegen Ampicillin, Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Imipenem, Ertapenem und Cefotaxim getestet. Resistente Enterokokken wurden zusätzlich auf Resistenzen gegen Ampicillin, Gentamycin, Clarithromycin, Imipenem, Ertapenem und Vancomycin getestet. Die Auswertung erfolgte mittels der Auswerteschemen des jeweiligen standardisierten Verfahrens und die Mikroorganismen wurden in die verschiedenen Resistenzlevel sensitiv, intermediär oder resistent eingestuft.

4.9 Lebensgemeinschaften in der Wurm

Zur Untersuchung der ökologischen Qualität sowie zur Beurteilung der biologischen Funktionsfähigkeit der Wurm wurden einige der in den letzten Jahren im Rahmen der Gewässerbewertung nach EU-Wasserrahmenrichtlinie (2008/105/EC 16.12.2008) entwickelten leitbildbezogenen Verfahren herangezogen. Diese vergleichen die Biozönose des zu bewertenden Gewässers mit derjenigen des Referenzzustandes im entsprechenden Gewässertyp. Als Leitbild (Referenz) dienen dabei unbelastete und möglichst ungestörte Gewässer eines Gewässertyps (Referenzgewässer). Die im Projekt durchgeführten Untersuchungen umfassen dabei die biologischen Qualitätskomponenten Makrozoobenthos, Makrophyten & Phytobenthos (Diatomeen und Phytobenthos ohne Diatomeen, PoD) und wurden zeitlich unabhängig von den Screenings an den Probestellen der Wurm (W1–W5) durchgeführt. Die Beprobung des Makrozoobenthos erfolgte im Mai 2016 sowie im April und Oktober 2017. Makrophyten und Phytobenthos wurden jeweils im September 2016 und 2017 untersucht.

4.9.1 Makrozoobenthos

Über die Erfassung des Makrozoobenthos werden stressorspezifische Bewertungen des Gewässerzustands hinsichtlich verschiedener Belastungsparameter, wie einer Degradation der Gewässermorphologie, dem saprobiellen Zustand, einer Nutzung im Einzugsgebiet oder dem Eintrag von Pestiziden vorgenommen.

Die Probenahme des Makrozoobenthos erfolgte als Multi-Habitat-Sampling nach den standardisierten Vorgaben des „Methodischen Handbuchs Fließgewässerbewertung“ für die Probenahme an durchwatbaren und teilweise durchwatbaren Gewässern mit einer anschließenden Laborsortierung der Organismen (Perlodes-Verfahren, Meier et al. 2006). Hierzu wurden zunächst die vorherrschenden Substratanteile im Gewässer kartiert und diese anschließend anteilig beprobt, um so zu einer repräsentativen Aufnahme der Makroinvertebratenzönose des jeweiligen Bachabschnittes zu gelangen. Das so gewonnene Probenmaterial wurde vor Ort wie im Handbuch beschrieben reduziert, konserviert und anschließend im Labor aufgearbeitet. Dabei wurden die Organismen aus einem entsprechenden Anteil der Probenmenge (mindestens 1/6) aussortiert und anschließend unter dem Binokular bestimmt. Die Bestimmung der Organismen erfolgte mindestens auf das Niveau der operationellen Taxaliste. Es wurde die zurzeit gängige Bestimmungsliteratur genutzt.

Die Artenlisten (Individuen/m^2) zu jeder Probenahmestelle dienten als Grundlage der Berechnung der ökologischen Qualität nach den Vorgaben der EG-Wasserrahmenrichtlinie mit dem Programm Asterics/Perlodes (Fließgewässerbewertung 2014). Für das gesamte Untersuchungsgebiet wurde das Bewertungsverfahren NWB (natürlicher Wasserkörper) und der Gewässertyp 05 (grobmaterialreiche, silikatische Mittelgebirgsbäche) als Referenz gewählt. Zusätzliche zu den Ergebnissen aus Perlodes wurde der SPEARpesticide-Index (SPEcies At Risk) mit dem SPEAR Calculator (Helmholtz Zentrum für Umweltforschung 2017) bestimmt. Dieser Index detektiert indirekte Effekte von Schadstoffen (Spurenstoffen, Pestiziden usw.) anhand der Artzusammensetzung. Er berechnet den Anteil empfindlicher Arten der Lebensgemeinschaft und verrechnet ihn gegen den Anteil unempfindlicher Arten. Zu den ökologischen Eigenschaften, welche eine Art als empfindlich charakterisieren, gehören ihre physiologische Sensitivität, Entwicklungsgeschwindigkeit, Driftfähigkeit sowie die Wahrscheinlichkeit einer Exposition.

In die Berechnungen wurden neben den Daten aus den drei im Projekt durchgeführten Probenahmen (2016–2017) auch Daten des WVER aus dem Jahr 2014 und die Erhebungen einer im Jahr 2015 durchgeführten Masterarbeit (Jantsch 2016) einbezogen. Die Masterarbeit über die Belastung des Makrozoobenthos im Untersuchungsbereich der Kläranlage Aachen-Soers erfolgte in Kooperation mit der Phase 1a, nicht aber als Bestandteil dieser.

Eine Untersuchung der Biozönose des Haarbachs ist nicht Gegenstand des Projekts, da kürzlich eine Renaturierungsmaßnahme im entsprechenden Bereich des Haarbachs durchgeführt wurde. Es liegen für das Makrozoobenthos allerdings Ergebnisse des WVER aus dem Jahr 2012 zu den Probestellen H1 und H2 vor, die mit dargestellt werden, um ein möglichst umfassendes Bild des ökologischen Zustands des Untersuchungsgebiets zu erhalten.

Zusätzlich zur Kartierung der verschiedenen Substrate wurden weitere Standortparameter wie Beschattung, Gewässerbreite und -tiefe und gegebenenfalls mögliche Beeinträchtigungen aufgenommen. Diese Kenngrößen dienen der besseren Einschätzung der Standorte.

4.9.2 Makrophyten und Phytobenthos

Neben dem Makrozoobenthos wurde die typspezifische Besiedlung mit Makrophyten (höhere Wasserpflanzen, Armleuchteralgen, Wassermoose und Wasserfarne) und Phytobenthos (Aufwuchsalgen einschließlich der Kieselalgen) als Grundvoraussetzung für ein intaktes Ökosystem beurteilt.

Die Kartierung und die Bewertung der Makrophyten erfolgte nach den Vorgaben des aktuellen LANUV-Arbeitsblatts 30 (LANUV 2017b) und der Online-Software MaBS (LANUV 2017a).

Die Beprobung des Phytobenthos (getrennt nach Diatomeen und dem restlichen Phytobenthos ohne Diatomeen) wurde nach der Verfahrensbeschreibung des Bayerischen Landesamtes für Umwelt (Schaumburg et al. 2012) durchgeführt. Die weitere Bearbeitung der Diatomeen wurde durch die Firma EcoRing (Dr. Ekhard Coring und Mitarbeiter) vorgenommen und erfolgte in Übereinstimmung mit den einschlägigen und gültigen CEN/ISO/DIN-Normen und Standards (DIN EN 13946 2003; DIN EN 14407 2004) sowie den nach Vorgaben nach PHYLIB (Schaumburg et al. 2012) zur Bewertung des ökologischen Zustands im Sinne der EG-WRRL auf Basis der Teilkomponente „Phytobenthos (Diatomeen)“. Zusätzlich zur Bewertung nach PHYLIB wurden für die Diatomeen weitere Bewertungsmetrics auf Basis des gesamten Datensatzes berechnet.

- Trophie- und Saprobienindex (Rott et al. 1997; Rott et al. 1999)
- prozentualer Anteil verschmutzungstoleranter Arten und Formen innerhalb von Diatomeenassoziationen nach Kelly (1996). Hierbei handelt es sich um ein robustes und einfaches Verfahren zur Indikation wirksamer organischer Belastungen. Nach Kelly (1996) wird ein Schwellenwert von 20 % verschmutzungstoleranter Arten für die Indikation signifikant wirksamer organischer Belastung angegeben. In der Aufsummierung der Saprobieindikatoren wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchung aus DemO$_3$AC alle Taxa als verschmutzungstolerant eingestuft, die als solche bei Kelly (1996) benannt wurden. Zusätzlich wurden alle Taxa berücksichtigt, denen bei Rott et al. (1997) ein Saprobiewert > 3,0 zugeordnet ist. Ergänzend wurden einige Navicula- und Nitzschia-Arten auf der Basis der Erkenntnisse des DVWK (1999) sowie dem Erfahrungshintergrund der Bearbeiter aufgenommen.

Die Bewertung des PoD (Phytobenthos ohne Diatomeen) der gefundenen Artengemeinschaft erfolgte mit dem Programm PHYLIB (LFU 2015). Zusätzlich wurde die Diversität nach Shannon und Weaver (1949) berechnet. Der Diversitätsindex berücksichtigt sowohl die Anzahl unterschiedlicher Arten als auch deren Häufigkeit.

4.9.3 Habitatindex

Der Habitatindex (Foerster et al. 2017) verrechnet ausgewählte biologisch relevante Einzelparameter der Gewässerstrukturgütekartierung zu den Strömungsverhältnissen, der Sohle und der

Uferbeschaffenheit (Beschattung) zu einem Indexwert und ist dazu geeignet, im Vergleich mit den biologischen Ergebnissen, Zusammenhänge zwischen der Ausprägung der Gewässerstruktur und der Zusammensetzung der Biozönose aufzuzeigen. Die Berechnung des Habitatindex erfolgte wie bei Foerster et al. (2017) beschrieben basierend auf den Erhebungen des LANUV aus dem Jahr 2013 (ELWAS-WEB 2017).

4.10 Statistische Datenauswertung

Ziel der statistischen Auswertung ist es, die im Projekt erhobenen Daten auf verschiedene Fragestellungen zu untersuchen. So werden die Daten zum einen mittels univariater Methoden, bei denen jeweils eine Variable isoliert betrachtet wird, ausgewertet, um z. B. signifikante Unterschiede zwischen Probestellen im Gewässer oder zwischen Reinigungsstufen in der Kläranlage zu ermitteln. Zum anderen wird als multivariate Methode die Hauptkomponentenanalyse verwendet, um mögliche Zusammenhänge zwischen vielen verschiedenen Variablen zu ermitteln.

Zunächst wurden für ausgewählte Parameter die gängigen statistischen Kenngrößen wie Mittelwert, Medianwert, Minimum, Maximum, Standardabweichung, Standardfehler des Mittelwertes sowie die Grenzen des 95 %-Vertrauensbereiches ermittelt. Die Berechnung dieser statistischen Kenngrößen erfolgte mit SigmaPlot (2014). Diese Kenngrößen werden zur uni- und multivariaten statistischen Auswertung benötigt.

Für ausgewählte Analytikparameter und mikrobiologische Parameter wurde der Unterschied zwischen den Gewässerprobestellen W2/W3 und W5 bzw. der Unterschied zwischen den Behandlungsstufen in der Kläranlage, d. h. dem Zulauf der Kläranlage vs. Ablauf Filter/Kläranlage, in einem paarweisen Vergleich statistisch untersucht. Zusätzliche wurden auch weitere Parameter in einem paarweisen Vergleich z. B. zwischen Regen- und Trockenwetterproben analysiert. Hierzu wurde ein paarweiser Test, vorzugsweise ein Student t-Test, verwendet. Wenn die Voraussetzungen (Normalverteilung und Varianzhomogenität) nicht erfüllt waren, wurde anstelle des t-Tests ein Test auf Ränge, der sogenannte U-Test von Mann-Whitney (auch Wilcoxon-Rangsummentest genannt), durchgeführt. Alle Berechnungen für die paarweisen Vergleiche erfolgten mit SigmaPlot (2014).

Korrelationen und Regressionen zwischen jeweils zwei Variablen wurden für bestimmte Fragestellungen analysiert. Die zur Auswahl stehenden Testverfahren waren die Maßkorrelation nach Pearson (Voraussetzungen Normalverteilung und Varianzhomogenität) bzw. die Rangkorrelation nach Spearman, sofern die Voraussetzungen nicht erfüllt waren. Wenn eine signifikante Korrelation der beiden Parameter gefunden wurde und die Daten normalverteilt waren, wurde anschließend eine lineare Regression durchgeführt. Die Bestimmung der bivariaten Korrelationen wie auch der nachgeschalteten linearen Regressionen erfolgte mit SigmaPlot (2014).

Als multivariate Methode wurde die Hauptkomponentenanalyse (sog. PCA) verwendet. Die PCA (Hotelling 1933) stellt die Information, die in einer großen Anzahl von Variablen enthalten ist, auf

wenigen und damit einfacher zu interpretierenden Linearkombinationen dar. Die Variablen werden hierbei entsprechend der größten Varianzen angeordnet. Die Eigenwerte der resultierenden Ordinationsachsen geben dabei deren Güte an und sind ein Maß für den Varianzanteil der durch die Achse erklärt wird, d. h. den Informationsgehalt der Achse oder die Relevanz der Achse. Es existieren verschiedene algorithmische Ansätze zur Berechnung der PCA. Die PCA kann als eine dimensionsreduzierende Technik angesprochen werden, denn sie reduziert zum einen die Dimensionalität der multivariaten Daten und zum anderen das Datenrauschen, welches die Analyse komplexer Daten oftmals erschwert. Sie dient also der Musterextraktion und zeigt, welche Bedeutung die einzelnen Variablen im Hinblick auf diese Muster haben.

Zur Berechnung der PCA wurde Canoco 4 (2002) genutzt. Hierzu wurden die Daten mit Angaben „< Bestimmungsgrenze“ auf die halbe Bestimmungsgrenze gesetzt und an ihrem Maximum normiert.

5 Feststellung des Status Quo als Ergebnis der Phase 1

5.1 Untersuchung der Kläranlagen

5.1.1 Abwasserparameter – Kläranlage Aachen-Soers

Die Kläranlage Aachen-Soers ist die größte der 44 Kläranlagen des WVER und behandelt ca. 27 Mio. m³ Abwasser pro Jahr. Der Zulaufvolumenstrom der Kläranlage Aachen-Soers beträgt 1.200 l/s bei Trockenwetter und der maximale Volumenstrom ist beschränkt auf knapp 3.000 l/s. Die Kläranlage ist mit mechanisch-biologischen Reinigungsstufen und zusätzlich mit einer Klarwassernitrifikation sowie einer Sandfiltration ausgestattet. In der Biologie und nach Bedarf auch im Sandfilter wird Fällmittel eingesetzt. Die großtechnische Ozonungsanlage ist zwischen Nachklärung und Klarwassernitrifikation geschaltet, so dass sich für die Ozonung zwei Nachbehandlungsstufen ergeben. Die Verfahrensstufen sind in Abbildung 8 dargestellt.

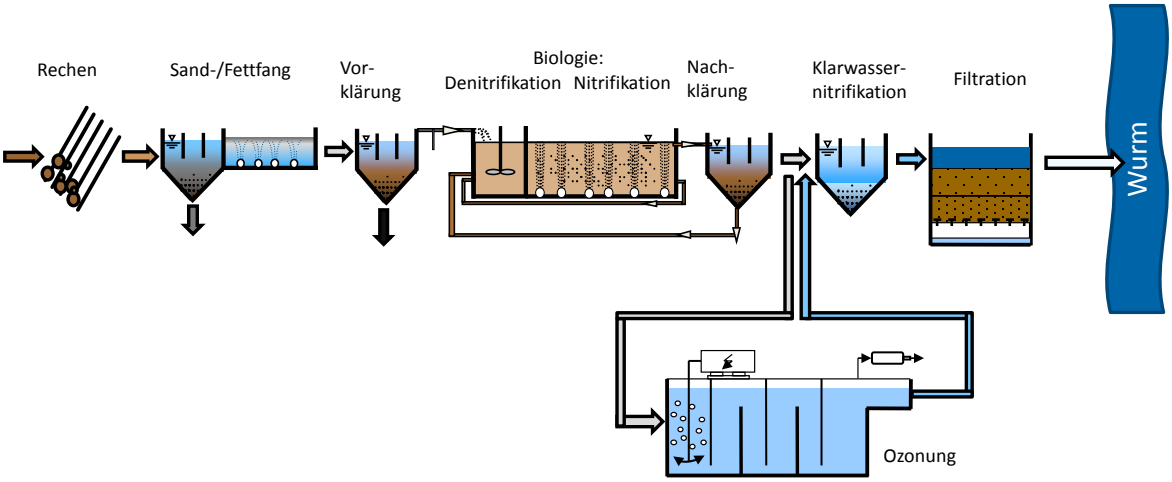

Abbildung 8: Verfahrensfließbild der Kläranlage Aachen-Soers inkl. zukünftiger Ozonung

Die Beprobung der Kläranlage Aachen-Soers fand im Rahmen von DemO_3AC an den Stellen Zulauf Kläranlage (ZKA, nach dem Rechen und vor dem Sandfang), am Ablauf der Nachklärung (ANK) und am Ablauf der Kläranlage, entsprechend dem Ablauf des Filters (AF), statt.

Die Kläranlage Aachen-Soers eliminiert vom Zulauf bis zum Ablauf der Kläranlage ca. 98 % der sauerstoffzehrenden bzw. oxidierbaren Verbindungen, gemessen am chemischen Sauerstoffbedarf (CSB), bei Eingangskonzentrationen von $c_{CSB,zu}$ = 698 ± 244 mg/l (n = 18, Anzahl der Proben im Rahmen von DemO_3AC) und Ablaufkonzentrationen von $c_{CSB,ab}$ = 14 ± 2,4 mg/l (n = 12). Der Anteil der gelösten organischen Substanzen, gemessen als DOC, wird bei Zulaufkonzentrationen von $c_{DOC,zu}$ = 107 ± 46,7 mg/l (n = 18) im Mittel um ~95 % eliminiert ($c_{DOC,ab}$ = 5,1 ± 1 mg/l; n = 12). Aufgrund der Filtrationsstufe werden nahezu alle als AFS erfassten Feststoffe zurückgehalten (99,5 % Elimination; $c_{AFS,ab}$ = 0,9 ± 0,3 mg/l). Obwohl die Elimination der gesamten Nährstoffverbindungen durch die Kläranlage im Schnitt bei N_{ges} = 81 % und P_{ges} = 99 % liegt, kommt es in Bezug auf Nitrat

zu einer Erhöhung der Konzentrationen in der Wurm nach Einleitung der Kläranlage. Der Überwachungswert von 13 mg N_{ges}/l wird jedoch nicht überschritten (mittlere Konzentration am Ablauf der Kläranlage $c_{NO3\text{-}N,ab}$ = 6 ± 2,3 mg/l, n = 11). Auch die Einhaltung der Überwachungswerte weiterer Stickstoffverbindungen, wie Ammonium (1 mg/l), ist gewährleistet ($c_{NO4\text{-}N,ab}$ = 0,045 ± 0,065 mg/l; n = 12). Die Messungen im Rahmen von DemO$_3$AC bestätigen die Ergebnisse der ständigen Selbstüberwachung der Kläranlage und die Einhaltung der teils sehr niedrigen Überwachungswerte entspricht dem Regelbetrieb der Kläranlage Aachen-Soers (der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf den Vorfluter wird in 5.3.1 diskutiert). Nitritkonzentrationen sind i. d. R. vernachlässigbar. 50 % der Werte dieser Messkampagne am Ablauf der Nachklärung, die den zukünftigen Zulauf der Ozonungsstufe darstellt, lagen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,001 mg NO_2-N/l. Mittlere Konzentrationen für NO_2-N liegen bei $c_{NO2\text{-}N,ANK}$ = 0,007 ± 0,009 mg/l (n = 16, Werte < BG wurden zur Berechnung als 0,5 · BG angenommen) (Brückner et al. 2018).

Eine Übersicht dieser Datenauswertung ist in Tabelle 12 in Form einer univariaten statistischen Datenauswertung dargestellt. Tabelle 12 liefert einen Überblick über den paarweisen Vergleich ausgewählter Standardparameter im Zu- und Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers. Beim paarweisen Vergleich werden zwei Proben miteinander verglichen und dabei analysiert, ob ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Datensätzen besteht. In den Tabellen wird angegeben, ob zwischen zwei Stichproben ein signifikanter Unterschied vorliegt (+: signifikant; -: nicht signifikant) und ob es sich um eine Erhöhung oder Verringerung handelt (↑: signifikant erhöht; ↓: signifikant verringert). Weiterhin ist das statistische Testverfahren angegeben, mit der die Signifikanzen ermittelt wurden. Als Testverfahren wurden der Student t-Test (Voraussetzungen: Normalverteilung, Varianzhomogenität) bzw. der U-Test eingesetzt, wenn die Voraussetzungen für den t-Test nicht gegeben waren. Darüber hinaus ist die Wahrscheinlichkeit p angegeben, die sich aus der Häufigkeit, mit der ein bestimmtes Ereignis bei einer gegebenen Anzahl möglicher Ereignisse eintritt, ableitet. Liegt die Wahrscheinlichkeit für ein Ereignis unterhalb der sogenannten Irrtumswahrscheinlichkeit, die in der Regel bei 5 % (also p = 0,05) angesetzt wird, so liegt ein signifikanter Unterschied vor. Ein p-Wert von nahe 1,00 bedeutet, dass es keinen Unterschied zwischen den beiden getesteten Stichproben gibt. Je kleiner der p-Wert ist, desto höher ist die Abweichung zwischen den beiden Stichproben.

Tabelle 12: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Standardparametern auf der Kläranlage Aachen-Soers im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AF vs. ZKA; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Kläranlage Soers Ablauf vs. Zulauf (AF vs. ZKA)	
	Sign.	p, Methode
TOC	+↓	<0,001, U-Test
DOC	+↓	<0,001, U-Test
TN_b	+↓	<0,001, U-Test
NH4-N	+↓	<0,001, U-Test
NO3-N*	+↑	<0,001, U-Test
NO2-N*	-	1,000, U-Test

Parameter	Kläranlage Soers Ablauf vs. Zulauf (AF vs. ZKA)	
	Sign.	p, Methode
N org.	+↓	<0,001, U-Test
P ges.	+↓	<0,001, U-Test
Chlorid*	-	0,439, t-Test
Sulfat*	+↑	0,023, t-Test
Bromid	-	0,369, U-Test

Es bestätigt sich demnach, dass die meisten Standardparameter, wie TOC, DOC, TN_b, NH4-N, $N_{org.}$ und $P_{ges.}$, im Ablauf der Kläranlage im Vergleich zum Zulauf signifikant verringert sind. Lediglich NO_3-N und Sulfat sind im Ablauf gegenüber dem Zulauf signifikant erhöht und resultieren aus der Verwendung von Grünsalz als Fällmittel (Eisen(II)Sulfat) auf der Kläranlage.

5.1.2 Abwasserparameter – Kläranlage Eilendorf

Die Kläranlage Eilendorf ist für 87.000 EW ausgelegt. Der Trocken- bzw. Mischwasserzulauf zur Kläranlage liegt bei Q_T = 261,5 l/s bzw. Q_M = 523 l/s. Verfahrenstechnisch ist die Kläranlage Eilendorf vergleichbar ausgestattet (Abbildung 9) wie die Kläranlage Aachen-Soers (vgl. Abbildung 8).

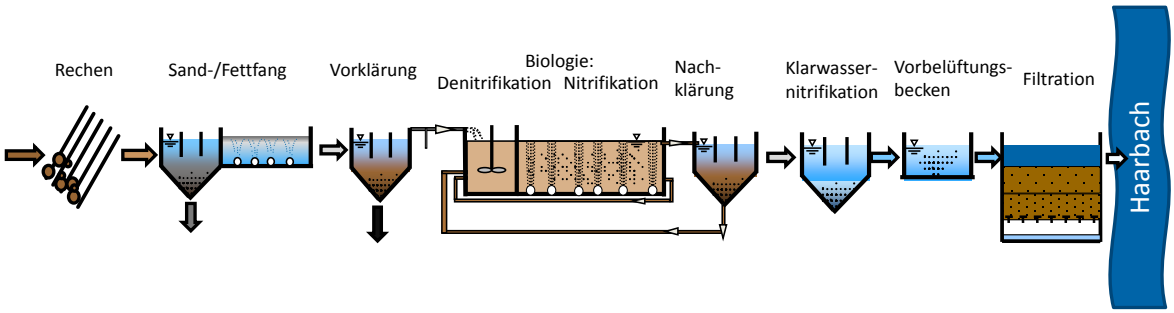

Abbildung 9: Verfahrensfließbild der Kläranlage Eilendorf

Die Beprobung der Kläranlage Eilendorf fand im Rahmen von DemO_3AC auf zwei Arten statt. Zum einen wurden im Rahmen des in diesem Bericht vorgestellten Monitorings am Zulauf der Kläranlage (ZKA-E) und am Ablauf der Kläranlage (AKA-E) Proben genommen. Zum anderen wurden im

Rahmen der Machbarkeitsstudie (s. Anlage 2) die Stellen Zulauf Biologie (ZBio-E) und Ablauf Biologie (ABio-E), also der Ablauf der Nachklärung, beprobt.

Basierend auf den Messwerten im Rahmen von DemO_3AC (n = 5) lag der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) im Median bei 476,3 mg/l im Zulauf und 13,3 mg/l im Ablauf der Kläranlage Eilendorf. Über die Behandlungsstufen der Kläranlage wurden demnach 97 % des CSB eliminiert. Allein in der biologischen Stufe (Zulauf–Ablauf Biologie) wurden 94 % des CSB, 96 % der abfiltrierbaren Stoffe und 88 % des DOC abgebaut. Nitrit lag im Ablauf der Nachklärung bei ca. 0,026 mg/l und Bromid bei 0,11 mg/l (ANK-E). Ebenso wie im Zusammenhang mit der Kläranlage Aachen-Soers decken sich die Ergebnisse dieser Datenauswertung mit denen der Selbstüberwachung der Kläranlage Eilendorf.

Die Reinigungsleistung der Kläranlage Eilendorf wurde anhand der Messdaten im Zu- und Ablauf statistisch bewertet und dient als Validierung. Tabelle 13 gibt einen Überblick über den paarweisen Vergleich ausgewählter Standardparameter im Zu- und Ablauf der Kläranlage Eilendorf. Ergebnis der Auswertung ist entweder eine signifikante Zu- oder Abnahme des jeweiligen Parameters zwischen den beiden Probenahmestellen. Die Methodik ist analog zu Tabelle 12 durchgeführt worden.

Tabelle 13: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Standardparametern auf der KA Eilendorf im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AKA-E vs. ZKA-E; ↓: signifikant verringert im AKA-E vs. ZKA-E; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Kläranlage Eilendorf Ablauf vs. Zulauf (AKA-E vs. ZKA-E)	
	Sign.	p, Methode
TOC	+↓	0,029, U-Test
DOC	+↓	0,029, U-Test
TN_b	+↓	0,029, U-Test
NH4-N	+↓	0,029, U-Test
NO3-N*	+↑	0,029, U-Test
NO2-N*	-	0,686, U-Test

Parameter	Kläranlage Eilendorf Ablauf vs. Zulauf (AKA-E vs. ZKA-E)	
	Sign.	p, Methode
N org.	+↓	0,029, U-Test
P ges.	+↓	0,029, U-Test
Chlorid*	-	0,762, t-Test
Sulfat*	-	0,846, t-Test
Bromid	-	0,467, t-Test

Die Konzentrationen der meisten Standardparameter wie TOC, DOC, TN_b, NH_4-N, $N_{org.}$ und $P_{ges.}$ sind im Ablauf der Kläranlage im Vergleich zum Zulauf signifikant verringert. Lediglich NO_3-N ist im Ablauf gegenüber dem Zulauf signifikant erhöht, jedoch stets unter Einhaltung des Überwachungswertes (18 mg/l) für die Kläranlage Eilendorf.

Die Zu- und Abläufe der Kläranlage Eilendorf wurden in einer multivariaten statistischen Analyse hinsichtlich der Kombination aus Standardparametern und Spurenstoffen verglichen, um den Einfluss der Zusammensetzung des Zulaufs auf die Konzentrationen der Parameter zu untersuchen (vgl. Abbildung 21 in Kap. 5.1.4).

Zusätzlich wurden die Kläranlagenabläufe in einer multivariaten statistischen Analyse mit den Probestellen im Haarbach und in der Wurm verglichen, um den Einfluss der Kläranlage auf die Wurm zu analysieren (vgl. Kap. 5.3).

Für die Kläranlage Eilendorf wurde im Rahmen des Projekts DemO$_3$AC eine Machbarkeitsstudie für die Umsetzung einer weitergehenden Reinigungsstufe zur Spurenstoffelimination durchgeführt, die diesem Bericht als separate Anlage beiliegt (8.1).

5.1.3 Spurenstoffe – Kläranlage Aachen-Soers

Die Überprüfung der Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf und im Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers hat das Ziel, die tagesabhängige bzw. stundenabhängige Belastung der Kläranlage mit Spurenstoffen abzubilden und nachzuvollziehen. Die Beprobung des Zulaufs ist eine wichtige Eingangsgröße zur Bestimmung der Reinigungsleistung der Kläranlage. Die Ermittlung der Konzentrationen im Ablauf der Nachklärung geben wichtige Hinweise darauf, wie sich die Belastung des Abwassers im Zulauf der zukünftigen Ozonung gestaltet, wohingegen die Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage einen Aufschluss über die Emissionen der Kläranlage in die Wurm zulassen.

Das auf der Kläranlage Aachen-Soers durchgeführte Screening umfasste eine Reihe von Substanzgruppen, wie z. B. Pharmaka, endokrin wirksame Substanzen und Haushalts- und Industriechemikalien. Die gemessenen Konzentrationen der einzelnen Spurenstoffe unterscheiden sich stark in Abhängigkeit des Probenahmetages und der Substanz, was auf verschiedene Phänomene, wie z. B. den Niederschlag, saisonale und betriebliche Nutzungs- bzw. Produktionszyklen und den Probenahmezeitpunkte bzw. die -intervalle zurückzuführen ist. Insbesondere die Beeinflussung der Spurenstoffkonzentration infolge von Niederschlagsereignissen und dadurch auftretenden erhöhten Abwasservolumina im Zulauf zur Kläranlage ist stark ausgeprägt. Für ausgewählte Substanzen ist ein Vergleich der gemessenen Zulaufkonzentrationen, unterteilt in Trockenwetterproben und Regenwetterproben, in Abbildung 10 aufgetragen. Für viele Pharmaka und Duftstoffe wird ein Effekt der Verdünnung infolge von Regenwetterereignissen beobachtet, der daher rührt, dass nicht durch diese Substanzen belastetes Niederschlagswasser in der Mischkanalisation mit belastetem kommunalem Abwasser gemeinsam gesammelt wird. Die Konzentration der entsprechenden Substanzen, z. B. Diclofenac oder Carbamazepin, nimmt in Folge dessen ab. Einen anderen Effekt zeigen Substanzen, die ungezielt in die Umwelt eingebracht und durch Niederschlagswasser ausgeschwemmt oder abgeschwemmt werden können (z. B. Bisphenol A oder Pflanzenschutzmittel). Für diese Substanzen ist keine Konzentrationsabnahme, sondern eine gleichbleibende Konzentration während der Niederschlagsereignisse beobachtbar.

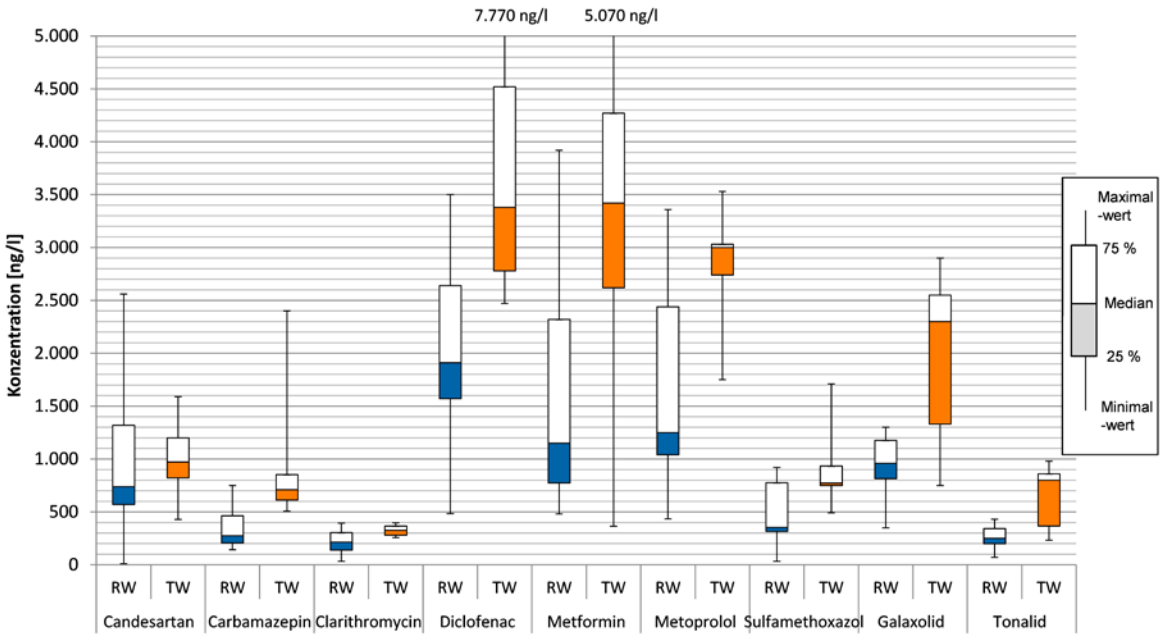

Abbildung 10: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf der Kläranlage Aachen-Soers in Abhängigkeit der Wetterbedingungen (Regenwetter (RW), Trockenwetter (TW). (n = 18)

Alle 24 h-Mischproben sind volumenproportionale Proben, weshalb eine einfache Berechnung der Fracht mithilfe des täglichen der Kläranlage zugeleiteten Volumenstroms möglich ist. Eine Berechnung der im Kläranlagenzulauf vorliegenden Frachten zeigt, dass diese für viele Pharmaka wie Diclofenac, Candesartan oder Clarithromycin von den Niederschlagsbedingungen unabhängig sind. Andere Substanzen, wie beispielsweise Bisphenol A, werden dagegen vermehrt während Niederschlagsereignissen eingetragen. Die Tatsache, dass die Frachten keine so starke Abhängigkeit von Regenwetter- und Trockenwetterbedingungen zeigen, stützt die These der Verdünnung durch die Einleitung von Niederschlagswasser in die Kanalisation. Für Bisphenol A kann dagegen im Regenwetterfall eine deutliche Zunahme der Fracht im Kläranlagenzulauf beobachtet werden. Dies ist auf eine entsprechende Auswaschung dieser Substanz aus Oberflächen zurückzuführen, die Bisphenol A als Weichmacher enthalten.

Die ausgewerteten volumenproportionalen 24 h-Mischproben bieten den Vorteil, dass über einen bestimmten Zeitraum Proben genommen und keine kurzfristigen Belastungsspitzen außer Acht gelassen werden. Einen detaillierteren Einblick in die Konzentrationsverläufe im Laufe eines Tages und das Verhalten der Spurenstoffkonzentrationen nach Einsetzen eines Regenereignisses bietet die Aufnahme von Tagesgängen. Hierfür wird innerhalb von 24 Stunden eine festgelegte Anzahl an Proben genommen und einzeln analysiert. Das Ergebnis eines Tagesganges ist eine deutlich detailliertere zeitliche Auflösung der Spurenstoffbelastung einer Kläranlage.

Die Aufnahme der Tagesgänge, die im Rahmen von DemO$_3$AC aufgenommen wurden, besteht aus zwölf separat erfassten 2 h-Mischproben je Tagesgang und zeigt die Variabilität der Zulaufkonzentrationen in einer Kläranlage. Die Beprobung umfasst einen Trockenwettertag, der nicht von

Niederschlag beeinflusst wurde, und einen Regenwettertag, an dem Niederschlag zu einer deutlichen Erhöhung des Volumenstroms im Zulauf der Kläranlage führte. Die Zulaufvolumenströme verändern sich in Kläranlagen generell über den Tag verteilt. Auf großen Kläranlagen, wie der Kläranlage Aachen-Soers, ist die Änderung des Zulaufvolumenstroms an einem Trockenwettertag weniger ausgeprägt. In Abbildung 11 sind die Zuflüsse und korrespondierenden Spurenstoffkonzentrationen in den Proben aufgetragen. Der Abbildung kann entnommen werden, dass für die logarithmisch dargestellten Konzentrationen der Pharmaka während eines Trockenwettertages eine Änderung der Konzentration im Tagesverlauf auftritt.

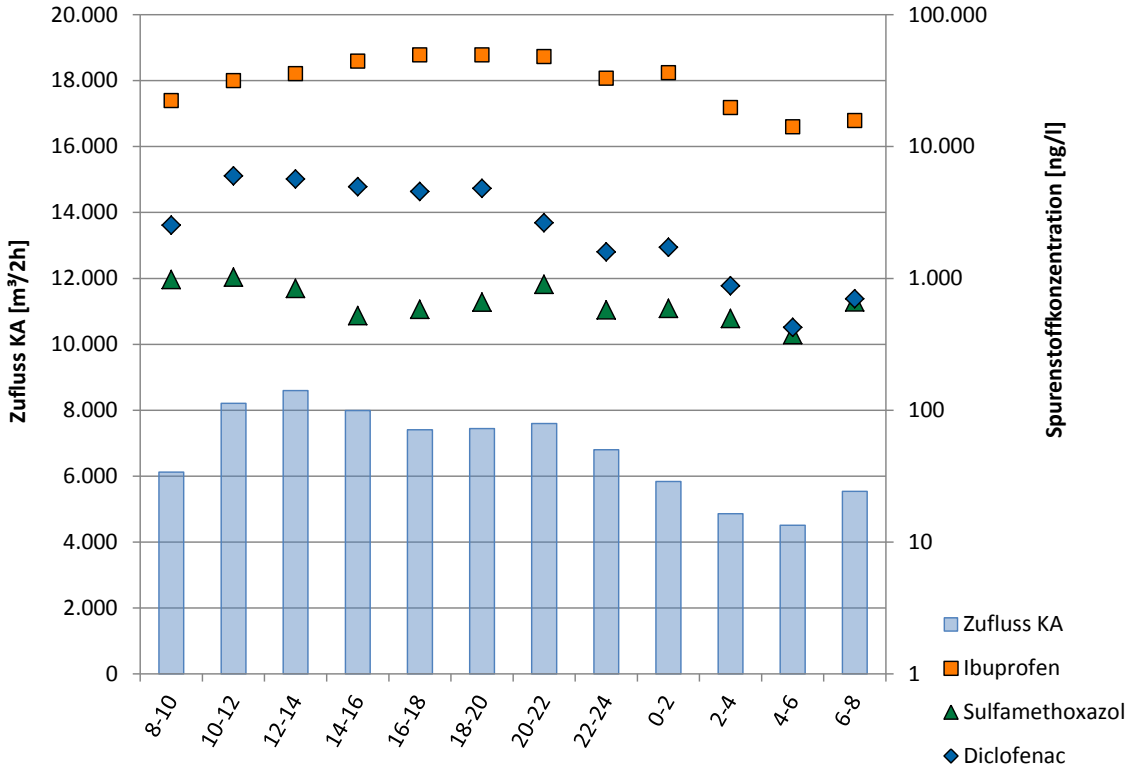

Abbildung 11: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Trockenwettertag (28.02.2016) im Zulauf der Kläranlage

Die beobachteten Konzentrationsverläufe sind für die hier dargestellten Pharmaka gut zu erklären. Sulfamethoxazol wird als Antibiotikum zweimal täglich in einem Abstand von ca. 12 h eingenommen. Daher sind auch im Zulauf der Kläranlage zwei Konzentrationsspitzen, um ca. 10:00–12:00 Uhr und 20:00–22:00 Uhr zu erkennen. Diclofenac kann sowohl oral eingenommen werden, als auch per Salbe auf die Haut aufgetragen werden. Die nicht über die Haut aufgenommenen Reste der Salbe werden während der nächsten Dusche abgewaschen und gelangen anschließend ins Abwasser bzw. in den Zulauf der Kläranlage. Dies erklärt einen Peak um 10:00–12:00 Uhr, da das Abwasser eine entsprechende Zeit benötigt, um von den Haushalten des Einzugsgebietes zum Zulauf der Kläranlage zu gelangen. Als weitere Substanz ist Ibuprofen abgebildet. Hier kann eine Erhöhung der Ibuprofenkonzentration über den Tag festgestellt werden, wohingegen in der Nacht

geringere Mengen an Ibuprofen eingenommen werden und entsprechend auch kleinere Konzentrationen im Zulauf der Kläranlage vorliegen. Die Beobachtung, dass die Spurenstoffkonzentration entsprechend des Nutzungsprofils am Tag in höheren Konzentrationen im Zulauf zu Kläranlagen zu finden ist, kann für nahezu alle untersuchten Substanzen (überwiegend Pharmaka + Benzotriazol) gemacht werden.

Im Gegensatz zu dem abgebildeten Trockenwettertag, kann am Regenwettertag eine deutlich stärkere Änderung des Konzentrationsprofils im Verlauf des Tages beobachtet werden. In Abbildung 12 sind die Konzentrationen (logarithmische Darstellung) der Substanzen Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac während eines Tagesgangs mit einem Regenereignisses aufgetragen. Der maximale Trockenwetterzufluss beträgt für die Kläranlage Aachen-Soers 1,2 m³/s, entsprechend ca. 8.640 m³/2h. Der beprobte Regenwettertag weist somit von 16:00 Uhr bis 08:00 Uhr einen Zufluss auf, der über dem maximalen Trockenwetterzufluss liegt.

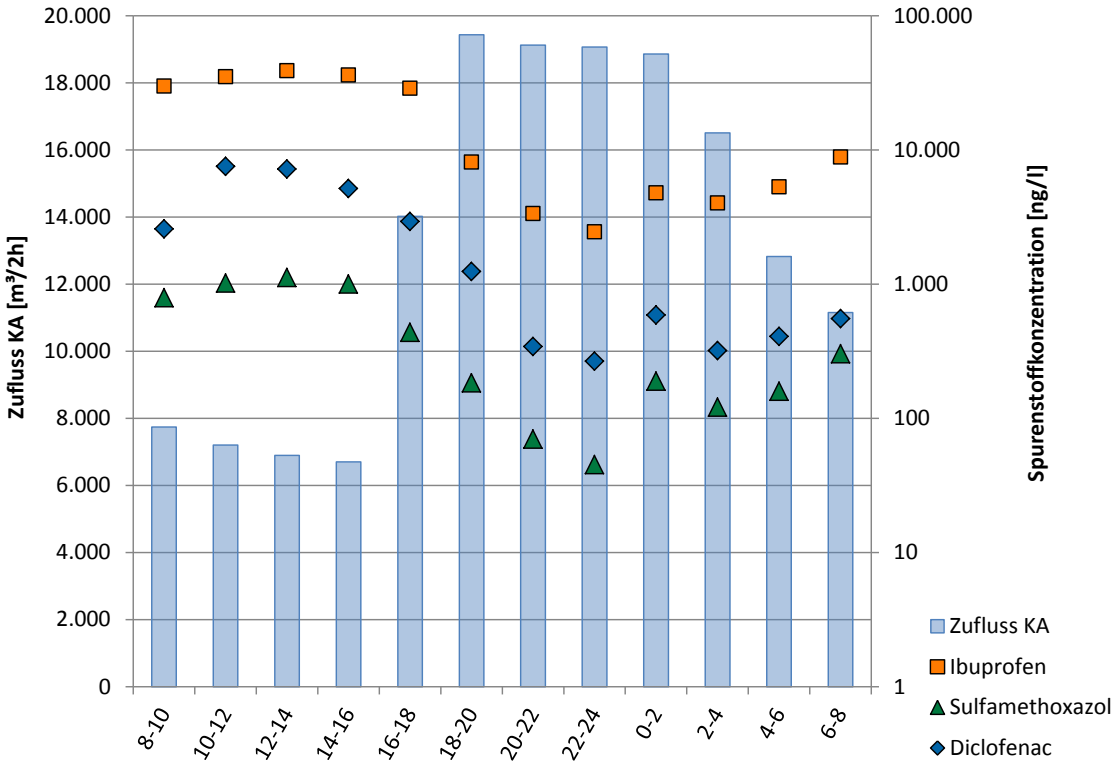

Abbildung 12: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Regenwettertag (26.04.2016) im Zulauf der Kläranlage

Die Spurenstoffkonzentration nimmt im Zulauf der Kläranlage für die hier dargestellten Substanzen infolge des Regenereignisses mit steigendem Zufluss stark ab. Insbesondere die Probe im Zeitraum von 16:00 Uhr bis 18:00 Uhr deutet darauf hin, dass keine Rücklösungen von Spurenstoffen im Kanal, in Folge eines Spülstoßes, auftreten. Die Abnahme der Spurenstoffkonzentration erfolgt umgehend, nachdem das mit Regenwasser vermengte Schmutzwasser im Zulauf der Kläranlage auftritt. Dieses Verhalten kann generell für alle untersuchten Substanzen beobachtet werden.

Die Auswertung des Screenings ergibt somit, dass die Spurenstoffkonzentration im Zulauf einer Kläranlage in hohem Maße von Niederschlagsereignissen abhängt. Tritt ein Regenereignis auf, zeigt sich dies in einer deutlichen Abnahme der Spurenstoffkonzentration im Zulauf zur Kläranlage (Verdünnungseffekt). Neben dem wetterbedingten Einfluss ist auch ein Rhythmus der Einnahme bzw. der Anwendung der verschiedenen Pharmaka im Zulauf erkennbar.

Eine weitergehende Reinigungsstufe zur Elimination von Spurenstoffen wird in der Regel mit dem Ablauf der Nachklärung beschickt. Daher ist es für deren Betrieb von besonderem Interesse, welche Spurenstoffbelastung an den verschiedenen Tagen im Ablauf der Nachklärung vorliegt. Diese Information bildet eine Grundlage für die Dimensionierung und die Implementierung einer Steuerung oder Regelung zum Betrieb der weitergehenden Reinigungsstufe.

Die Konzentrationen der Spurenstoffe im Ablauf der Nachklärung sind generell geringer als im Zulauf der Kläranlage, was auf eine Elimination im Rahmen des konventionellen Klärprozesses hinweist. Dies wurde auch im Rahmen einer statistischen Auswertung nachgewiesen. Tabelle 14 gibt einen Überblick über den paarweisen Vergleich von Spurenstoffkonzentrationen im Zu- und Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers. Beim paarweisen Vergleich werden zwei Proben miteinander verglichen und analysiert, ob ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Datensätzen besteht. Als Testverfahren wurden der Student t-Test (Voraussetzungen: Normalverteilung, Varianzhomogenität) bzw. der U-Test eingesetzt, wenn die Voraussetzungen für den t-Test nicht gegeben waren. Darüber hinaus ist die Wahrscheinlichkeit p angegeben, die sich aus der Häufigkeit, mit der ein bestimmtes Ereignis bei einer gegebenen Anzahl möglicher Ereignisse eintritt, ableitet. Ein signifikanter Unterschied liegt bei 5 %, also $p = 0{,}05$. Ein p-Wert von nahe 1 bedeutet, dass es keinen Unterschied zwischen den beiden getesteten Stichproben gibt.

Für diese Analyse wurden zwanzig Spurenstoffe ausgewählt. Für vierzehn dieser Substanzen wurde die Konzentration im Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers signifikant gegenüber dem Zulauf verringert. Sechs der gewählten Substanzen wurden dagegen nicht signifikant verringert. Eine explizite Betrachtung der Eliminationsraten ausgewählter Substanzen ist im weiteren Verlauf in Abbildung 16 dargestellt.

Tabelle 14: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Spurenstoffen auf der Kläranlage Aachen-Soers im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA, p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Kläranlage Soers Ablauf vs. Zulauf (AF vs. ZKA)		Parameter	Kläranlage Soers Ablauf vs. Zulauf (AF vs. ZKA)	
	Sign.	p, Methode		Sign.	p, Methode
Acesulfam	+↓	<0,001, U-Test	**Ibuprofen**	+↓	<0,001, U-Test
Aminoantipyrin	+↓	<0,001, U-Test	**Methylbenzotriazol**	+↓	0,004, U-Test
Atenolol	+↓	0,047, U-Test	**Metoprolol**	+↓	<0,001, U-Test
Benzotriazol	+↓	<0,001, U-Test	**Naproxen**	-	0,721, U-Test
Bisoprolol	-	0,102, U-Test	**Sotalol**	-	0,052, U-Test
Candesartan	+↓	0,021, U-Test	**Sulfamethoxazol**	+↓	0,002, t-Test
Carbamazepin	-	0,343, t-Test	**Telmisartan**	-	0,846, t-Test
Clarithromycin	+↓	0,001, t-Test	**Tramadol**	-	0,798, U-Test
Diclofenac	+↓	0,002, U-Test	**Valsartan**	+↓	<0,001, U-Test
Gabapentin	+↓	0,011, U-Test	**Galaxolid**	+ ↓	<0,001, U-Test

Für nahezu alle Pharmaka wie auch für die Haushalts- und Industriechemikalien gilt im Ablauf der Nachklärung ebenso wie im Zulauf der Kläranlage, dass eine Abnahme der Spurenstoffkonzentration in den 24 h-Mischproben im Regenwetterfall auftritt. Diese Unterschiede sind in Abbildung 13 für den Ablauf der Nachklärung dargestellt. Die Konzentrationen der Spurenstoffe im Ablauf der Nachklärung sind generell geringer als im Zulauf der Kläranlage, was auf eine Elimination im Rahmen des konventionellen Klärprozesses zurückzuführen ist. Zudem lässt sich feststellen, dass die Unterschiede der Konzentrationen zwischen Regenwetter und Trockenwetter im Ablauf der Nachklärung weniger stark ausgeprägt sind, als im Zulauf der Kläranlage. Dies ist auf die Vermischung des Abwassers innerhalb des Belebungsprozesses zurückzuführen. Beim Einsetzen eines Regenereignisses und der Zunahme des Abwasservolumenstroms wird zunächst das noch vorhandene Abwasser aus der Belebung in die Nachklärung gefördert und anschließend über die Rezirkulation und den Rücklaufschlamm mit dem zufließendem verdünnten Mischwasser vermengt. So findet eine Vergleichmäßigung der Konzentration statt.

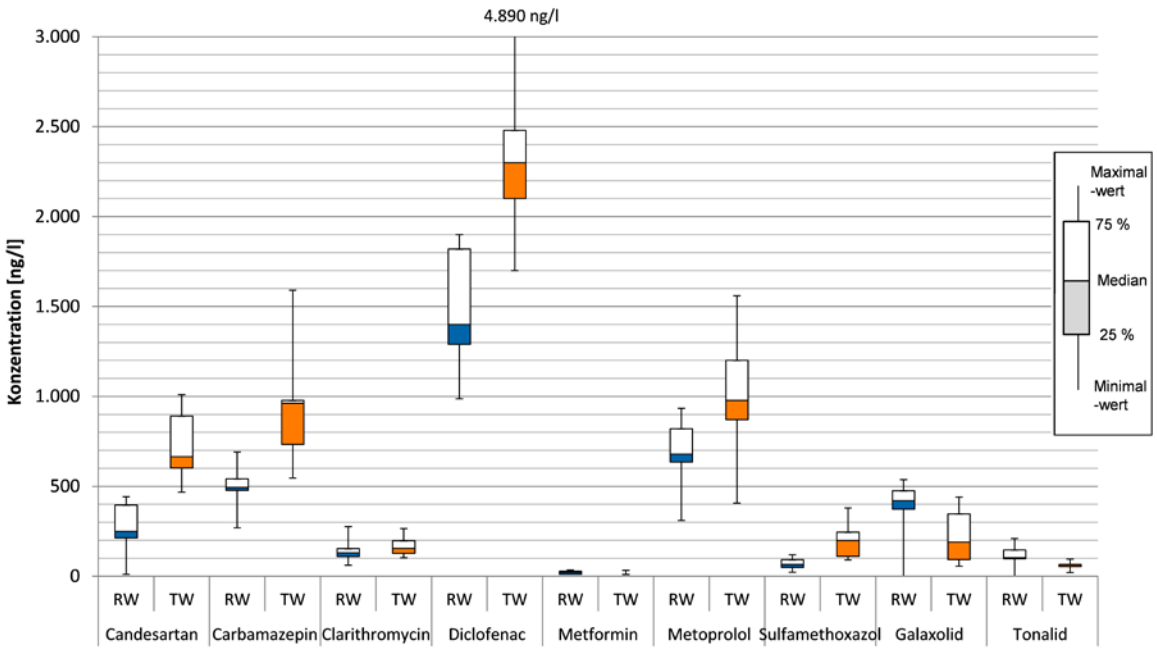

Abbildung 13: Spurenstoffkonzentrationen im Ablauf der Nachklärung Aachen-Soers in Abhängigkeit der Wetterbedingungen (TW,RW). (n = 18, Ausnahme: BPA (n = 16), Galaxolid und Tonalid (n = 14))

Die Berechnung der Frachten zeigt, dass für nahezu alle untersuchten Substanzen eine Zunahme der Fracht im Ablauf der Nachklärung während der Regenwettertage zu verzeichnen ist. Dies ist auf die deutlich erhöhten Abwasservolumenströme mit einer gleichzeitig verhältnismäßig geringen reduzierten Ablaufkonzentration zurückzuführen. Somit kann im Ablauf der Nachklärung die Verdünnung, welche im Zulauf der Kläranlage auftritt, nicht wiedergefunden werden. Die Fracht von Diclofenac beispielsweise ist an Regenwettertagen etwa doppelt so hoch wie an Trockenwettertagen. Insgesamt sind die gesamten Frachten, im Vergleich zum Zulauf zur Kläranlage, jedoch deutlich reduziert.

In einer höheren Auflösung zeigt jeweils ein Tagesgang bei Trockenwetter und bei Regenwetter die Konzentrationsverläufe der untersuchten Spurenstoffe. Im Ablauf der Nachklärung verändern sich die Konzentrationen (logarithmische Darstellung), exemplarisch für Diclofenac, Ibuprofen und Sulfamethoxazol, dargestellt in Abbildung 14, nur geringfügig, was auf die Rezirkulation in der biologischen Stufe und daraus folgend einer Vergleichmäßigung zurückzuführen ist.

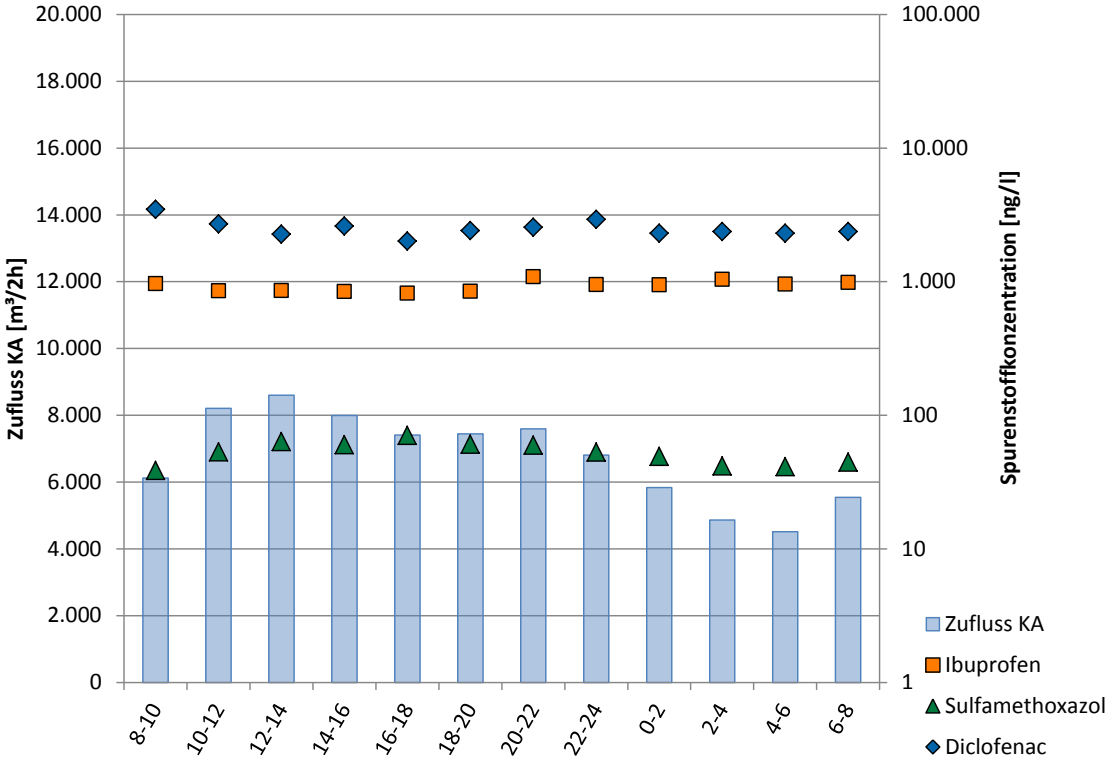

Abbildung 14: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Trockenwettertag (28.02.2016) im Ablauf der Nachklärung

Am Regenwettertag findet zeitverzögert zur Zunahme des Abwasservolumenstroms zunächst eine Zunahme und anschließend eine Abnahme der Spurenstoffkonzentration statt. Diese Variation fällt jedoch deutlich geringer aus, als im Zulauf zur Kläranlage. Eine Erklärung hierfür könnte die Restbelastung des Belebungsbeckens sein, die infolge des Niederschlagereignisses ausgeschwemmt wird. Dadurch erhöht sich die Spurenstoffkonzentration. Im Anschluss daran folgt das durch den Niederschlag verdünnte Abwasser aus dem Belebungsbecken, weshalb die Spurenstoffkonzentration wieder sinkt. Insgesamt ist für die untersuchten Spurenstoffe ein deutlich gleichmäßigerer Konzentrationsverlauf im Ablauf der Nachklärung während des Regenwettertages im Vergleich zum Zulauf zu erkennen. Für Ibuprofen und Sulfamethoxazol kann eine leichte Zunahme der Konzentration mit Zunahme des Volumenstroms ab 20:00 Uhr bis ca. 00:00 Uhr festgestellt werden. Anschließend fällt die Konzentration im Abwasser wieder ab. Es sind jedoch keine Verdünnungseffekte infolge eines Regenereignisses erkennbar (vgl. Abbildung 15).

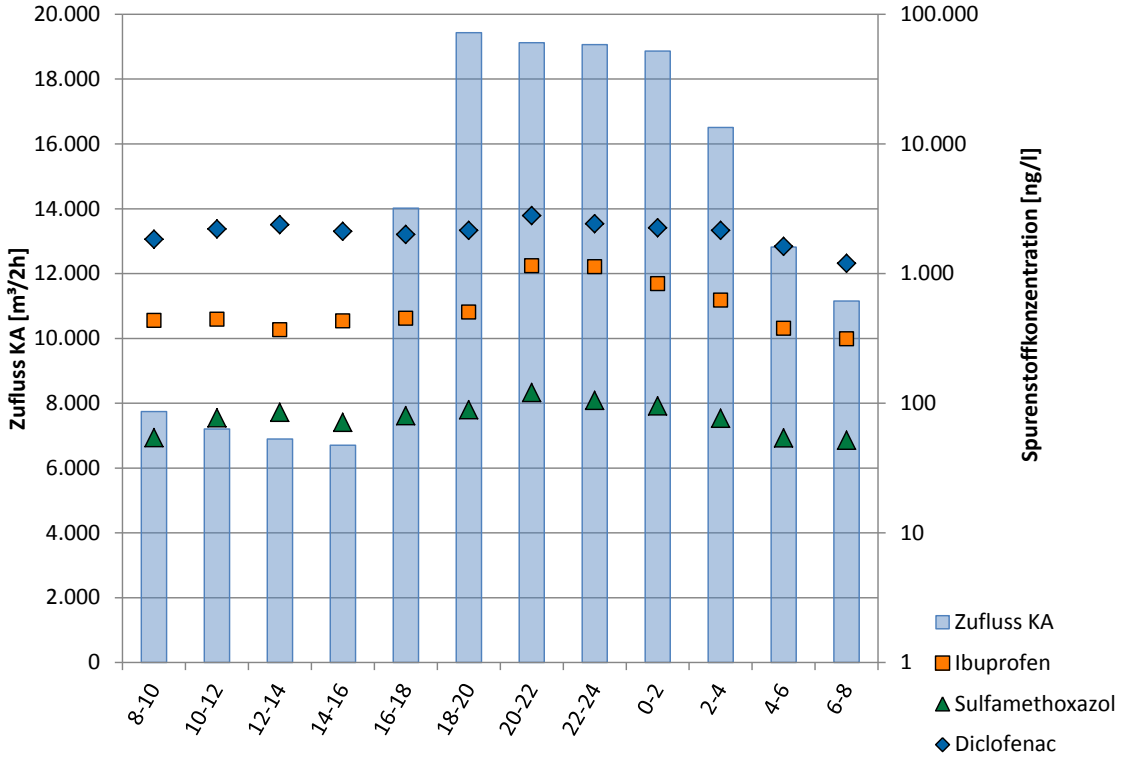

Abbildung 15: Tagesgang der Zuflussmengen [m³/2h] und Konzentrationen für Ibuprofen, Sulfamethoxazol und Diclofenac an einem Regenwettertag (26.04.2016) im Ablauf der Nachklärung

Die Konzentrationen der Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage sind für die Ermittlung der Reinigungsleistung der gesamten Kläranlage entscheidend. Des Weiteren geben diese Konzentrationen Auskunft über die Frachten, welche durch die Kläranlage Aachen-Soers in die Wurm eingeleitet werden. Das Abwasser durchfließt im Anschluss an die Nachklärung eine nachgeschaltete Klarwassernitrifikation und einen Sandfilter. Die Konzentrationen der Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage zeigten für einige Substanzen vergleichbare Ergebnisse zu den Proben aus dem Ablauf der Nachklärung, somit änderte sich ihre Konzentration in den der Nachklärung nachgeschalteten Reinigungsstufen nicht. Für Sulfamethoxazol kam es jedoch zu einer Zunahme der Konzentration um durchschnittlich 45 %. Dafür wurde die Konzentration von N-Acetyl-Sulfamethoxazol zu ca. 50 % abgebaut. Weitere Stoffe, die in den nachgeschalteten Reinigungsstufen im Mittel um ca. 40–50 % abgebaut wurden sind beispielsweise Ibuprofen, Valsartan, Aminoantipyrin und Metoprolol.

Für die Bewertung der Reinigungsleistung der kommunalen Kläranlage wurden volumenproportionale 24 h-Mischproben an den verschiedenen Stellen in der Kläranlage gezogen. Da für eine weitergehende Reinigungsstufe wie die Ozonung der Ablauf der Nachklärung als relevantester Abwasserstrom identifiziert wurde und die Reinigungsstufen Klarwassernitrifikation sowie Filtration in dieser Kombination nur selten mit anderen Kläranlagen vergleichbar sind, wurde die Elimination der Spurenstoffe auf der Kläranlage Aachen-Soers ebenfalls vom Zulauf der Kläranlage bis zum Ablauf der Nachklärung ermittelt. Für einige Substanzen, wie z. B. Ibuprofen, Valsartan, N-Acetyl-

Sulfamethoxazol oder Metformin kann bereits durch die konventionelle Kläranlage eine Spurenstoffelimination von im Mittel über 90 % erreicht werden. Dies entspricht auch den Substanzen, die in den Stufen Klarwassernitrifikation und Filtration die höchsten Abbauraten zeigen. Weitere Spurenstoffe, wie Metoprolol, Sulfamethoxazol oder Benzotriazol können noch zu > 50 % reduziert werden. Für Carbamazepin wurde dagegen im Mittel eine negative Spurenstoffelimination ermittelt, was durch die im Mittel höheren Konzentrationen im Ablauf der Nachklärung als im Zulauf der Kläranlage zustande kommt. Dies ist auf die im Rahmen der Literaturauswertung dargestellte Reduktion von Carbamazepin-Konjugaten zu Carbamazepin während der biologischen Reinigung zurückzuführen.

Eine detaillierte Auswertung der Eliminationsgrade zeigt, dass die Spurenstoffe durch die Kläranlage im Mittel besser bei Trockenwetter als bei Regenwetter eliminiert werden. In Abbildung 16 ist dafür die mittlere Elimination der einzelnen Spurenstoffe getrennt für Trockenwetter und Regenwetter dargestellt. Für die Berechnung der Eliminationsleistung wurden zunächst die Mediane aller gemessenen Zulaufproben zur Kläranlage und Ablaufproben der Nachklärung im Trockenwetterfall und Regenwetterfall berechnet und die Eliminationsleistung der Kläranlage aus diesen Medianwerten bestimmt, vgl. Formel 4.

Formel 4

$$\text{Mittlere Elimination [\%]} = 100 * \left(1 - \frac{\text{Median Ablauf } NK_{TW/RW}}{\text{Median Zulauf } KA_{TW/RW}}\right)$$

Substanzen, die in Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze im Abwasser vorliegen, werden mit einer Konzentration in Höhe der Bestimmungsgrenze 10 ng/l in der Berechnung berücksichtigt, um im Zusammenhang mit der berechneten Elimination den Wert anzugeben, der mindestens erreicht wird. Negative Eliminationsleistungen sind zum einen eine Folge der nicht korrespondierenden Proben im Zulauf der Kläranlage und im Ablauf der Nachklärung, da diese zeitgleich von 08:00 Uhr bis 08:00 Uhr gezogen werden; zum anderen wurde von negativen Eliminationsleistungen für beispielsweise Carbamazepin bereits in der Literatur berichtet (Aymerich et al. 2016).

Der Einfluss des Niederschlags auf die Eliminationsleistung der Kläranlage ist für Substanzen, die sehr gut biologisch abgebaut werden können, vergleichsweise gering. Für mäßig biologisch abbaubare Substanzen wie z. B. Atenolol oder Diclofenac wird der Unterschied zwischen Regenwetter und Trockenwetter jedoch deutlich. Dies ist auf die zuvor beschriebene Verringerung der Spurenstoffkonzentration im Zulauf der Kläranlage infolge des Verdünnungseffekts eines Niederschlagsereignisses zurückzuführen, die stärker ist als die Konzentrationsabnahme im Ablauf der Nachklärung. Weitere untersuchte Substanzen, wie z. B. die Moschusverbindungen, werden ebenfalls stärker bei Trockenwetter als bei Regenwetter reduziert.

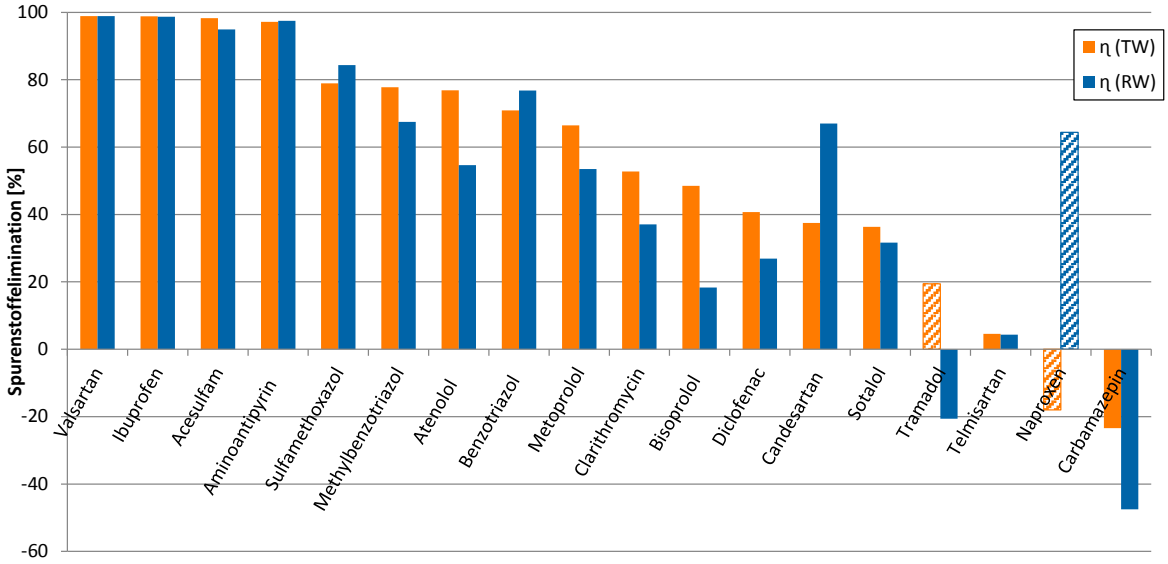

Abbildung 16: Spurenstoffelimination auf der Kläranlage Aachen-Soers (Zulauf Kläranlage–Ablauf Nachklärung; gestreifte Balken: mindestens eine Probe ANK unter BG (n_{TW} = 9, n_{RW} = 9).

Die Aufnahme eines Wochengangs von Samstag, den 21.11.2015 bis Freitag, den 27.11.2015 zeigt deutlich, dass die Konzentration der Spurenstoffe im Zulauf der Kläranlage von der zufließenden Abwassermenge bzw. dem Niederschlag abhängig ist. Dabei verhält sich die Spurenstoffkonzentration generell umgekehrt proportional zum Zulaufvolumenstrom der Kläranlage. Mit zunehmender Abwassermenge und damit zunehmender Niederschlagswassereinleitung liegt die Konzentration im Zulauf der Kläranlage, wie zuvor berichtet, in geringeren Konzentrationen vor. Im Ablauf der Nachklärung ist dieses Phänomen zeitversetzt zu beobachten, wie beispielhaft in Abbildung 17 für Diclofenac und Benzotriazol dargestellt. Daraus resultieren stark schwankende Eliminationsgrade für die verschiedenen Spurenstoffe innerhalb einer Woche, wobei die Eliminationsleistung an Regenwettertagen geringer ist als an Trockenwettertagen. Gut in Kläranlagen reduzierbare Substanzen, wie Ibuprofen, werden so stark reduziert, dass die Veränderung der Zulaufkonzentration durch Regenwetterereignisse einen vergleichsweise geringen Einfluss auf die Eliminationsleistung hat. Substanzen, die bei Trockenwetter bereits um > 90 % reduziert werden, werden auch bei Regenwetter ähnlich gut eliminiert.

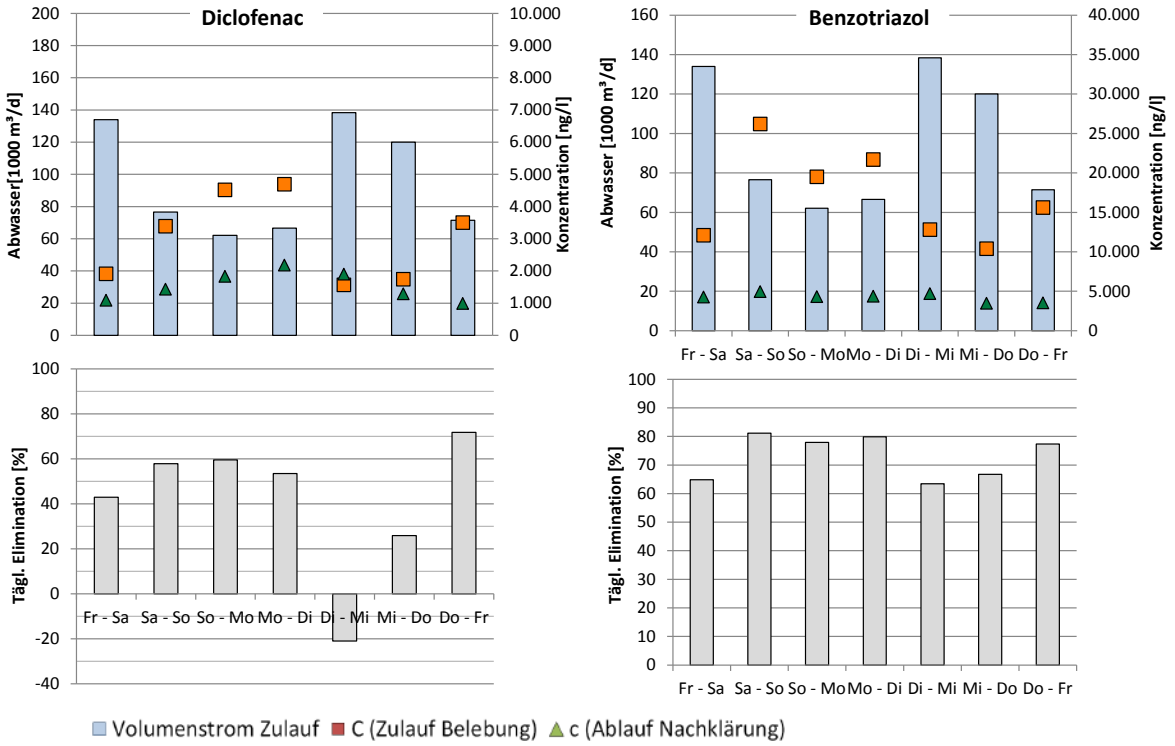

Abbildung 17: Wochengang der Diclofenac- und der Benzotriazol-Konzentration im Zulauf der Belebung Aachen-Soers und im Ablauf der Nachklärung für den Zeitraum 20.–27.11.2015

Im Vergleich zu regelmäßig eingenommenen Pharmaka, wie Clarithromycin, Metoprolol oder Sulfamethoxazol, bei denen ein vergleichbarer Konzentrationsverlauf für diesen aufgenommenen Wochengang zu erkennen ist, werden Industrie- und Haushaltschemikalien zusätzlich von anderen Faktoren beeinflusst, wie z. B. Produktions- und Reinigungszyklen. Die Konzentration im Zulauf zur Kläranlage korreliert deshalb im Vergleich zu Pharmaka schlechter mit der Zuflusswassermenge.

Abbildung 18 zeigt eine multivariate Analyse, um den Zusammenhang zwischen der Konzentration der Spurenstoffe bzw. der Standardparameter im Zulauf und im Ablauf der Kläranlage und dem Zuflussvolumenstrom untersucht. Die Zulaufproben sind als rote Symbole dargestellt und die Proben vom Ablauf des Filters als orange Symbole. In der Abbildung 18 ist zu erkennen, dass sich die Parameter in zwei Gruppen aufspalten. Die eine Gruppe stellen Substanzen dar, die gut in der Kläranlage Aachen-Soers eliminierbar sind, d. h. deren Konzentrationen im Zulauf deutlich höher als im Ablauf sind. Dies sind Substanzen, deren Pfeile annähernd parallel zur ersten Hauptachse liegen und die vom Ursprung nach rechts zeigen. Darunter fallen beispielsweise Diclofenac (DCF), Gabapentin (GAB), Acesulfam (ACE), Benzotriazol (BZT), Metformin (MET), Ibuprofen (IBU) und Metoprolol (METO). Dies gilt auch für viele abwassertypische Standardparameter wie z. B. AFS, NH_4-N, P_{ges} und TOC.

Die andere Gruppe bilden Substanzen, die im Vergleich eher parallel zur zweiten Hauptachse liegen bzw. vom Ursprung nach rechts oben zeigen. Dies sind Substanzen, die meist schlechter eli-

miniert werden und deren Konzentrationen sich zwischen Zulauf und Ablauf weniger stark unterscheiden. Dazu gehören die Spurenstoffe Carbamazepin (CBZ), Tramadol (TRAM), Bisoprolol (BIS), Telmisartan (TEL), Sotalol (SOT) und Candesartan (CAND) sowie die Abwasserparameter Sulfat (Sul), Nitrit (NO2) und Bromid (Br). Beachtet man nun neben den Konzentrationen im Zu- und Ablauf zusätzlich die Zuflussmenge, die als erklärende Variable in dem Diagramm als roter Pfeil zusätzlich dargestellt ist, so fällt auf, dass die Gruppe der vergleichsweise schlechter eliminierbaren Substanzen in entgegengesetzte Richtung zum roten Pfeil der Zuflussmenge zeigt. Dies bedeutet, dass für diese Substanzen die Konzentrationen im Zu- und Ablauf mit zunehmender Zuflussmenge abnimmt. Erklärt werden kann diese Abnahme z. B. durch den Verdünnungseffekt bei Regenwetter. Dagegen besteht für die Substanzen, die im Vergleich besser eliminierbar sind (Pfeile parallel zur 1ersten Hauptachse), kein Zusammenhang zwischen der Zuflussmenge und den Konzentrationen im Zu- und Ablauf. Für diese Substanzgruppe steht der Zuflusspfeil etwa rechtwinklig zu den Substanzpfeilen, dies bedeutet dass kein statistischer Zusammenhang zwischen der Zuflussmenge und der Substanzkonzentration besteht.

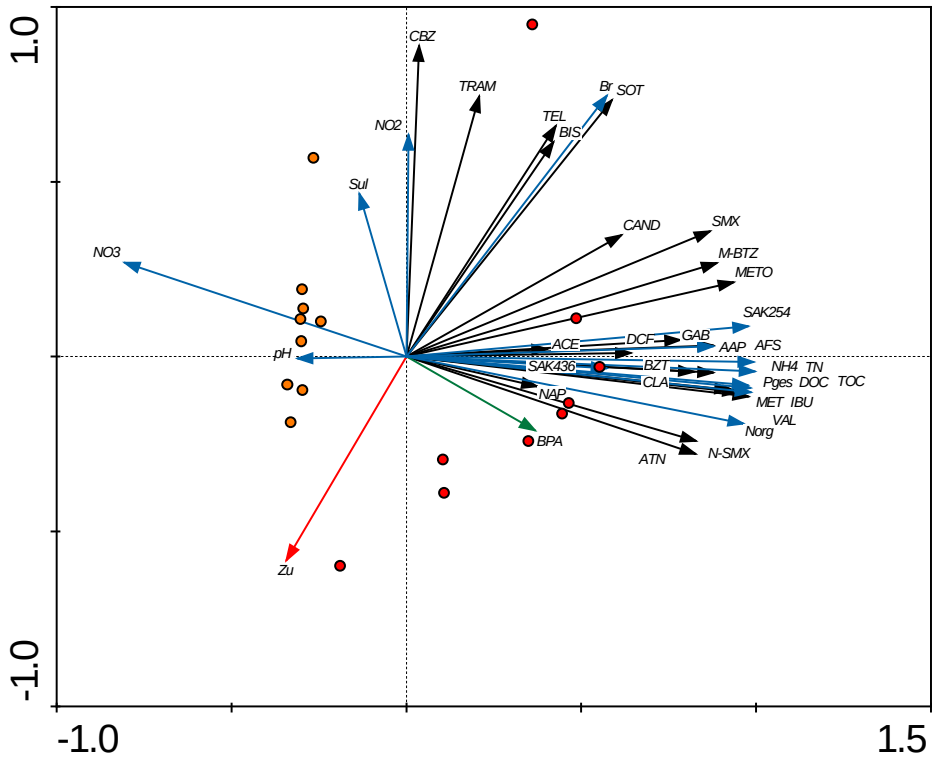

Abbildung 18: PCA der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Zulauf Kläranlage = rot; Ablauf Filter = orange) auf Basis der Analytikdaten zu den Pharmaka (schwarze Pfeile), Bisphenol A (grüner Pfeil) und den Standardparametern (blaue Pfeile) aus Phase 1A (9 Termine). Zusätzlich ist als erklärende Variable die Zuflussmenge als roter Pfeil eingezeichnet. Eigenwert Achse 1: 0,732, Achse 2: 0,069. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 80 %.

Die in Abbildung 18 verwendeten Abkürzungen sind in Tabelle 51 im Anhang aufgeführt.

5.1.4 Spurenstoffe – Kläranlage Eilendorf

Die Überwachung (n = 4, 2017) zeigte vergleichbare Eliminationsleistungen der Kläranlage Eilendorf (Zulauf Kläranlage bis Ablauf Kläranlage), wie für die Kläranlage Aachen-Soers. So werden die Spurenstoffe Ibuprofen und Valsartan beispielsweise auf der Kläranlage Eilendorf ebenfalls im Mittel bereits über 90 % reduziert. Für Carbamazepin konnte ein durchschnittlicher Anstieg der Konzentration vom Zulauf der Kläranlage bis zum Ablauf der Kläranlage festgestellt werden. Für die übrigen untersuchten Spurenstoffe konnten Eliminationsleistungen entsprechend derer, die auf der Kläranlage Aachen-Soers vorgefunden wurden, nachgewiesen werden. Eine Übersicht der Konzentrationen einiger untersuchter Spurenstoffe im Zulauf und im Ablauf der Kläranlage Eilendorf sowie die Reduktion der Spurenstoffe durch die Kläranlage sind in Abbildung 19 dargestellt.

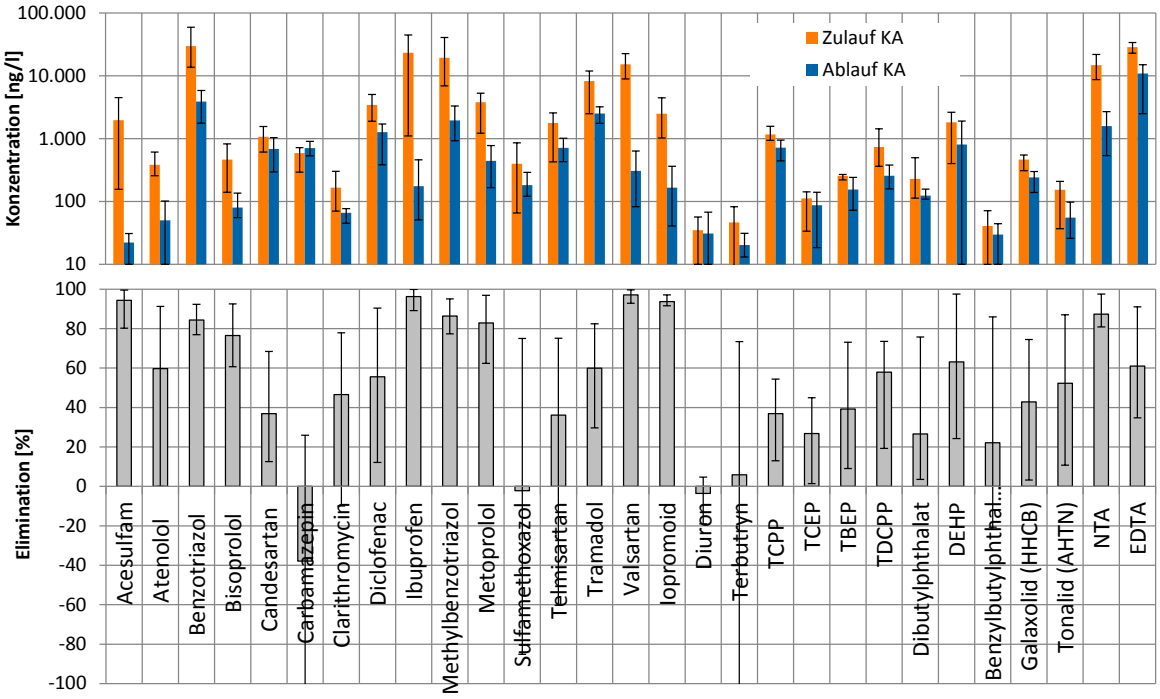

Abbildung 19: Spurenstoffkonzentration und -elimination auf der Kläranlage Eilendorf vom Zulauf bis zum Ablauf der Kläranlage (n=4).

Für die Kläranlage Eilendorf wurde im Rahmen des Monitorings ebenfalls ein Wochengang aufgenommen, der die Reduktion der Spurenstoffkonzentration in der biologischen Stufe (Zulauf Belebung – Ablauf Nachklärung) überwachte. Hierzu wurden an fünf aufeinanderfolgenden Tagen (20.08.-25.08.2017) jeweils 24 h-Mischproben entnommen. Die Zulaufvolumenströme zur Kläranlage lagen in der gewählten Woche relativ gleichmäßig vor. Entsprechend sind die Schwankungen der Eliminationsleistung von z. B. Diclofenac relativ gering, vgl. Abbildung 20. Während des Wochengangs erfolgte für die untersuchten Spurenstoffe von sonntags bis donnerstagsmorgens eine Zunahme der Konzentration im Zulauf der biologischen Stufe und anschließend eine Reduktion der Zulaufkonzentration von Donnerstag auf Freitag. Die Konzentrationen im Ablauf der Nachklärung waren dagegen, wie bereits auf der Kläranlage Aachen-Soers beobachtet, deutlich gleichmä-

ßiger. Der Eliminationsgrad von Benzotriazol in der biologischen Reinigung ist geringer, als für die gesamte Reinigungsleistung von Zulauf Kläranlage bis zum Ablauf der Kläranlage erwartet wurde. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass Benzotriazol recht gut adsorbierbar ist und eventuell schon in der vorgeschalteten mechanischen Reinigung zu einem gewissen Grad reduziert wird.

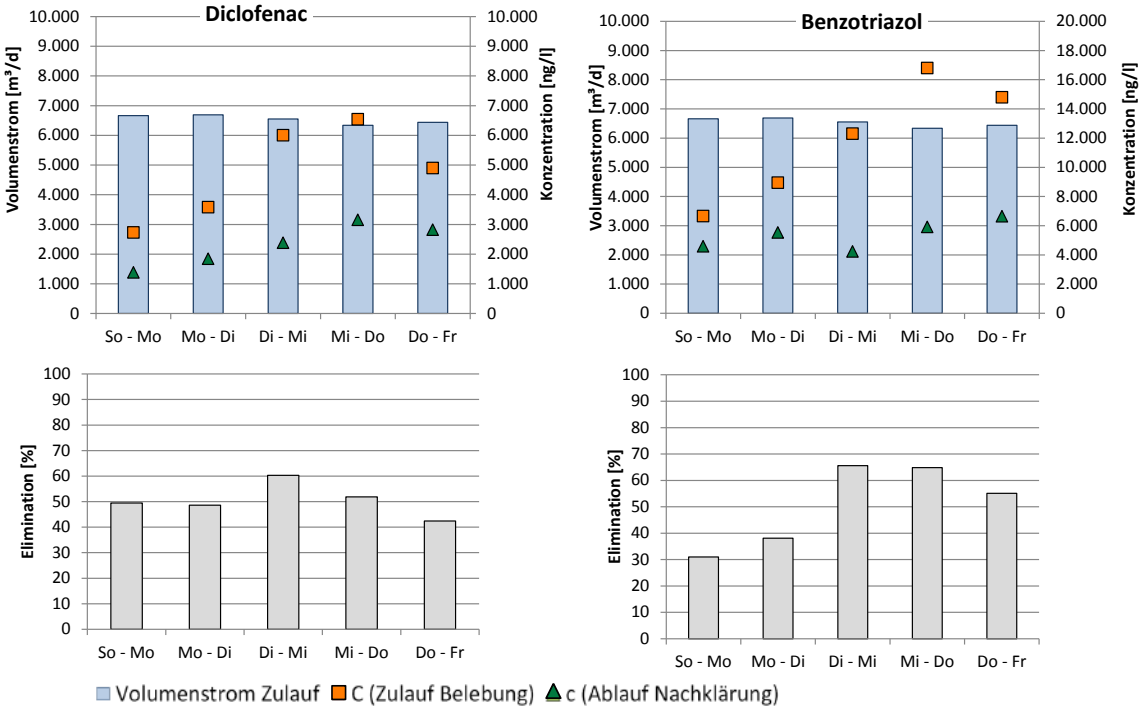

Abbildung 20: Wochengang der Diclofenac- und der Benzotriazol-Konzentration im Zulauf der Biologie der Kläranlage Eilendorf und im Ablauf der Nachklärung für den Zeitraum 20.–25.08.2017

Für die Daten, welche auf der Kläranlage Eilendorf aufgenommen wurden, wurde ebenfalls eine statistische Auswertung vorgenommen. Tabelle 15 gibt einen Überblick über den paarweisen Vergleich von Spurenstoffkonzentrationen im Zu- und Ablauf der Kläranlage Eilendorf. Das bedeutet, dass zwischen dem Datenpaar aus Zu- und Ablauf die Überprüfung auf einen signifikanten Unterschied durchgeführt wurde. Als Methode wurde, je nach Datensatz entweder der Student t-Test (Voraussetzungen: Normalverteilung, Varianzhomogenität) bzw. der U-Test eingesetzt, wenn die Voraussetzungen für den t-Test nicht gegeben waren. Die Wahrscheinlichkeit wird über p angegeben: Ein p-Wert von nahe 1 bedeutet, dass es keinen Unterschied zwischen den beiden getesteten Stichproben gibt. Je kleiner der p-Wert ist, desto höher ist die Abweichung zwischen den beiden Stichproben. 24 Spurenstoffe wurden für diese Analyse ausgewählt. Mit n = 4 ist der Datensatz für die Kläranlage Eilendorf deutlich kleiner als der für die Kläranlage Aachen-Soers.

Tabelle 15: Paarweiser Vergleich der Konzentrationen von ausgewählten Spurenstoffen auf der Kläranlage Eilendorf im Ablauf im Vergleich zum Zulauf (Datensatz „Screening“) (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↓: signifikant verringert im AF vs. ZKA, p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Kläranlage Eilendorf Ablauf vs. Zulauf (AKA-E vs. ZKA-E)		Parameter	Kläranlage Eilendorf Ablauf vs. Zulauf (AKA-E vs. ZKA-E)	
	Sign.	p, Methode		Sign.	p, Methode
Acesulfam	+↓	0,029, U-Test	**Metoprolol**	+↓	0,01, t-Test
Aminoantipyrin	+↓	0,029, U-Test	**Naproxen**	-	0,114, U-Test
Atenolol	-	0,107, t-Test	**Sotalol**	-	0,266, t-Test
Benzotriazol	-	0,053, t-Test	**Sulfamethoxazol**	-	1,00, U-Test
Bisoprolol	+↓	0,035, t-Test	**Telmisartan**	-	0,078, t-Test
Candesartan	-	0,205, t-Test	**Tramadol**	-	0,114, U-Test
Carbamazepin	-	0,369, t-Test	**Valsartan**	+↓	0,029, U-Test
Clarithromycin	-	0,089, t-Test	**Galaxolid**	+ ↓	0,014, t-Test
Diclofenac	+↓	0,028, t-Test	**TCPP**	+↓	0,044, t-Test
Gabapentin	-	0,686, U-Test	**TCEP**	-	0,523, t-Test
Ibuprofen	+↓	0,029, U-Test	**TBEP**	-	0,057, U-Test
Methylbenzotriazol	-	0,069, t-Test	**TDCPP**	-	0,095, t-Test

Für neun dieser Substanzen war die Konzentration im Ablauf der Kläranlage Eilendorf aufgrund der guten Eliminationsleistung signifikant gegenüber dem Zulauf verringert. 15 dieser Substanzen zeigten dagegen keine signifikante Verringerung über die Reinigungsstufen der Kläranlage. Dies sind überwiegend die Substanzen, für die geringe Eliminationsraten ermittelt wurden, wie Candesartan, Carbamazepin, Sulfamethoxazol, Telmisartan sowie die Flammschutzmittel TCEP und TBEP (vgl. Abbildung 19).

Insgesamt sind die Spurenstoffkonzentrationen und Eliminationsgrade der beiden Kläranlagen vergleichbar. Beide Kläranlagen sind jedoch trotz guter Reduktionsleistung klare Emittenten von Spurenstoffen in die Vorfluter.

Abbildung 21 zeigt eine multivariate Analyse, die den Zusammenhang zwischen der Konzentration von Spurenstoffen und Standardparametern im Zulauf und Ablauf der Kläranlage Eilendorf und der Zuflussmenge beschreibt. Für einige Spurenstoffe und Standardparameter ist mit steigendem Zufluss eine Abnahme der Konzentration zu verzeichnen. Dies sind die Substanzen, deren Pfeile in entgegengesetzte Richtung zu dem roten Zufluss-Pfeil zeigen: Die Flammschutzmittel TDCPP, TCPP und TCEP, die Moschusverbindung Musk ketone (MKE) sowie Bisphenol A (BPA), die Pharmaka Metformin (MET), Bisoprolol (BIS) und Tramadol (TRAM), Sulfat (Sul) sowie das Pflanzenschutzmittel Terbutryn (TERB). Die Pflanzenschutzmittel Diuron (DIU) und Isoproturon (ISOP)

nehmen dagegen mit steigendem Zufluss zu, d. h. ihre Pfeile korrelieren mit dem roten Zufluss-Pfeil und zeigen in dieselbe Richtung. Dies gilt ebenfalls für Nitrit (NO2) und die Moschusverbindungen Cashmeran (DPMI) und Traseolid (ATII). Alle anderen Parameter (deren Pfeile vornehmlich im unteren, rechten Quadranten liegen, vgl. Abbildung 21) zeigen dagegen keine deutliche Abhängigkeit von der Zuflussmenge.

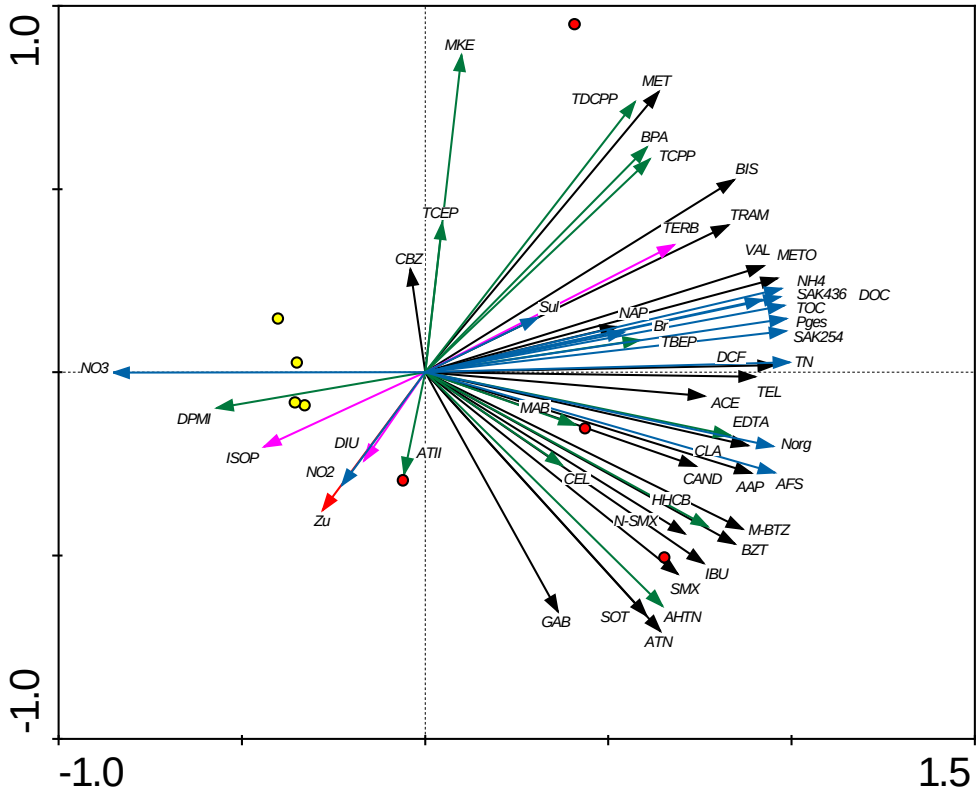

Abbildung 21: PCA der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen Eilendorf (Zulauf Kläranlage, rot; Ablauf KA, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile), den Pflanzenschutzmitteln (pinke Pfeile) und weiteren Spurenstoffen (grüne Pfeile) aus Phase 1B (n = 4). Eigenwert Achse 1: 0,577, Achse 2: 0,147. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 72,5 %.

Die in Abbildung 21 verwendeten Abkürzungen sind in Tabelle 51 aufgeführt.

5.1.5 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität – Kläranlage Aachen-Soers

Zur Untersuchung der Effizienz der konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage hinsichtlich des ökotoxikologischen Potenzials des Abwassers, wurde eine umfassende Untersuchung durchgeführt. Hierfür wurden drei Probenahmestellen in der Kläranlage ausgewählt: der Zulauf der Kläranlage (ZKA), der Ablauf der Nachklärung (ANK) und der Ablauf des Filters (AF) (entspricht dem Ablauf der Kläranlage). Die Proben wurden auf akute und chronische sowie mechanismusspezifische Toxizität untersucht. Dazu wurden native Wasserproben auf ihre akute bzw. chronische Toxizität gegenüber Stellvertreterorganismen verschiedener trophischer Ebenen unter-

sucht (Leuchtbakterientest, Algenwachstumshemmtest, Daphnienimmobilisationstest, Fischembryo-Toxizitätstest). Die Proben wurden spezifisch für die jeweiligen Tests vorbereitet und anschließend auf ihr embryotoxisches und teratogenes (FET-Test), endokrines (L-YES Assay, ERα CALUX® Assay, H295R Steroidgenese Assay) sowie gentoxisches (Mikrokern Test) und mutagenes (Ames-Fluktuations Assay) Potenzial hin bewertet.

Akute und chronische Toxizität

Für den Algen-Wachstumshemmtest zeigte sich im Kläranlagenzulauf (ZKA) durchgehend eine erhöhte Algentoxizität mit einer Hemmung zwischen 10 % und 13,4 % (bzw. zwischen G_A 2 und G_A 8). Sowohl im Ablauf der Nachklärung (ANK) als auch im Ablauf Filter (AF) konnten während des gesamten Screenings auf der Kläranlage Aachen-Soers keine algentoxischen Effekte festgestellt werden. Die Proben zeigten einen fördernden Effekt, eventuell bedingt durch enthaltende Nährstoffe, welche im Vergleich zu den Kontrollen zusätzliches Wachstum der Algen begünstigt.

Im Daphnien-Immobilisationstest konnten während des gesamten Screenings keine daphnientoxische Effekte im Ablauf der Nachklärung und des Filters der Kläranlage nachgewiesen werden. Ausschließlich der Kläranlagenzulauf zeigte eine erhöhte Daphnientoxizität mit Werten zwischen G_D 3 und G_D 4 auf. Die Daphnie als Modellorganismus für Primärkonsumenten wird durch Abwasser aus dem Zulauf der Kläranlage geschädigt. Die Schädigung ist jedoch bereits nach der biologischen Reinigungsstufe nicht mehr zu detektieren.

Mit den Leuchtbakterien *Vibrio fischeri* wurden sowohl akute als auch chronische Tests vergleichend durchgeführt. Die Auswertung erfolgt anhand der Mittelwertbildung aus jeweils zwei Replikaten einer Probe.

Für alle Proben im Ablauf Nachklärung und Filter konnte keine akute Toxizität nachgewiesen werden (G_L 1, mit einem Probenvolumenanteil von 80 %). Auch hier wurden im Kläranlagenzulauf Effekte, die zu Werten zwischen G_L 16 und G_L 32 führten, vorgefunden.

Die Ergebnisse des chronischen Leuchtbakterientests wurden als Mittelwert aus acht Replikaten berechnet. Ab einer Hemmung des Wachstums von 20 %, bezogen auf die Kontrollen nach einer Exposition von 6,5 Stunden liegt ein toxischer Effekt vor. Für alle Probenahmestellen konnte keine chronische Toxizität auf Leuchtbakterien ermittelt werden (G_{LW} 1, mit einem Probenvolumenanteil von 70 %).

Die Kombination aus beiden Leuchtbakterientests zeigt, dass die Bakterien kurzfristig durch den Kläranlagenzulauf in ihrer Biolumineszenz beeinträchtigt werden, langfristig jedoch kein negativer Effekt auf die Vermehrung eintritt.

Die Ergebnisse der akuten und chronischen Toxizitätstests sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen der Proben auf der Kläranlage Aachen-Soers. WHT = Wachstumshemmtest

Stelle	Daphnien				Algen				Leuchtbakterien				Leuchtbakterien WHT			
Screening	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1**	**2**	**3**	**4**
ZKA	G4	G4	G3	G4	G2	G8	G2	G1	G32	G24	G32	G16	G1	G1	G1	G1
ANK	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
AF	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1

Embryotoxisches und teratogenes Potenzial

Die Exposition der Zebrabärblingsembryonen im Fischembryo-Toxizitätstests gegenüber den Proben des Zulaufs zeigte sowohl in den nativen (unfiltriert und nicht extrahiert) als auch in den extrahierten Proben ein deutliches embryotoxisches und teratogenes Potenzial. Dabei lagen die LC50-Werte nach einer 96 stündigen Exposition bei 45,3 ± 11,9 % (nativ) und 0,9 ± 0,3 REF (relative enrichment factor; Extrakt). Neben der Koagulation (letaler Effekt) wurden eine Reihe subletaler Effekte festgestellt. Eine generelle Unterentwicklung der Embryonen (Epiboli, unvollständige Entwicklung der Schwanzanlage etc.) konnte sowohl ab einem REF von 0,3 als auch in den nativen Proben nachgewiesen werden (Abbildung 22).

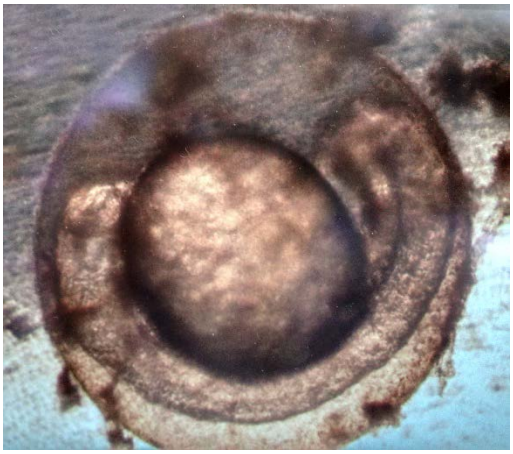

Abbildung 22: Effekte auf Fischembryonen (24 hpf) nach Belastung mit Proben des Kläranlagenzulaufs.

Die Proben wurden zur Vorbereitung auf die Extraktion filtriert, um die in den Proben enthaltenen Schwebstoffe zurückhalten zu können. Da Spurenstoffe allerdings an Schwebstoffe sorbieren können und es so zu einer Unterschätzung des Potenzials führen kann, wurden die in den Filtern verbleibenden Schwebstoffe ebenfalls extrahiert und im FET getestet. Die Filterrückstände Der Probe des Zulaufs wiesen ebenfalls ein embryotoxisches und teratogenes Potenzial auf (REF von

1,4 nach 96 hpf), die mit den Effekten der nativen Proben und Extrakten übereinstimmten. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Substanzen, die für die beschriebenen Effekte verantwortlich sich, sowohl partikulär gebunden als auch frei in der Wasserphase vorkommen können.

Nach Belastung der Embryonen mit den Filterrückständen der Proben des Ablaufs der Nachklärung und des Filters konnten keine embryotoxischen und teratogenen Effekte mehr nachgewiesen werden. Demnach zeigte sich eine 100 %-ige Eliminierung der Effekte auf die Zebrabärblingsembryonen durch die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Aachen-Soers.

Endokrines Potenzial

Zur Untersuchung des endokrinen Potenzials wurden die Proben zum einen mit rezeptorvermittelten Assays (L-YES und ERα CALUX®) und zum anderen mit einem Assay zur Untersuchung von Veränderungen der Steroidgenese (H295R) untersucht.

Die Untersuchung der Proben im L-YES Assay und ERα Calux® Assay zeigten in allen Screenings ein deutliches und vergleichbares östrogenes Potenzial mit EEQ-Werten im Bereich 20,5–70 ng E2/l (L-YES Assay) und 23–70 ng E2/l (ERα Calux® Assay) in den Proben des Zulaufs. Im Laufe der weiteren konventionellen Reinigungsstufen konnte dieses Potenzial in beiden Testsystemen zwar deutlich reduziert, aber nicht vollständig eliminiert werden (Tabelle 17). So wurde auch in den Proben ANK (2,6–7,6 ng E2/l) und AF (< LOQ–6,1 ng E2/l) ein östrogenes Potenzial im L-YES Assay nachgewiesen. Im ERα Calux® Assay wurden dagegen deutlich niedrigere EEQ-Werte bis max. 0,5 ng E2/l (ANK) bzw. bis 0,6 ng E2/l (AF) festgestellt. Dies liegt an der deutlich niedrigeren Konzentration, die im ERα Calux® Assay eingesetzt werden kann (REF 2,5 gegenüber 16,67 im L-YES Assay) und damit verbunden an der höheren Sensitivität des ERα Calux® Assays. Im Screening 1-3 im ERα Calux® Assay am Ablauf des Filters ein östrogenes Potenzial, das zuvor im Ablauf der Nachklärung nicht feststellbar war. Eine mögliche Ursache könnte eine andere Zusammensetzung der Proben sein, da die Beprobung der Kläranlage an den unterschiedlichen Probenahmestellen zeitgleich erfolgte, was bedeutet, dass die Verweilzeiten der verschiedenen Reinigungsstufen der Kläranlage nicht berücksichtigt wurden.

Tabelle 17: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES und ERα Calux® Assay mit aufkonzentrierten Proben im Rahmen der Phasen 1a und 1b; Orange: östrogener Effekt messbar; Grün: kein Effekt messbar

Probenahmestelle	EEQ in ng/l							
	Phase 1a				Phase 1b			
Screening	1-1	1-2	1-3	1-4	2-1	2-2	2-3	2-4
L-Yes Assay								
ZKA	70,98	24,97	56,39	20,49	-	-	-	-
ANK	2,57	4,71	7,62	14,84	-	-	-	-
AF		1,2	6,11	2,52				7,1
ERα Calux® Assay								
ZKA	70,67	15,33	23,0	29,33	-	-	-	-
ANK	0,39	0,5			-	-	-	-
AF			0,57		0,12		0,09	1,07

Während im L-YES Assay kein Einfluss von Regen- oder Trockenwetter zu beobachten war, zeigte sich bei den Untersuchungen der Zulaufproben im ERα Calux® Assay die Tendenz eines erhöhten östrogenen Potenzials bei Trockenwetter (Screening 1-1 und 1-4). Eine mögliche Ursache könnte ein geringerer Verdünnungseffekt bzw. die Aufkonzentrierung der Substanzen, die für das Potenzial verantwortlich sind, sein. Bei den beiden Trockenwetter-Screenings lagen die gemessen EEQ-Werte bei 70,67 ng E2/l und 29,33 ng E2/l, während die Werte bei Regenwetter bei 15,33 ng E2/l und 23,0 ng E2/l lagen (Tabelle 17). Einen Einfluss auf die generelle Eliminationsleistung durch Trockenheit oder Regen konnte jedoch nicht beobachtet werden. Insgesamt zeigte sich über die 8 Untersuchungen hinweg eine vollständige Eliminierung des östrogenen Potenzials in beiden rezeptorvermittelten Testsystemen in je 50 % der Messkampagnen (4 von 8, Tabelle 17). Das Ergebnis der vollständigen Eliminierung des östrogenen Potenzials der beiden Testsysteme war jedoch in nur zwei Screenings übereinstimmend (Sc. 1-1 und Sc. 2-2). In den anderen Messkampagnen wurde entweder im L-YES Assay oder im ERα Calux® Assay ein östrogenes Potenzial am Ablauf des Filters nachgewiesen.

Insgesamt zeigte sich in den beiden rezeptorvermittelten Testsystemen bereits eine deutliche Reduktion des östrogenen Potenzials über die konventionellen Reinigungsstufen von 87 % bis 100 % (L-YES Assay) bzw. 98 % bis 100 % (ERα Calux® Assay). Verglichen mit anderen Kläranlagen in Deutschland und der Schweiz deutet dieses Ergebnis bereits auf eine sehr gute Eliminationsleitung der konventionellen Reinigungsleistung der Kläranlage Aachen-Soers bezogen auf das östrogene Potenzial hin. So zeigte sich im Projekt SchussenAktiv eine Elimination von lediglich 48 % bis 76 % in den Kläranlagen Erichskirch, Langwiese und Merklingen (Amler et al. 2017). Eine weitergehende, deutliche Reduktion des östrogenen Potenzials konnte in diesem Projekt durch erweiterte Abwasserbehandlungen erzielt werden.

Neben der Untersuchung der aufkonzentrierten Proben wurden ab Screening 1-4 ebenfalls die nativen Proben mit dem ERα Calux® Assay untersucht. Auf diese Weise soll ein realistisches Szenario abgebildet werden, da es sich um die natürliche und unveränderte Probe aus dem Gewässer handelt, die ebenfalls die vorkommenden Schwebstoffe beinhaltet. Bei den Screenings 1-1 bis 1-3 war dies nicht möglich, da das Testsystem auf die Testung der nativen Proben angepasst werden musste. Eine längere Lagerung der Proben (über 48 h) im nativen Zustand ist nicht möglich, da sich gerade die endokrinen Stoffe durch bakterielle Aktivität in der nativen Probe verändern. Die Proben müssen sofort gekühlt und noch am selben Tag aufkonzentriert werden. Werden die Proben ebenfalls im nativen Zustand getestet, dann müssen diese sofort eingefroren und innerhalb von zwei Monaten getestet werden. Bei nicht sachgerechter Lagerung oder Aufbereitung der Proben ist keine eindeutige Aussage über die Effekte möglich. In den Screenings 1-4 bis 2-4 zeigte sich in 4 der 5 Proben eine vollständige Eliminierung des östrogenen Potenzials am Ablauf des Filters (Tabelle 18). Lediglich im Screening 2-2 konnte das östrogene Potenzial nicht vollständig eliminiert werden. Eine mögliche Ursache könnte das zu diesem Zeitpunkt starke Regenwettereereignis darstellen, wodurch die hydraulischen Verweilzeiten in den Reinigungsstufen der Kläranlage geringer sind.

Tabelle 18: Übersicht der Ergebnisse der nativen Proben aus Phase 1a und 1b gemessen im ERα CALUX® Assay. Weiß: nicht beprobt; Orange: östrogener Effekt messbar; Grün: kein Effekt messbar

Probenahmestelle	Phase 1a				Phase 1b			
Screening	1-1	1-2	1-3	1-4	2-1	2-2	2-3	2-4
ZKA				70,0				
ANK				1,1				
AF						0,4	0,4	

Bei der Aufbereitung der Gewässerproben werden diese in der Regel filtriert, um Schwebstoffe und sonstige Partikel aus der Probe abzutrennen. Um sicherzugehen, dass bei diesem Bearbeitungsschritt keine Spurenstoffe verloren gehen, die einen Einfluss auf den Effekt haben könnten, wurden die Filterrückstände neben den nativen und aufkonzentrierten Proben exemplarisch (Screening 1-1 und 2-4) mit dem L-YES und ERα CALUX® Assay untersucht. Auf diese Weise soll der Einfluss der partikulär gebundenen Spurenstoffe ebenfalls erfasst werden. Durch die Extraktion der Schwebstoffe und anderer Partikel kann es, je nach Belastungsgrad der Probe, zu einer Art „Andicken“ der Probe kommen, wodurch die Testung erschwert wird. In diesem Fall müsste der Probe deutlich mehr Lösungsmittel hinzugegeben werden, was wiederum die Aussagekraft der Ergebnisse verfälschen könnte. Durch die starke Belastung der Zulaufprobe konnte diese aufgrund der zuvor beschriebenen Beschaffenheit (sehr zähflüssig und nicht pipettierbar) nicht im L-YES Assay untersucht werden. Nach einer weiteren Aufbereitung war es allerdings möglich, diese Probe im ERα CALUX® Assay einzusetzen. Die Ergebnisse des L-YES Assays zeigten ein östrogenes

Potenzial der Filterrückstände der Probe des Ablaufs der Nachklärung (Screening 1-1) mit einem EEQ-Wert von 5 ng E2/l. Alle weiteren Filterrückstände waren im L-YES Assay unauffällig. Im ERα Calux® Assay des Screenings 1-1 konnte ebenfalls ein östrogenes Potenzial in den extrahierten Filterrückständen mit einem EEQ-Wert von 0,8 ng E2/l nachgewiesen werden. In der Filterprobe des ANK wurde dieses Potenzial bereits um 75 % reduziert und war in der Probe des AF nicht mehr messbar. Dieses Ergebnis deckte sich mit dem gemessenen östrogenen Potenzial der Filtrate im L-YES Assay und deutete darauf hin, dass neben den in der wässrigen Phase enthaltenen Substanzen auch partikulär gebundene Stoffe an dem östrogenen Potenzial beteiligt sein können. Die so erhaltenen Resultate deckten sich zudem mit den Untersuchungen der Sedimentproben der Wurm, die in der Lage sind, ebenfalls Substanzen zu binden (vgl. Kap. 5.3). Hier konnte gezeigt werden, dass Sedimente oder Schwebstoffe maßgeblich an den gemessenen östrogenen Effekten der Wurm beteiligt sein können, wenn gebundene Stoffe durch Remobilisierung (z. B. durch Starkregenereignisse oder Abschlag eines RÜBs, vgl. Kap 5.2) erneut in die Wasserphase gelangen. Die Testung der Filterrückstände des Screening 2-4 zeigte in keiner der getesteten Proben ein östrogenes Potenzial.

Zur Untersuchung der Auswirkungen der Kläranlage Aachen-Soers auf die Steroidgenese wurden in Phase 1a ausgewählte Proben, die im ERα CALUX® Assay ein positives Ergebnis lieferten, im H295R Assay untersucht. Zu den Proben gehörten die Zulaufproben aller vier Screenings, zwei Proben Ablauf Nachklärung (Screenings 1-1 und 1-2) sowie eine Probe des Kläranlagenablaufs (Screenings 1-1). Da die Zulaufproben sehr starke östrogene Effekte aufwiesen wurden diese Proben genauer untersucht und in mehreren Konzentrationsstufen von REF 0,05 bis REF 0,5 getestet. Dabei wurde die Synthese der Hormone Östradiol, Testosteron und Progesteron analysiert. Die Belastung der Zellen mit den aufkonzentrierten Zulaufproben der ersten drei Screenings zeigte ein sehr ähnliches Bild (Abbildung 23).

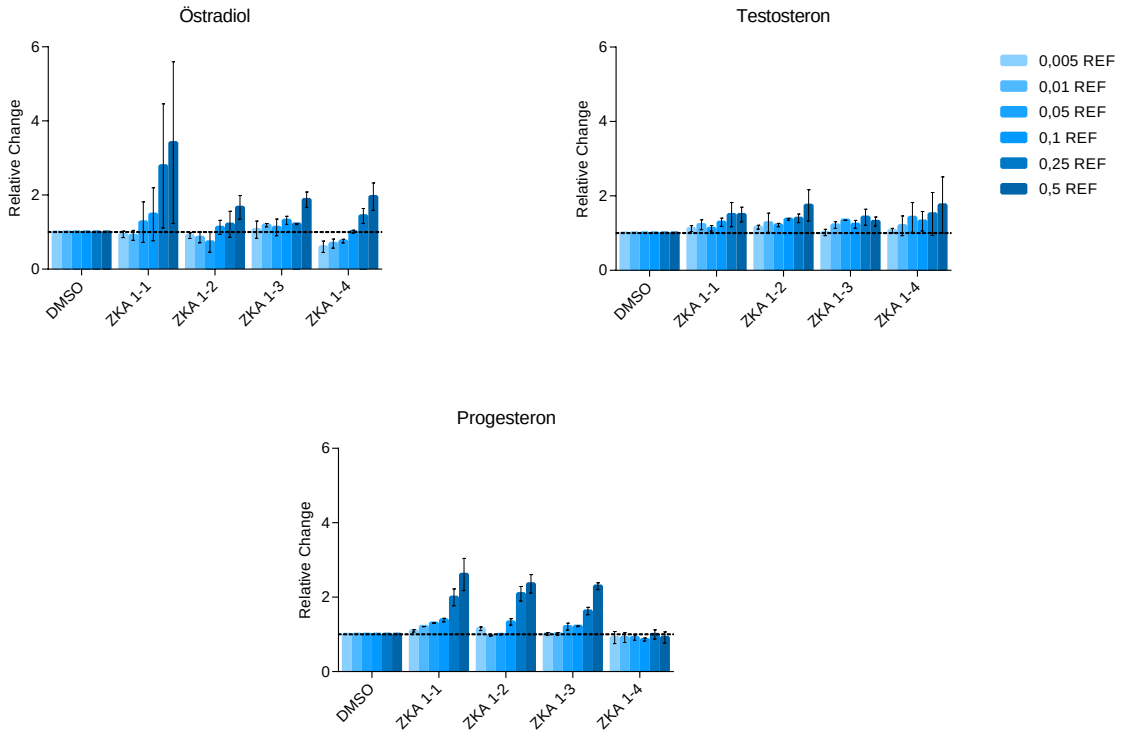

Abbildung 23: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Zulaufproben der Screenings 1 bis 4 der Phase 1a.

In allen Screenings kam es zu einer Förderung der Produktion der Hormone Östradiol, Testosteron und Progesteron. Einzige Ausnahme stellte die Synthese von Progesteron des Screenings 1-4 dar. Hier kam es zu keiner Änderung der Progesteronkonzentration. Dabei muss betont werden, dass die höchste eingesetzte Konzentration (REF 0,5) noch unter der Konzentration der natürlichen Gewässerprobe (REF 1) lag. Testosteron und Östrogen können über verschiedene Wege synthetisiert werden. Eine Möglichkeit ist die Synthese über Pregnolon zu Progesteron, welches anschließend über das Enzym CYP17 zu Testosteron und Östradiol katalysiert wird. Da in den ersten drei Screenings neben Östradiol und Testosteron auch Progesteron gefördert wurde, scheint hier genau dieser Weg und damit einhergehend die Synthese der beteiligten Enzyme durch Substanzen in den Zulaufproben der Kläranlage Aachen-Soers gestört zu sein. Im vierten Screening konnte keine Hemmung der Progesteron-Synthese festgestellt werden. Interessanterweise zeigte sich hier zunächst eine Hemmung der Östradiol-Produktion, die mit steigender Konzentration der Zulaufprobe in eine Förderung übergeht (ab REF 0,25). Hier scheint es in den niedrigeren Konzentrationen der Zulaufprobe zunächst zu einer Hemmung der Aromataseaktivität (CYP 19) zu kommen, die mit einer reduzierten Synthese von Östradiol einhergeht (Maletz et al. 2013). Ab einem REF von 0,05 konnte zudem eine Tendenz zur Steigerung von Testosteron festgestellt werden. Dies

deutet darauf hin, dass das Enzym CYP17 oder 17 ß-HSD, welches die Umwandlung von Progesteron zu Androstenedion bzw. Androstenedion zu Testosteron katalysiert, gefördert wurde und es so in der weiteren Synthese zur einer gesteigerten Produktion von Testosteron und Östradiol gekommen ist.

Abbildung 24 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen von ANK und AF in Bezug auf die Bildung von Östradiol, Testosteron und Progesteron.

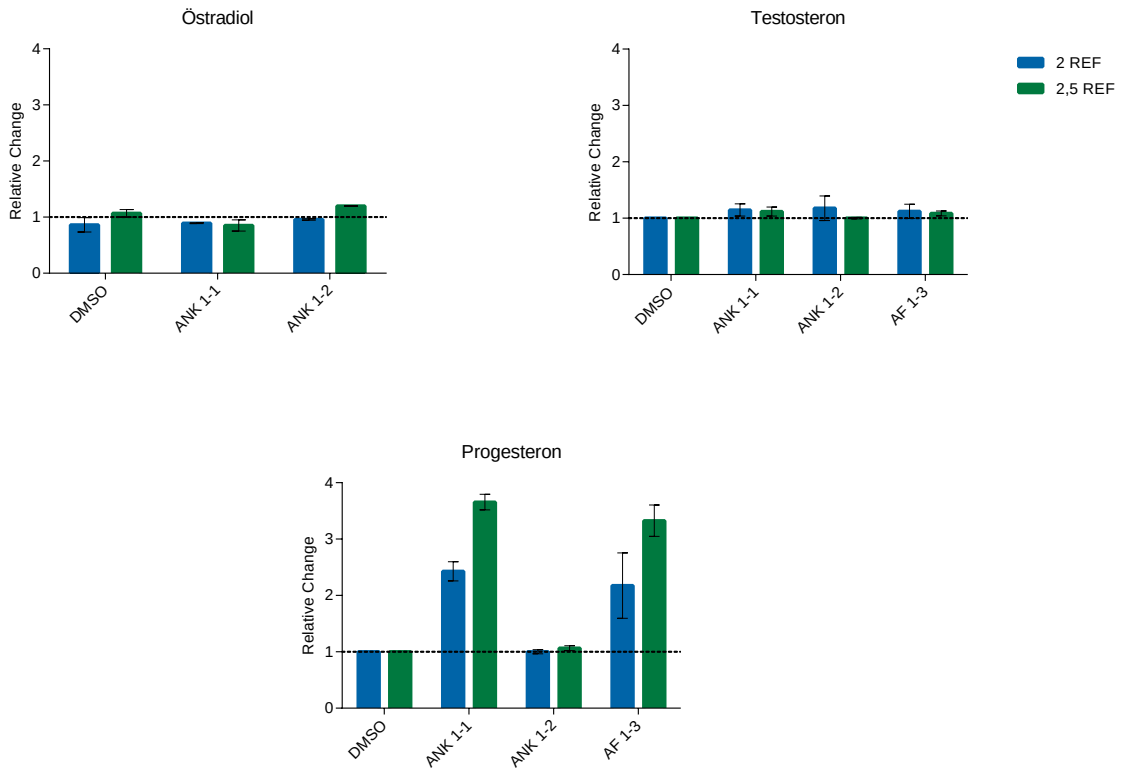

Abbildung 24: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Proben Ablauf Nachklärung sowie Ablauf Filter der Screenings 1 bis 4 der Phase 1a.

Bei der Untersuchung der aufkonzentrierten Proben des Ablauf Nachklärung zeigten sich keine Effekte auf die Bildung von Testosteron und Östradiol. Die leichten Effekte am ZKA auf die Östradiol- und Testosteronproduktion wurden durch die Kläranlage weiter reduziert, so dass sowohl im Ablauf der Nachklärung als auch im Ablauf des Filters keine Effekte auf die Steroidgenese dieser beiden Hormone nachgewiesen werden konnten.

In den Screenings 1-1 am ANK und 1-3 am AF konnten eine deutliche Förderung in der Bildung von Progesteron nachgewiesen werden (Abbildung 24). Hier scheint es zu einer Störung bei der Umwandlung von Pregnolon zu Progesteron gekommen zu sein. In den gleichen Screenings der Zu-

laufproben lag bereits eine Förderung der Progesteronproduktion der Zulaufproben vor. Demnach kommt es zu keiner vollständigen Eliminierung des Effekts auf die Steroidgenese von Progesteron durch die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Aachen-Soers. Im Vergleich dazu war das Ergebnis des Screenings 1-2 am ANK auffällig, da der ZKA Effekte zeigte, die am ANK nicht mehr messbar waren. Hier scheint es zu einer Eliminierung der Substanzen gekommen zu sein, die für den beobachteten Effekt verantwortlich sind.

Da nicht zwingend ein Zusammenhang zwischen den rezeptorvermittelten Effekten und Auswirkungen auf die Steroidgenese besteht (Maletz et al. 2013), wurde in Phase 1b neben einer östrogen aktiven Probe (Screening 2-4) auch eine Probe untersucht, die keine positiven Ergebnisse (Screening 2-2) im ERα CALUX® Assay aufwies (Abbildung 25).

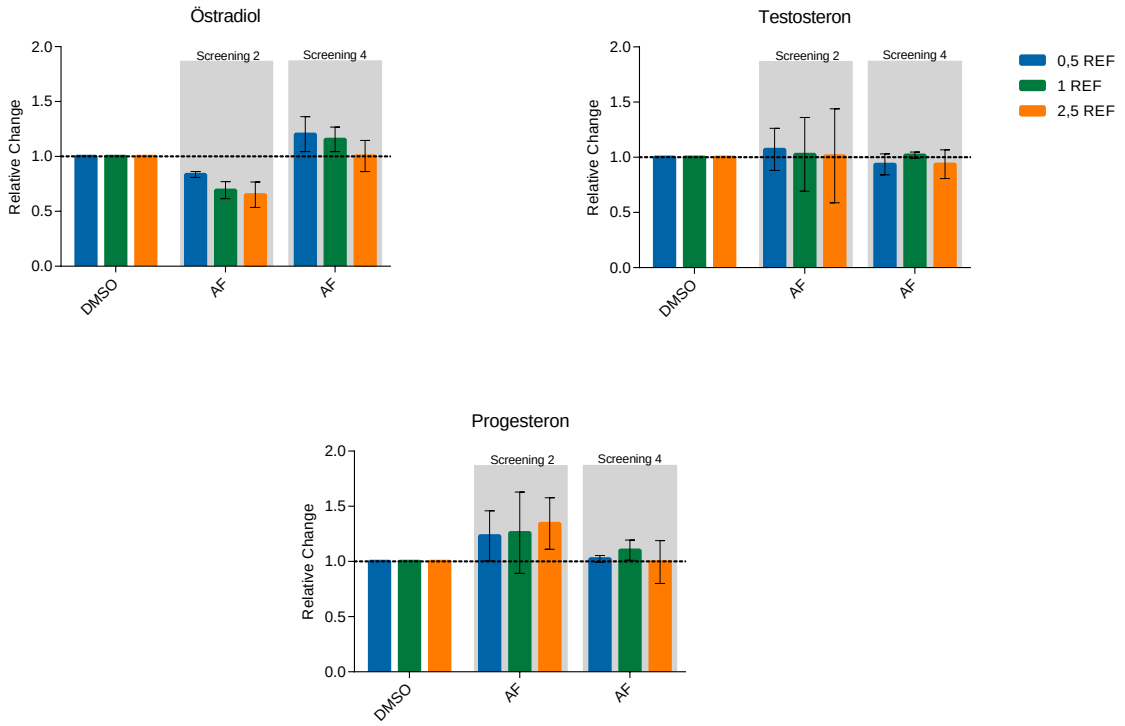

Abbildung 25: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Probe des Ablauf Filters der Phase 1b.

Die Ergebnisse des Ablaufs aus Screening 2-2 zeigte eine leichte Hemmung der Östradiolsynthese und eine leichte Tendenz zur Steigerung der Progesteronkonzentration, während es bei Testosteron zu keiner Änderung gekommen ist. Im Screening 2-4 konnte dagegen lediglich am Ablauf Filter eine leichte Steigerung der Östradiolkonzentration festgestellt werden (REF 0,5), die mit steigender Konzentration auf Normalniveau sank. Die Untersuchung der beiden anderen Hormone zeigten keine Änderung. Dieses Ergebnis unterstreicht, dass die Effekte auf die Steroidgenese nicht

immer im direkten Zusammenhang mit den rezeptorvermittelten Effekten gebracht werden können, da gerade die Probe (Screening 2-2) leichte Änderungen in der Steroidgenese aufwies, die zuvor im ERα CALUX® Assay unauffällig war. Auch in Phase 1b zeigte sich, dass die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Aachen-Soers nicht immer eine ausreichende Reinigungsleistung aufwies, um Effekte auf die Steroidgenese vollständig zu eliminieren. Eine Vielzahl an Pharmazeutika und Antibiotika sind in der Lage, Effekte auf die Steroidgenese auszulösen (Gracia et al. 2008) und diese Effekte scheinen durch Kläranlagen nicht immer vollständig eliminiert werden zu können (Kusk et al. 2011). Da es sich bei den untersuchten Proben um eine Mischung aus einer Vielzahl an Substanzen handelt, kann zum jetzigen Zeitpunkt keine Aussage darüber getroffen werden, ob dieser Effekt durch Einzelsubstanzen oder durch die Mischung ausgelöst wird. Gracia et al. (2008) konnten zeigten, dass die Mischung aus Substanzen in der Regel anders als einzelne Pharmazeutika auf die Steroidgenese wirken und Kusk et al. (2011) stellten fest, dass eine Mischung aus Chemikalien im Abwasser in der Lage ist, die Aromatase Aktivität sowohl zu erhöhen als auch zu verringern.

Zusammenfassend zeigten die Analysen des östrogenen Potenzials in sämtlichen untersuchten Testsystemen bereits eine sehr gute Eliminationsleistung von 87 % bis 100 % der konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Aachen-Soers. Allerdings waren in 50 % der Screenings sowohl im L-YES Assay als auch im ERα Calux® Assay östrogenes Potenzial am Ablauf des Filters nachweisbar. Auch Effekte auf die Steroidgenese konnten durch die konventionellen Reinigungsschritte der Kläranlage Aachen-Soers nicht immer vollständig eliminiert werden. Die Untersuchungen des östrogenen Potenzials in der Pilotanlage (vgl. Kap. 5.4.6) zeigten zudem eine weitergehende Reduzierung infolge der Ozonierung, aber ebenfalls keine vollständige Eliminierung des endokrinen Potenzials. Die Effekte auf die Steroidgenes konnten durch die Reinigungsstufen der Kläranlage zwar merklich, jedoch nicht vollständig eliminiert werden. Die Kombination der großtechnischen Ozonungsanlage mit einem nachgeschalteten Sandfilter, wie sie seit Anfang 2018 auf der Kläranlage Aachen-Soers in Betrieb ist, kann zu einer weiteren Reduzierung des endokrinen Potenzials führen und wird in Phase 2 weiter umfassend untersucht.

Gentoxisches und mutagenes Potenzial

Das gentoxische Potenzial wurde anhand des Mikrokerntests und das mutagene Potenzial anhand des Ames-Fluktuation Assay untersucht.

Die Ergebnisse des Mikrokerntests zeigten im Screening 1-1 bei einem REF von 1 eine signifikant erhöhte Rate an Mikrokernen. Dieser Effekt wurde nur ohne Zugabe des S9-Mixes (metabolische Aktivierung) festgestellt. In den weiteren Reinigungsstufen der Kläranlage konnte der Effekt nicht beobachtet werden. Auffällig ist, dass bei Screening 1-3 lediglich im Ablauf der Nachklärung eine signifikant erhöhte Anzahl an Mikrokernen nachgewiesen wurde, während im Zulauf und Ablauf der Kläranlage dieser Effekt nicht messbar war. Dieser Effekt lässt sich möglicherweise durch die unterschiedliche Chemikalienzusammensetzung der Proben erklären. Wie bereits beschrieben

fand die Probenahme an den verschiedenen Reinigungsstufen der Kläranlage zur gleichen Zeit statt und korrespondieren demnach nicht, wodurch es zu einer unterschiedlichen Probenzusammensetzung kommen kann.

Bei der Untersuchung des mutagenen Potenzials mit Hilfe des Ames-Fluktuation Assay zeigten die Extrakte des Ablauf Filters in zwei Screenings (SCR 1-1 und 2-1) ein Potenzial, Rasterschubmutationen bei *Salmonella typhimurium* auszulösen (REF 50). Interessanterweise wurde dieses Potenzial weder im Zulauf noch im Ablauf der Nachklärung gefunden. Dies könnte einerseits auf die bereits beschriebene unterschiedliche Chemikalienzusammensetzung der Proben zurückzuführen sein. Andererseits könnte es auch durch die biologische Nachbehandlung zur Bildung von Metaboliten gekommen sein. Es muss allerdings erwähnt werden, dass dieses Potenzial ab einer 50-fachen Aufkonzentrierung messbar war und es sich daher um sehr leichtes mutagenes Potenzial handelt. Die Testung der aufkonzentrierten Proben stellt ein worst-case Szenario dar und soll das gesamte Potenzial der Probe abbilden. Durch diese Art der Testung soll zudem eine chronische Exposition simuliert werden. Ein Einfluss von Regen- oder Trockenwetter konnte bei den Untersuchungen nicht festgestellt werden. Da mutagenes Potenzial weder im Zulauf der Kläranlage noch im Ablauf der Nachklärung festgestellt wurde, kann an dieser Stelle keine Aussage über die Eliminierungseffizienz der Kläranlage Aachen-Soers getroffen werden.

Um ebenfalls das mutagene Potenzial der partikulären Phase zu untersuchen, wurden auch hier die Filter analysiert, die während der Probenaufbereitung zum Entfernen der Schwebstoffe verwendet wurden. Hier zeigte sich in der Probe des Kläranlagenablaufs (Screenings 1-1) ebenfalls das Potenzial, Rasterschubmutationen bei *S. typhimurium* auszulösen. Dieses Ergebnis deckt sich mit den zuvor beschriebenen Effekten der Extraktproben und zeigt, dass in dieser Probe sowohl Substanzen aus der wässrigen Phase als auch partikulär gebundene an den beobachteten Effekt beteiligt sein können. Auch bei der Untersuchung der Mutagenität konnte kein Einfluss von Regen- oder Trockenwetter festgestellt werden.

Zusammenfassend zeigen sämtliche Tests zur akuten und chronischen Toxizität ein deutliches ökotoxikologisches Potenzial des Kläranlagenzulaufs. Die Kläranlage reinigt das Abwasser, so dass im Ablauf keine Erhöhung der Toxizität detektiert werden konnte. Insgesamt konnte die Kläranlage Aachen-Soers sowohl die embryotoxischen und teratogenen als auch gentoxischen und mutagenen Potenziale vollständig eliminieren. Lediglich die rezeptorvermittelten östrogenen Effekte und auch die Änderungen der Steroidgenese konnten durch die konventionellen Reinigungsstufen nicht vollständig eliminiert werden. Allerdings zeigte die Kläranlage auch hier mit einer Reinigungsleistung von 87 bis 100 % bereits eine sehr gute Leistung verglichen mit anderen Kläranlagen.

Ergebnisse des Einflusses von Ozon auf die beschriebenen Effekte mittels Pilotanlage lassen erwarten, dass die Kläranlage Aachen-Soers zukünftig durch die großtechnische Ozonungsanlage

und den nachgeschalteten Sandfilter eine noch verbesserte Reinigungsleistung zeigen wird. Diese Untersuchungen sind Bestandteil der Phase 2.

5.1.6 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität – Kläranlage Eilendorf

Zur Untersuchung des erweiterten Einzugsgebiets der Kläranlage Aachen-Soers und der Wurm wurde in Phase 1b die Kläranlage Eilendorf und ihr Einfluss auf den Haarbach ökotoxikologisch untersucht (vier Screenings). Hier wurden ebenfalls sowohl Extrakte als auch native Proben analysiert. Anders als bei der Untersuchung der Kläranlage Aachen-Soers wurden hier lediglich der Zulauf und der Ablauf der Kläranlage Eilendorf beprobt. Um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden diese Proben ebenfalls auf ihr embryotoxisches, teratogenes, endokrines sowie gentoxisches und mutagenes Potenzial hin untersucht.

Embryotoxisches und teratogenes Potenzial

Bei der Untersuchung des embryotoxischen und teratogenen Potenzials mit den Zebrabärblingsembryonen zeigten sich sowohl in den Extrakten als auch in den nativen Proben des Kläranlagenzulaufs ein deutliches Potenzial mit letalen und subletalen Effekten. Eine Ausnahme stellte die Probe des Zulaufs der zweiten Screenings dar, hier konnten keine Effekte festgestellt werden. Möglicherweise ist dies auf einen Verdünnungseffekt zurückzuführen, da diese Probenahme während einer auffällig starken Regenwetterperiode durchgeführt wurde. Allerdings konnte in keiner der anderen Probenahmen ein Einfluss von Trocken- oder Regenwetter festgestellt werden. Alle anderen Proben des Zulaufs wiesen ein deutliches embryotoxisches und teratogenes Potenzial auf. Dabei lagen die LC50-Werte bei 58,4 ± 8,7 % (nativ) und 0,8 ± 0,2 REF (Extrakt). Diese LC50-Werte stehen im Einklang mit den gemessen Werten der Zulaufproben der Kläranlage Aachen-Soers (45,3 ± 11,9 % (nativ) und 0,9 ± 0,3 REF (Extrakt), vgl. Kap. 5.1.5).

Die beobachteten subletalen und letalen Effekte der Proben beider Kläranlagen sind ebenfalls vergleichbar: in nahezu 100 % der untersuchten Embryonen kam es sowohl in den nativen als auch aufkonzentrierten Proben zu einer Koagulation. Als subletale Effekte wurde vor allem eine generelle Unterentwicklung der Embryonen beobachtet. Allerdings konnten diese Effekte im Ablauf des Filters (also im Ablauf der Kläranlage) nicht mehr nachgewiesen werden. Es zeigte sich demnach eine 100 %-ige Eliminierung der Substanzen, die für die embryotoxischen und teratogenen Effekte des Zulaufs verantwortlich sind.

Endokrines Potenzial

Das endokrine Potenzial wurde, analog zu den Untersuchungen auf der Kläranlage Aachen-Soers (vgl. Kap. 5.1.5), anhand der beiden rezeptorvermittelten Testsysteme L-YES Assay und ERα CALUX® Assay sowie des H295R Steroidgenese Assays untersucht.

Die Ergebnisse des L-YES und ERα Calux® Assays zeigten in den aufkonzentrierten Proben des Zulaufs der Kläranlage Eilendorf in allen vier Screenings ein signifikant erhöhtes östrogenes Potenzial

mit EEQ-Werten im Bereich 34–155 ng E2/l (L-YES Assay) bzw. 27–44 ng E2/l (ERα Calux® Assay). Dabei konnte das geringste östrogene Potenzial in beiden Testsystemen im Screening 2-2 (EEQ-Wert von 34 ng E2/l bzw. 18 ng E2/l (Tabelle 19)) festgestellt werden. Möglicherweise ist der Effekt auf eine Verdünnung aufgrund des zu dem Zeitpunkt der Probenahme vorherrschenden starken Regenwetterereignisses zurückzuführen. Das höchste östrogene Potenzial (EEQ 155 ng E2/l) wurde jedoch auch während Regenwetter im SCR 2-3 nachgewiesen, allerdings lag die Zulaufwassermenge zur Kläranlage im Vergleich bei SCR 2-2 bei ca. 147.000 m³/d und bei SCR 2-3 bei ca. 84.000 m³/d. Im ERα Calux® Assay wurde in den Screenings 2-3 und 2-4 ein vergleichbares östrogenes Potenzial mit EEQ-Werten von 42 ng E2/l und 44 ng E2/l festgestellt. Ein Einfluss von Regen- und Trockenwetter auf die Östrogenität der Zulaufprobenextrakte kann daher nicht eindeutig festgestellt werden. Die Daten geben jedoch Hinweise darauf, dass ein sehr starkes Niederschlagsereignis möglicherweise Einfluss auf die Ergebnisse haben kann.

Bei einem übergeordneten Vergleich der EEQ-Werte beider Testsysteme fallen die geringeren Werte des ERα CALUX® Assays im Vergleich zum L-YES Assay auf. Das liegt vor allem an den bereits erwähnten höher eingesetzten Konzentrationen im L-YES Assay (16,7 REF) und an der höheren Empfindlichkeit des ERα CALUX® Assays. Allerdings war eine vergleichbare Tendenz in allen Screenings bezogen auf das östrogene Potenzial zu erkennen.

Tabelle 19: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES Assay und ERα CALUX® Assay mit aufkonzentrierten der Kläranlage Eilendorf Proben der Phase 1b; Orange: östrogner Effekt messbar, Grün: kein Effekt messbar

Probenahmestelle	EEQ in ng/l							
	L-YES Assay				ERα CALUX® Assay			
Screening	**2-1**	**2-2**	**2-3**	**2-4**	**2-1**	**2-2**	**2-3**	**2-4**
ZKA-E	90,1	34,3	155	142,3	27	17,7	42	43,7
AKA-E								

Bis zum Ablauf der Kläranlage Eilendorf konnte in allen vier Screenings für beide Testsysteme eine vollständige Eliminierung des östrogenen Potenzials erreicht werden.

Bei Testung der nativen Proben im ERα CALUX® Assay zeigte sich ein anderes Bild: hier war zwar ebenfalls in allen Proben des Zulaufs ein deutliches östrogenes Potenzial mit EEQ-Werten von 17 ng E2/l bis 68 ng E2/l zu beobachten (Tabelle 19). Allerdings konnte in zwei der vier Screenings dieses Potenzial am Ablauf der Kläranlage nicht vollständig eliminiert werden (Abbildung 26).

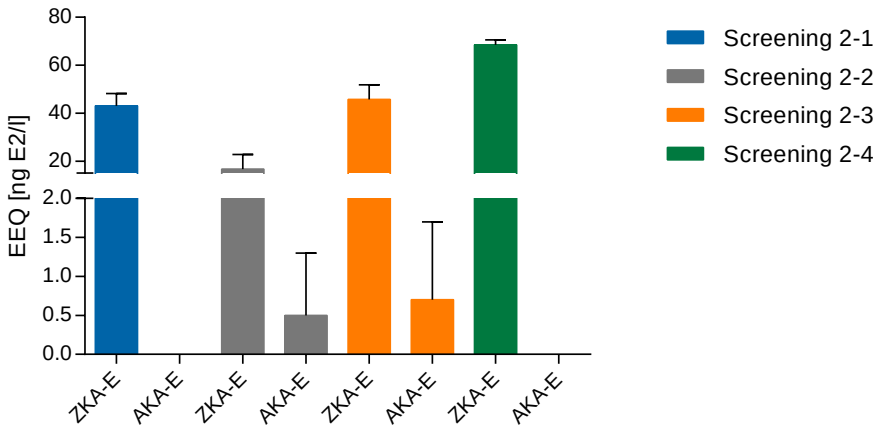

Abbildung 26: EEQ-Werte in ng E2/l mit Standardabweichung gemessen im ERα CALUX® Assay mit nativen Proben der Kläranlage Eilendorf der der Phase 1b.

Auffällig ist, dass die beiden Screenings mit nachweisbarem östrogenen Potenzial am Ablauf der Kläranlage Eilendorf während Regenwetterperioden durchgeführt wurden. Eine mögliche Ursache könnte die vergleichsweise geringere Aufenthaltszeit des Abwassers in den einzelnen Reinigungsstufen sein, wodurch es zu einer geringeren Eliminationsleistung der Substanzen oder Spurenstoffe kommt, die die entsprechenden Effekte auslösen. Ein Zusammenhang zu Regen- und Trockenwetterereignissen ist in Bezug auf native Proben also möglich.

Obwohl während der Regenwetterscreenings am Ablauf der Kläranlage noch östrogenes Potenzial nachweisbar war, wurde eine Elimination von 97 % bis 100 % erreicht, was für eine sehr gute Reinigungsleistung der konventionellen Kläranlage spricht. Diese Werte sind vergleichbar mit denen der Kläranlage Aachen-Soers (87 % bis 100 %). Wie bereits in Kapitel 5.1.5 beschrieben, zeigen andere Kläranlagen in Deutschland und der Schweiz deutlich geringere Eliminationsraten bezogen auf das östrogene Potenzial. So konnte im Rahmen des Projekts SchussenAktiv (Amler et al. 2017) in den Kläranlagen Erichskirch, Langwiese und Merklingen lediglich Eliminationsraten von 48 % bis 76 % erzielt werden. Hier wurde durch erweiterte Abwasserbehandlungen (Ozonung, Aktivkohle) eine weitere Reduzierung erzielt (Amler et al. 2017).

Zur Untersuchung der partikulären Bestandteile der Proben wurden die Filterrückstände, die durch Aufbereitung der Gewässerproben anfallen, ebenfalls auf ihr östrogenes Potenzial hin untersucht. Wie bereits im vorherigen Kapitel beschrieben, kann sich durch den Prozess der Aufkonzentrierung die Beschaffenheit der Probe (in Abhängigkeit des Belastungsgrads) ändern. Dabei sind – aufgrund der Schwebstoffanteile – stark belastete Proben mitunter zähflüssiger als gering belastete. Aufgrund der Probenbeschaffenheit der stark belasteten Zulaufprobe war es auch mit Verdünnung nicht möglich, diese Filterrückstände zu untersuchen. Die in den Filtern enthaltenen Schwebstoffe des Ablaufs der Kläranlage waren unauffällig und zeigten kein östrogenes Potenzial.

Ausgewählte Proben mit entweder geringer östrogener Aktivität (Screening 2-2) oder deutlich erhöhtem östrogenen Potenzial (Screening 2-4) im ERα CALUX® Assay wurden im H295R Assay untersucht. Getestet wurden jeweils die Zu- und Abläufe der Kläranlage Eilendorf.

In den Proben des SCR 2-2 konnten lediglich am Zulauf der Kläranlage leichte Änderungen der Steroidgenese festgestellt werden: Östradiol zeigte eine leichte Hemmung und Testosteron und Progesteron eine leichte Steigerung der Hormonkonzentration. Am Ablauf des Filters waren diese Effekte nicht mehr nachweisbar (Abbildung 27).

Ein anderes Bild zeigte die Synthese der Hormone im Screening 2-4: hier konnte am Zulauf zur Kläranlage eine Steigerung der Östradiol-Konzentration beobachtet werden, die am Ablauf der Kläranlage in eine Hemmung überging. Testosteron zeigte keine veränderte Steroidgenese, während es am Ablauf der Kläranlage zu einer Steigerung der Progesteron-Konzentration gekommen ist (Abbildung 27).

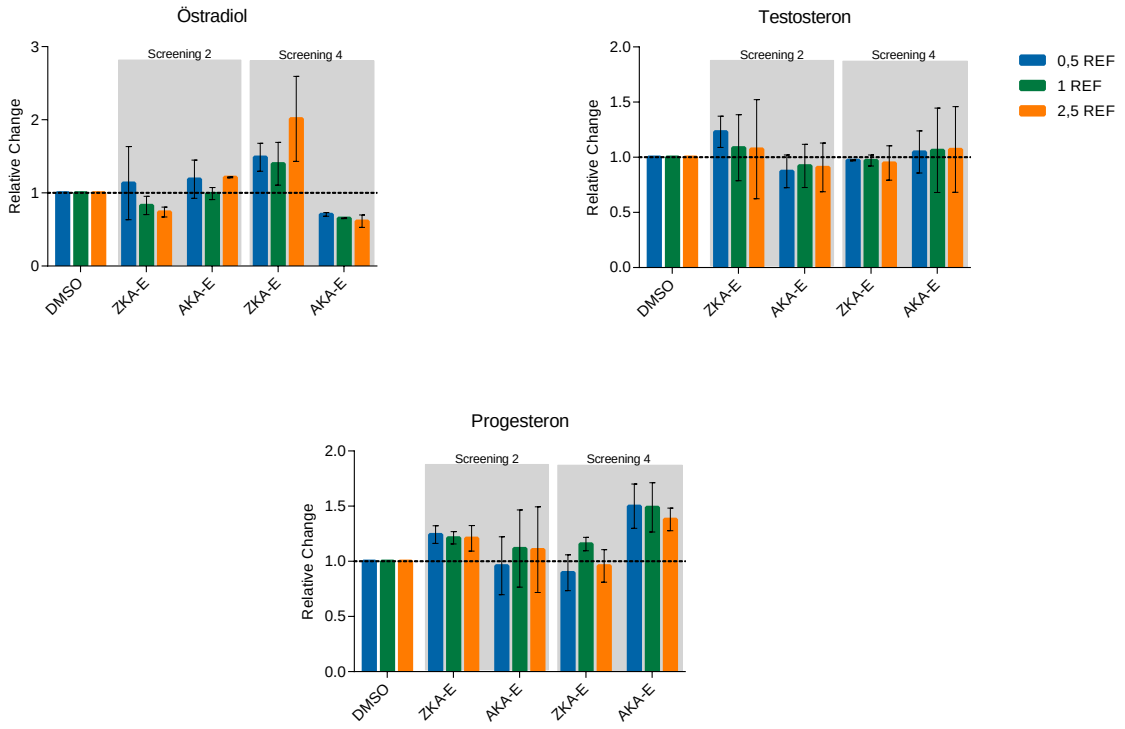

Abbildung 27: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Proben der Zuläufe und Abläufe der Kläranlage Eilendorf der Phase 1b.

Bei den unterschiedlichen Ergebnissen der Östradiol-, Testosteron- und Progesteron-Konzentration könnte die Probenahme einen Einfluss gehabt haben, da die Proben der unterschiedlichen Reinigungsstufen nicht korrespondierend genommen werden konnten und somit die jeweiligen Verweilzeiten nicht berücksichtigt wurden. Daraus ergibt sich möglicherweise eine

unterschiedliche Zusammensetzung der jeweiligen Proben. Darüber hinaus ist Abwasser in seiner Zusammensetzung mitunter sehr unterschiedlich, wie u. a. die Ergebnisse des Tages- und Wochengangs der Spurenstoffanalytik zeigt (vgl. Kap. 5.1.3). Auch die unterschiedliche Wirkung von Mischungen im Vergleich zu Einzelsubstanzen ist ein möglicher Einflussfaktor. Es ist allerdings zu erkennen, dass die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Eilendorf nicht ausreichend sind, um das Potenzial auf die Steroidgenese komplett zu eliminieren. Es konnten sowohl eine hemmende Wirkung auf Östradiol als auch eine fördernde Wirkung von Progesteron am Ablauf des Filters nachgewiesen werden.

Da die Zusammensetzung von Abwasser sehr unterschiedlich ausfallen kann und geprägt von den Anschlüssen im jeweiligen Einzugsgebiet der Kläranlage ist, sind auch Unterschiede bei einem übergeordneten Vergleich der beiden Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf nachvollziehbar. Insbesondere endokrine Substanzen verhalten sich in einer Mischung anders als einzelne Substanzen mit sowohl additiven als auch synergistischen Eigenschaften (Kortenkamp 2007). Gracia et al. (2008).

Insgesamt sind die Ergebnisse der Untersuchungen des endokrinen Potenzials der Kläranlage Eilendorf mit den Erkenntnissen der Kläranlage Aachen-Soers vergleichbar. Auch hier zeigt die Kläranlage Eilendorf bereits eine sehr gute Eliminationsleistung von 97 % bis 100 % bezogen auf das östrogene Potenzial. Allerdings war bei den nativen Proben am Ablauf der Kläranlage in zwei der vier Screenings noch ein Potenzial nachweisbar und auch die Effekte auf die Steroidgenese konnten nicht vollständig eliminiert werden.

Gentoxisches und mutagenes Potenzial

Die Untersuchung des mutagenen Potenzials im Ames-Fluktuation Assay zeigte während der beiden Regenwetterscreenings eine erhöhte Anzahl an Revertanten und damit verbunden ein Potenzial zur Auslösung von Rasterschubmutationen auf *S. typhimurium* im Ablauf der Kläranlage Eilendorf im Stamm TA 98 mit (+S9-Mix, REF 25) und ohne metabolischer Aktivierung (-S9-Mix, REF 50). Dieses Potenzial konnte am Zulauf der Kläranlage nicht nachgewiesen werden. Im Vorfeld der Untersuchungen wurde die akute Zelltoxizität ausgeschlossen, so dass es zu keiner Überlagerung des mutagenen Effekts durch eine Zelltoxizität gekommen ist. Auch hier könnte eine mögliche Erklärung die bereits mehrfach beschriebene unterschiedliche Substanzzusammensetzung in den Proben des Zulaufs und des Ablaufs aufgrund nicht korrespondierender Probenahmen bzw. die generell stark schwankende Zusammensetzung von Abwasser sein. . Eine weitere Möglichkeit ist zudem die Komplexität der Zulaufprobe. Durch sogenannte Matrixeffekte könnte der mutagene Effekt überlagert sein. Durch die weiteren Reinigungsschritte kam es anschließend zu einer Reduktion der Komplexität der Wasserprobe und der Effekt wurde sichtbar. Eine Bildung von Transformationsprodukten durch die biologische Behandlungsstufe kann allerdings auch nicht ausgeschlossen werden. In einer der vier Screenings (2-4) konnte ebenfalls ein mutagenes Potenzial im Zulauf der Kläranlage im Stamm TA 100 ohne metabolische Aktivierung festgestellt werden. Somit

zeigten die Ergebnisse im Ames-Fluktuation Assay in zwei der vier Screenings keine vollständige Eliminierung des mutagenen Effekts am Kläranlagenablauf. Allerdings muss betont werden, dass die Effekte bei REF-Werten von 25 und 50 messbar waren, was bedeutet, dass die Probe 25 oder 50-fach aufkonzentriert wurde im Vergleich zur unbehandelten nativen Probe. Diese Messung stellt hier ein Worst-Case-Szenario dar und konnte in umweltrelevanten Konzentrationen nicht festgestellt werden.

Insgesamt sind die Kläranlagen Eilendorf und Aachen-Soers in Bezug auf die Eliminationsleistung gut vergleichbar. Die konventionellen Reinigungsstufen der Kläranlage Eilendorf konnte das embryotoxische und teratogene Potenzial vollständig eliminieren. Die rezeptorvermittelten östrogenen Effekte und auch die Änderungen der Steroidgenese der Hormone Östradiol, Testosteron und Progesteron konnten durch die konventionellen Reinigungsstufen zwar nicht vollständig, aber weitestgehend eliminiert werden. Bezogen auf die Östrogenität zeigte die Kläranlage Eilendorf mit einer Elimination von 97 % bis 100 % bereits eine sehr gute Leistung. Das mutagene Potenzial wurde zwar nicht in allen Messungen vollständig eliminiert, allerdings wurde dieses Potenzial lediglich in stark aufkonzentrierten Proben (25- und 50-fach) nachgewiesen.

5.1.7 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen – Kläranlage Aachen-Soers

Mikrobiologische Analysen wurden insgesamt für die Daten von zehn Screenings durchgeführt. Darunter fällt die Keimzahlbestimmung von *E. coli* und Enterokokken sowie die Bestimmung der Antibiotikaresistenzen von *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken gegen die Antibiotika Ampicillin, Gentamycin, Vancomycin, Clarithromycin und das Kombipräparat Sulfamethoxazol/Trimethoprim. Die Resistenzen von *E. coli* wurden darüber hinaus auch für das Antibiotikum Cefotaxim bestimmt, da im späteren Projektverlauf auf die Resistenzbewertung von *E. coli* gegenüber Clarithromycin aufgrund mangelnder Wirksamkeit verzichtet wurde.

Die Resultate der unabhängigen Screenings zeigten bezüglich der Keimzahlen von *Escherichia coli* und Enterokokken keinen signifikanten Unterschied innerhalb der einzelnen Probenahmestellen zwischen den Trocken- und Regenwetter-Screenings (Abbildung 28, Abbildung 29). Für *E. coli* wurden Werte am Zulauf der Kläranlage (ZKA) von bis zu $1{,}90 \cdot 10^7$ KBE/ml erreicht. Während der einzelnen Reinigungsschritte der Kläranlage war ein stetiger Abfall der Keimzahlen zu sehen. Der Ablauf der Nachklärung (ANK) wies noch *E. coli*-Konzentrationen von bis zu $1{,}62 \cdot 10^5$ KBE/ml und der finale Ablauf des Filters der Kläranlage (AF) bis zu $9{,}33 \cdot 10^3$ KBE/ml. Auch für Enterokokken zeigte sich ein stetiger Abfall der Keimzahlen während der verschiedenen Reinigungsstufen. Im ANK wurden noch Keimzahlen von bis zu $5{,}50 \cdot 10^3$ KBE/ml und AF bis zu $2{,}10 \cdot 10^3$ KBE/ml detektiert.

Tabelle 5 liefert eine Übersicht ausgewählter Randbedingungen (Zulaufmenge, Wetter etc.) der durchgeführten Screenings. Die nachfolgenden Abbildungen zur Keimreduktion (Abbildung 28 bis

Abbildung 38 und Abbildung 65 bis Abbildung 75) beziehen sich auf die Screenings Tabelle 20dieser Tabelle.

Tabelle 20: Randdaten der durchgeführten Screenings dargestellt in den Abbildungen zur Keimreduzierung, zugehörig zu Tabelle 5.

Screening (Bezeichnung nachfolgende Abb.)	Screening (vgl. Übersicht Tabelle 5)	Durchführung	Wetter	Q_{zu} Soers	Q_{zu} Eilendorf	Q_{Wurm} vor KA-Einleitung	$Q_{Haarbach}$ vor KA-Einleitung
				m³/d	m³/d	m³/s	m³/s
1A	1-5	10/2015	RW	56.130	-	0,54	-
1B	1-3	11/2015	RW	71.489	-	0,62	-
1C	1-6	03/2016	RW	128.607	-	1,028	-
1D	1-4	04/2016	TW	64.481	-	0,389	-
1E	1-7	04/2016	TW	67.667	-	0,265	-
1F	1-8	04/2016	TW	68.327	-	-	-
2A	2-1	03/2017	TW	67.617	8.939	0,393	0,024
2B	2-2	05/2017	RW	147.293	20.698	0,702	0,027
2C	2-3	06/2017	RW	84.245	9.183	0,248	0,006
2D	2-4	08/2017	TW	55.631	6.274	0,129	0,003

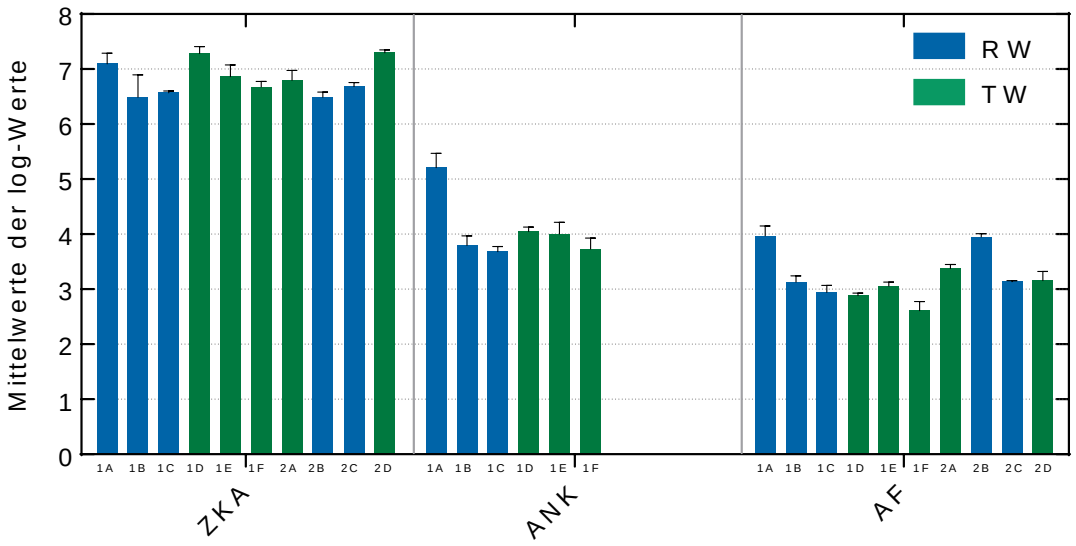

Abbildung 28: Keimzahlbestimmung *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) der Kläranlage Aachen-Soers (s. außerdem: Tabelle 20).

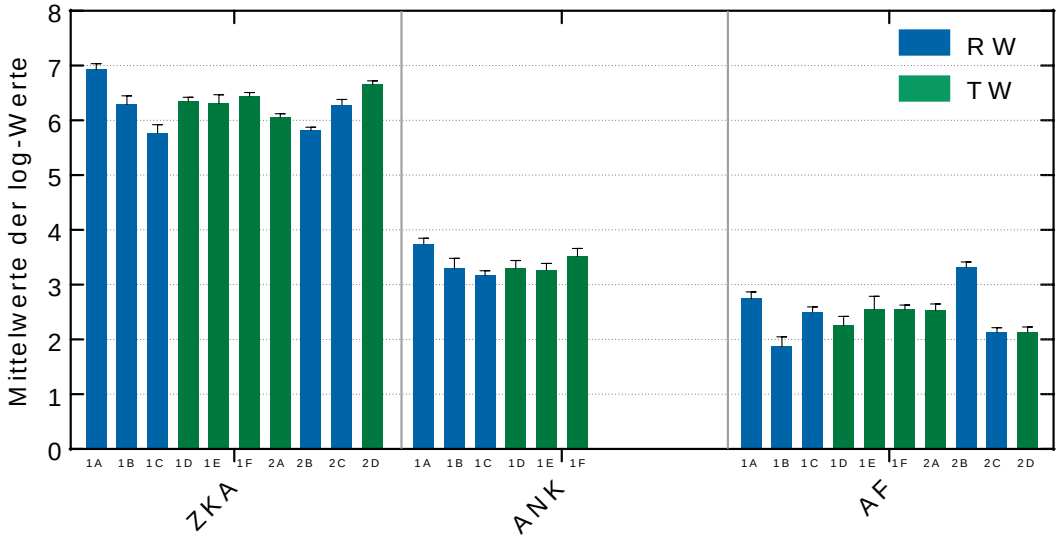

Abbildung 29: Keimzahlbestimmung Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) der Kläranlage Aachen-Soers (s. außerdem: Tabelle 20).

Zusätzlich zu den dargestellten mittleren log-Werten (Abbildung 28 und Abbildung 29) der Keimzahl ist die durchschnittliche Reduktion, also die Eliminationsleistung, von *E. coli* und Enterokokken als log-Stufe in Abbildung 30 dargestellt.

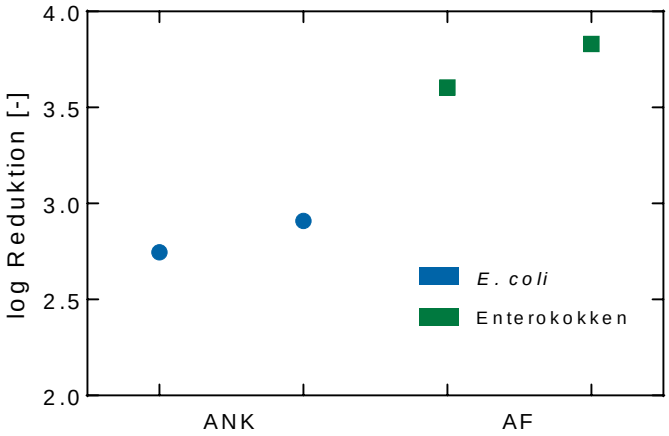

Abbildung 30: Reduktion von E. coli und Enterokokken vom Zulauf der Kläranlage bis zum Ablauf der Nachklärung bzw. Ablauf Filter, dargestellt als log-Reduktion

Die in Abbildung 30 dargestellte Eliminationsleistung der Kläranlage Aachen-Soers zeigt für *E. coli* eine log Reduktion von 2,8 zwischen dem Zulauf der Kläranlage und dem Ablauf der Nachklärung und eine log Reduktion von 3,6 zwischen dem Zulauf und dem Ablauf Filter der Kläranlage. Für Enterokokken wurde eine log Reduktion von 2,9 zwischen dem Zulauf und dem Ablauf der Nachklärung und eine log Reduktion von 3,8 zwischen dem Zulauf und dem Ablauf der Kläranlage erreicht. Prozentual kann demnach eine Abnahme von *E. coli* und Enterokokken vom Zulauf bis zum Ablauf der Kläranlage von bis zu 99,99 % verzeichnet werden.

Diese signifikante Reduktion der Keimzahl wird auch mittels univariater statistischer Analyse deutlich. Anhand des paarweisen Vergleichs der Keimzahl zwischen ZKA und ANK bzw. AF wird deutlich, dass sich die Keimzahlen der Kläranlagenzuläufe signifikant von denen der Abläufe unterscheiden (Tabelle 21). Dies gilt sowohl für die Enterokokken als auch für *E. coli*.

Neben der Anzahl der Bakterien im Abwasser wurden auch die Antibiotikaresistenzen der gefundenen Bakterien untersucht. Die dargestellten Resistenzwerte in Prozent stellen, wie bereits in Kap. 4.8 beschrieben, keine absoluten Werte dar, sondern beziehen sich auf eine Kontrolle ohne Antibiotikum innerhalb des Analyseverfahrens. So werden alle auf Selektivnährmedien mit unterschiedlichen Antibiotika detektierten Kolonien auf die Koloniezahl einer Kontrollplatte ohne Antibiotikum normiert.

Für *E. coli* wurden keine signifikanten Antibiotikaresistenzen gegen Gentamycin gefunden. Die Resistenzen gegen Ampicillin wurden am Zulauf der Kläranlage mit bis zu 64 % detektiert. Aus vorherigen Arbeiten ist bereits bekannt, dass die natürliche Sensitivität von *E. coli* gegenüber Ampicillin geringer als 60 % ist (Solbach 2013). Außerdem tragen 50 % der *E. coli* Stämme die β-Lactamase TEM-1, welche in der Lage ist den β-Lactamring von Ampicillin zu spalten (Sanders und Sanders W. E. 1992). Die detektierten Resistenzen gegen Sulfamethoxazol/Trimethoprim lagen bei bis zum 43 % am ZKA und bei bis zu 50 % am AF (Abbildung 31, Abbildung 32, Abbildung 33). Bei einigen Screenings sind an den Stufen ANK oder AF teilweise höhere Resistenzen zu verzeichnen, als am ZKA. Hier ist einerseits darauf hinzuweisen, dass die Probenahme nicht korrespondierend verlief und die Verweilzeiten der Reinigungsstufen nicht berücksichtigt werden könnten. Aufgrund der unterschiedlichen Abwassermatrix können daraus möglicherweise unterschiedliche Resultate in den Resistenzen erfolgen. Andererseits besteht möglicherweise ein Zusammenhang zur nährstoffreichen biologischen Stufe und zur grundsätzlichen Stresstoleranz der Keime. Diesbezüglich besteht weiterhin Untersuchungsbedarf.

Auf eine differenzierte Darstellung der Elimination bzw. Erhöhung von Antibiotikaresistenzen zwischen dem Zulauf und dem Ablauf der Kläranlage wurde verzichtet, da statistisch kein signifikanter Zusammenhang der Daten besteht (Tabelle 21).

In der Phase 1a wurde Clarithromycin zur Überprüfung der Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* eingesetzt. Da bereits über eine verringerte Aktivität von Clarithromycin gegenüber *E. coli* berichtet wurde (EUCAST 2017; Jacks et al. 2003) , wurde das Antibiotikum in der folgenden Projektphase 1b durch das besser wirksame Cefotaxim ersetzt. *E. coli* zeigte jedoch innerhalb der Screenings keine detektierbaren Resistenzen gegenüber Cefotaxim (nicht abgebildet).

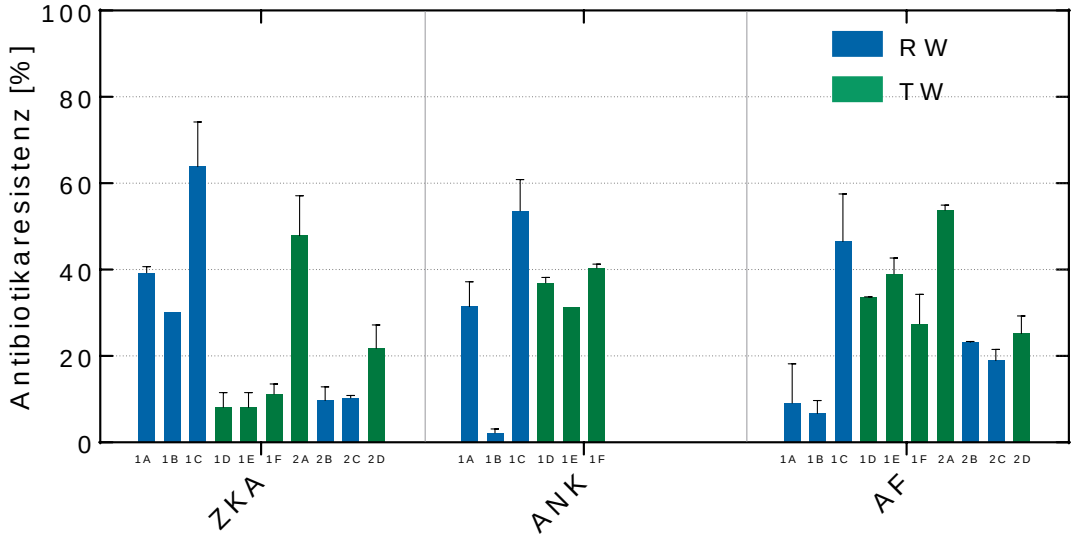

Abbildung 31: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

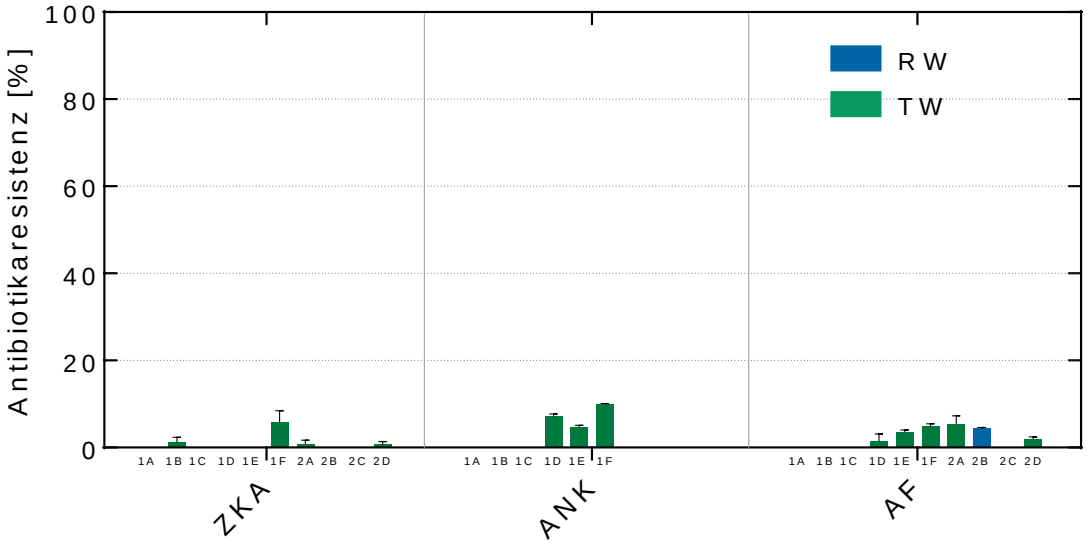

Abbildung 32: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

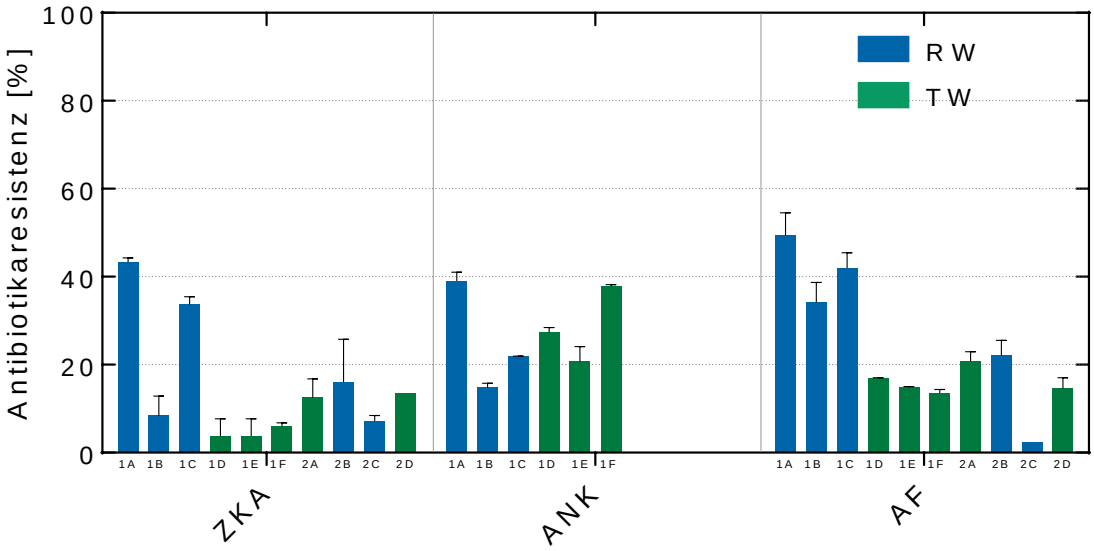

Abbildung 33: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Sulfamethoxazol/Trimethoprim (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Für Enterokokken lagen die Resistenzen gegen Ampicillin (Abbildung 34) und Vancomycin (Abbildung 37) an allen Probenahmestellen auf der Kläranlage unterhalb von 20 %. Die Resistenzen gegen Gentamycin (Abbildung 35) wurden mit Werten von bis zu 55 % ermittelt. Auch hier wurde kein eindeutiger Trend für die einzelnen Probenahmestellen beobachtet; aufgrund des nicht signifikanten statistischen Zusammenhangs der Antibiotikaresistenzen zwischen dem Zu- und Ablauf der Kläranlage (vgl. Tabelle 21) wurde auf eine detaillierte Darstellung der Elimination/Zunahme der Resistenzen durch die Leistung der Kläranlage verzichtet.

Darüber hinaus zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Regen- und Trockenwetterscreenings. Zuvor veröffentlichte Daten zeigten eine Sensitivität von Enterokokken gegenüber Gentamycin von unter 60 % (Solbach 2013). Zusätzlich wurden 55 % der *E. faecalis* Stämme (die Art, zu der u. a. Enterokokken gehören), welche in den USA isoliert wurden, als sehr resistent gegenüber Gentamycin beschrieben (Rüden und Edmond 1998). Die im Rahmen von DemO_3AC erzielten Resultate bestätigen somit die weit verteilte natürliche Resistenz von Enterokokken gegen Gentamycin. Die Resistenzen gegen Clarithromycin (Abbildung 36) lagen am Zufluss der Kläranlage bei bis zu 28 % und am Ablauf Nachklärung bis zu 45 %. Die größere Anzahl der antibiotikaresistenten Enterokokken nach ANK könnte einen Hinweis darauf geben, dass stresstolerante Organismen, welche in nährstofflimitierten, späteren Stufen der Kläranlage auftreten, oftmals auch mehr dazu neigen, Resistenzen zu tragen.

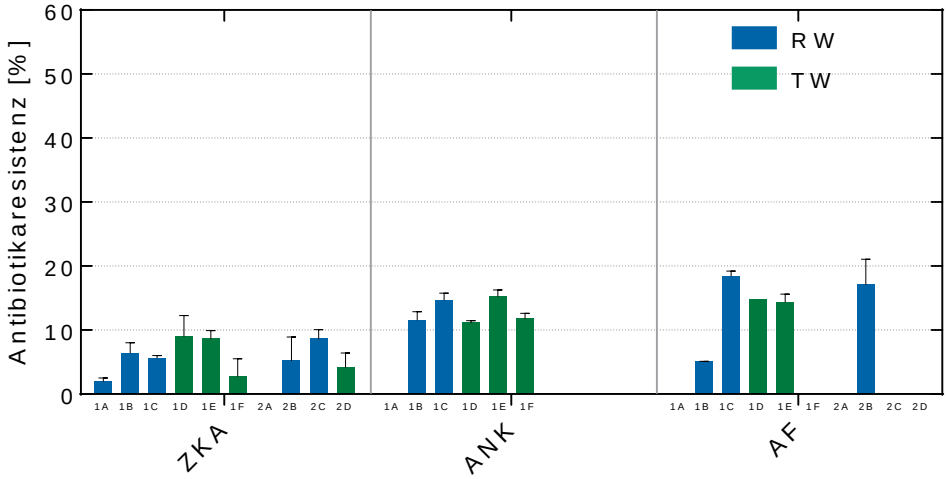

Abbildung 34: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

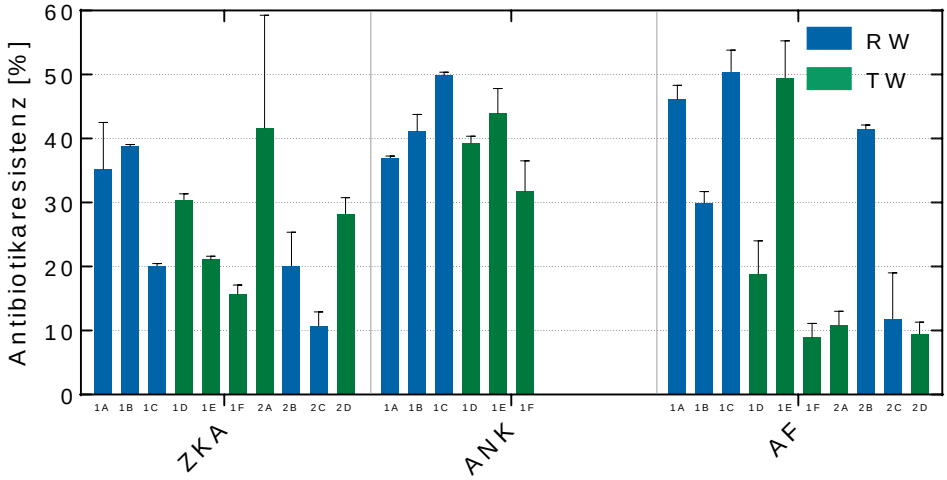

Abbildung 35: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

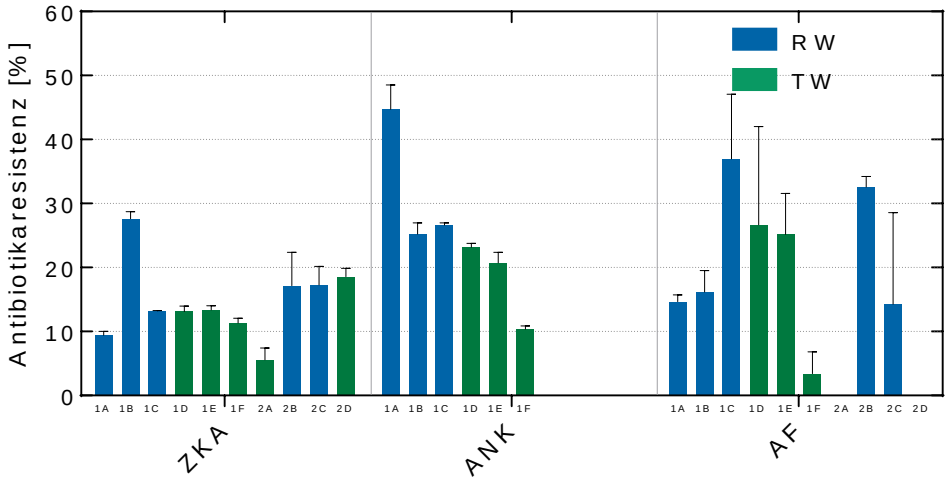

Abbildung 36: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

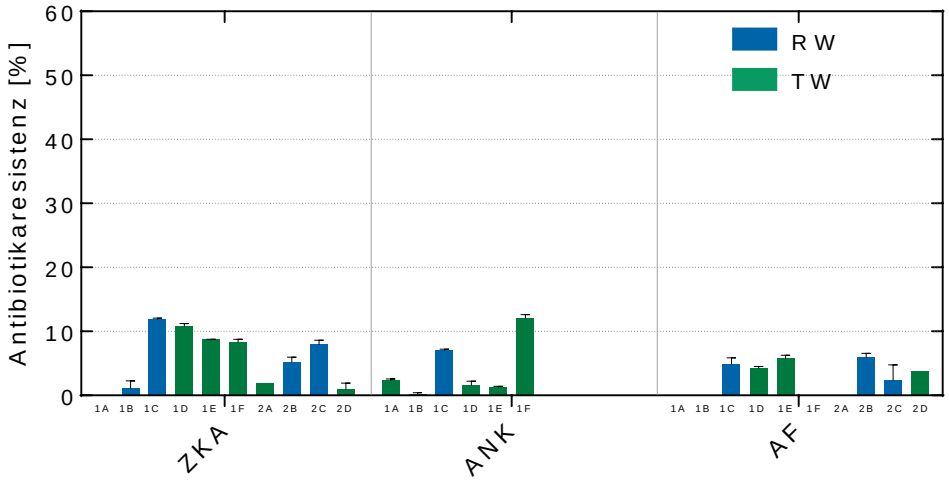

Abbildung 37: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Vancomycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Für Staphylokokken wurden keine signifikanten Resistenzen gegen Ampicillin, Clarithromycin und Vancomycin gefunden (auf eine grafische Darstellung wird deshalbverzichtet). Resistenzen gegen Gentamycin wurden vorwiegend für die Trockenwetterproben festgestellt (Abbildung 38). Hier lagen die detektierten Resistenzen bei bis zu 30 %.

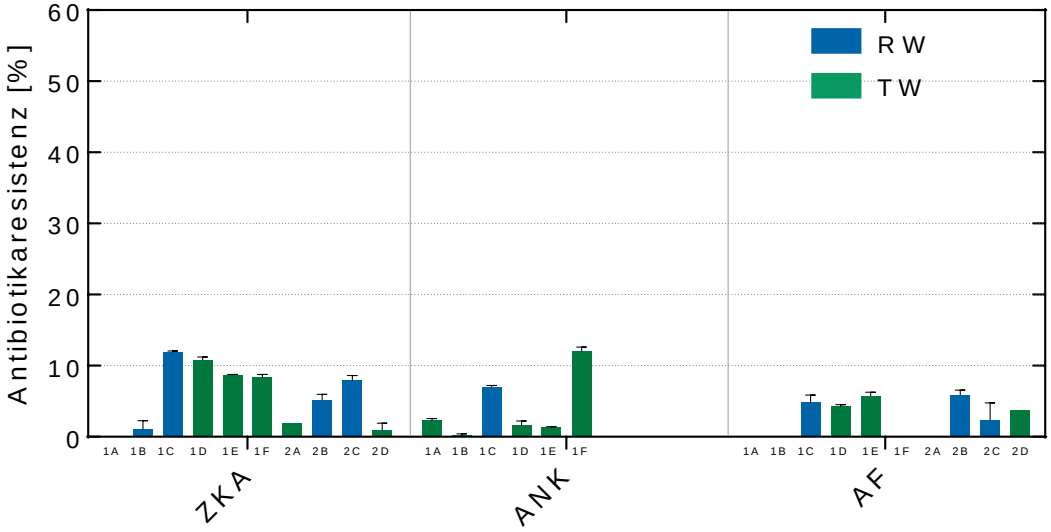

Abbildung 38: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen Zulauf (ZKA), Ablauf Nachklärung (ANK) und Ablauf Filter (AF) für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Das Auftreten der Antibiotikaresistenzen wurde univariat (vgl. Tabelle 21) und multivariat statistisch ausgewertet. Auf eine statistische Auswertung der Resistenzen von *E. coli* gegenüber Clarithromycin wurde verzichtet, da sich im Projektverlauf herausstellte, dass für Clarithromycin als Makrolidantibiotikum bei Enterobakterien wie *E. coli* keine spezifische Wirksamkeit vorliegt (EUCAST 2017; Jacks et al. 2003).

Tabelle 21: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die KA Soers in Zu- und Ablauf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im AF gegenüber ZKA; ↓: signifikant verringert im AF gegenüber ZKA; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden; n. d.: nicht bestimmt; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Kläranlage Soers: Ablauf vs. Zulauf (AF vs. ZKA)					
	Enterokokken		Staphylokokken		*Escherichia coli*	
	Sign.	p, Methode	Sign.	p, Methode	Sign.	p, Methode
Keimzahl	+ ↓	<0,001, U-Test	n. d.		+ ↓	<0,001, U-Test
AR Ampicillin	-	0,818, U-Test	*Keine Resistenzen*		-	0,676, t-Test
AR Gentamycin	-	0,970, U-Test	-	0,136, U-Test	-	0,143, U-Test
AR Clarithromycin	-	0,677, U-Test	-	0,387, U-Test	n. d.	
AR Vancomycin	-	0,102, U-Test	*Zu wenig Resistenzen*		n. d.	
AR Cefotaxim	n. d.		n. d.		-	0,686, U-Test
AR Sulfamethoxazol/ Trimethoprim	n. d.		n. d.		-	0,089, U-Test

Da die Kläranlage Aachen-Soers sowohl *E. coli* als auch Enterokokken gut eliminiert, ist auch in der statistischen Auswertung eine signifikante Reduzierung der Keimzahl vom Zulauf bis zum Ablauf der Kläranlage zu verzeichnen. Hinsichtlich der Antibiotikaresistenzen zeigten sich in der univariaten Analyse zwischen Zulauf und Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers keine signifikanten Unterschiede, und zwar für keine der drei untersuchten Mikroorganismengruppen.

Die multivariate Analyse der Daten zur Antibiotikaresistenz für die Kläranlage Aachen-Soers und die Wurm mittels PCA zeigt ebenfalls, dass sich die Zu- und Ablaufproben der Kläranlage Aachen-Soers hinsichtlich der Antibiotikaresistenzen nicht maßgeblich unterscheiden (vgl. Kap. 5.3.4 Abbildung 76).

5.1.8 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen – Kläranlage Eilendorf

Mit Proben der Kläranlage Eilendorf wurden keine direkten mikrobiologischen Analysen durchgeführt. Die Untersuchungsergebnisse aus dem Haarbach an den Probenahmestellen H1 und H2 (vor und nach Kläranlageneinleitung), sowie in der Wurm an der Probenahmestelle W1 (vor Mündung des Haarbachs in die Wurm) liefern jedoch indirekte Ergebnisse hinsichtlich des Einflusses der Kläranlage Eilendorf auf die Keimbelastung in beiden Gewässern. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.3.4 dargestellt.

5.2 Untersuchung des Regenüberlaufbeckens

5.2.1 Abwasserparameter

Das Regenüberlaufbecken Soers befindet sich kurz vor der Probenahmestelle W3 und entlastet im Vergleich zu anderen RÜB an der Wurm vergleichsweise häufig. Allein im Untersuchungszeitraum der Phase 1a (zwischen Juli 2015 und Oktober 2016) kam es zu über 40 Abschlagsereignissen, wobei diese in ihrer Intensität und Dauer sehr unterschiedlich waren. Generell führen nicht nur große Regenereignisse zu einem Abschlag. Bei zeitlich nah aufeinanderfolgenden Regenereignissen kann bei noch gefülltem RÜB auch durch kleinere Niederschlagsereignisse ein Abschlag des RÜB ausgelöst werden. Zwar gibt es weitere RÜB entlang der Wurm, jedoch ist das RÜB Soers aufgrund der Größe des angeschlossenen Einzugsgebiets und der häufigen Abschlagsereignisse besonders prägnant für die Wurm.

Ein Entlastungsereignis führt sowohl hydrologisch als auch stofflich zu einer enormen Belastung der Wurm (vgl. Kap. 5.2.3). Bei einer Gegenüberstellung der Ablaufwerte der Kläranlage Aachen-Soers (Probenahmestelle AF) und des RÜB Soers wird deutlich, dass das RÜB Soers insbesondere im Hinblick auf den CSB, TOC und AFS_{fein} sowie in Bezug auf die Trübung maßgeblich die Wurm belastet (vgl. Abbildung 39). Zur Verdeutlichung der Belastung sei auf die Überwachungswerte des Kläranlagenablaufs der Aachener Soers (AF) hingewiesen, die für CSB 40 mg/l und Ammonium 1 mg/l betragen.

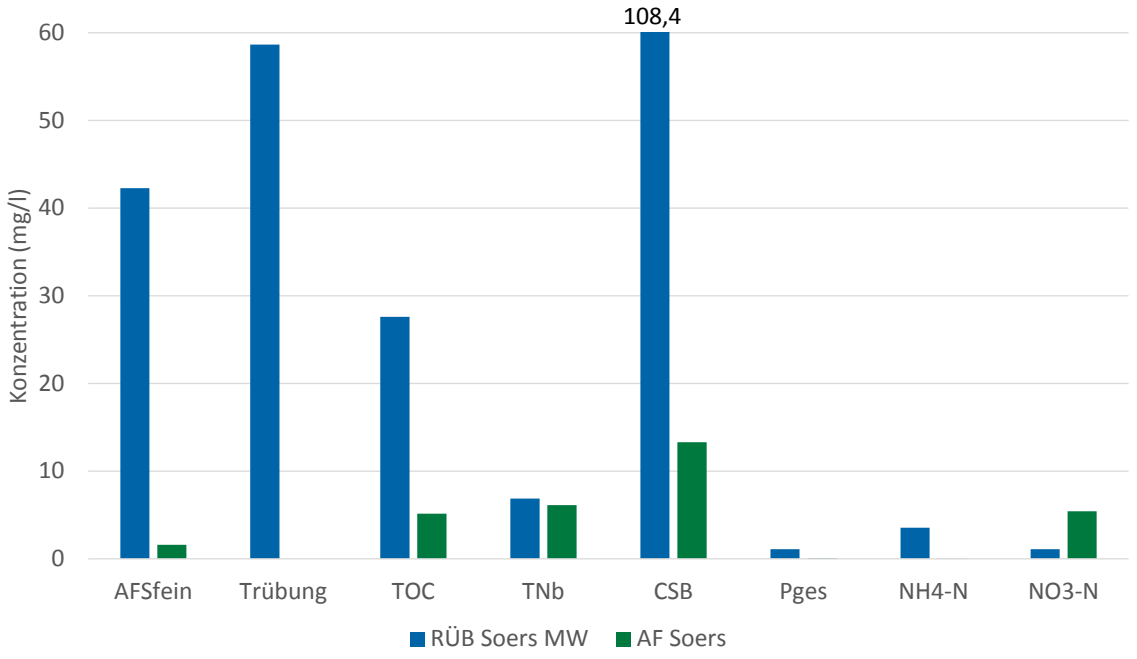

Abbildung 39: Vergleich der Ablaufkonzentrationen für ausgewählte Abwasserparameter der Kläranlage Aachen-Soers (n = 4) und des RÜB Soers (n = 16)

Bei den dargestellten Untersuchungen des RÜB Soers handelt es sich um Mittelwerte von Messkampagnen des WVER über einen längeren Zeitraum unabhängig von den Untersuchungen für DemO$_3$AC. Die Werte des AF sind Mittelwerte der Screenings aus Phase 1b.

Um zukünftig die Wurm zu entlasten, ist der Bau eines Retentionsbodenfilters geplant, der mit dem Abschlag des RÜB Soers beschickt werden soll. Die Maßnahme wird in Kap. 5.2.3 näher beschrieben.

5.2.2 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität

Ergänzend zu den Screenings zur Bewertung der Kläranlagen- und Gewässerbeschaffenheit wurde das Regenüberlaufbecken (RÜB) der Kläranlage Aachen-Soers im Zusammenhang mit einem Abschlagsereignis eingehend untersucht. Dafür wurde einerseits das RÜB selbst, andererseits die Wurm unmittelbar nach Einleitstelle des RÜBs an der W3 beprobt.

Durch den Abschlag des RÜBs kommt es zum Eintrag von mit Niederschlagswasser stark verdünntem, ungeklärtem Abwasser (Abbildung 40). Neben der daraus resultierenden stofflichen Belastung verursacht der Abschlag des RÜBs hydraulisch eine Art Hochwasserereignis, wodurch partikelgebundene Schadstoffe im Sediment der Wurm wieder remobilisiert werden und dadurch ein Risiko für aquatische Organismen darstellen können (Hollert et al. 2003). Da ein Abschlagsereignis während eines Screenings der Kläranlage und des Gewässers einen wesentlichen Einfluss – u. a. auf die Ergebnisse der Biotests – haben kann, besteht das Potenzial einer Fehlinterpretation. Aus

diesem Grund ist die differenzierte Betrachtung von Mischwasserbehandlungsanlagen zu empfehlen.

Abbildung 40: Probenahmestelle W3 nach Abschlag des RÜB Soers

Die beiden Proben (RÜB und W3) wurden nach dem gleichen Verfahren wie zuvor die Gewässer - und Kläranlagenproben extrahiert. Anschließend wurden sowohl die Extrakte als auch die nativen Proben auf ihr embryotoxisches, teratogenes, endokrines und mutagenes Potenzial hin untersucht.

Die Untersuchungen des Fischembryo-Toxizitätstests (FET) zur Erfassung des embryotoxischen und teratogenen Potenzials zeigten lediglich in der nativen Probe nach dem Abschlag des RÜBs in der Wurm (W3) Effekte. Die aufkonzentrierten Proben waren dagegen interessanterweise ohne Befund und auch bei der Probe aus dem RÜB selbst konnte dieser Effekt nicht nachgewiesen werden. Hier scheint der Effekt durch die Remobilisierung partikelgebundener Schadstoffe ausgelöst zu werden, die während des Extraktionsverfahren durch Filtration eliminiert werden. Die Embryonen, die den nativen Proben aus der Wurm über 48 h ausgesetzt waren, zeigten nach DIN EN ISO 15088 (2009) keine Effekte. Bei einer Verlängerung der Exposition auf 96 h konnten allerdings subletale Effekte beobachtet werde, die entweder eine generelle Unterentwicklung oder Anomalien am Herzen (Schlauchherzen; Abbildung 41) zeigten.

Abbildung 41: Schlauchherz und Ödeme des Perikards bei 96 h alten Zebrabärblingsembryonen nach Exposition der nativen Probe aus der Wurm nach RÜB-Abschlag. Roter Pfeil: Herz.

Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass Substanzen für den Effekt verantwortlich sind, die das Herz-Kreislaufsystem angreifen und so zu dem spezifischen Effekt des Schlauchherzens führen. Da an dieser Stelle ein Eintrag von Schadstoff aus diffusen Quellen vorliegt (RÜB, Vorbelastung der Wurm, Sedimentremobilisierung etc.), kann keine eindeutige Aussage über die tatsächliche Ursache für den ausgelösten Effekt getroffen werden. Es konnten allerdings bei Untersuchung der Sedimentproben (vgl. Kap. 5.3.3) verschiedener Probenahmestellen in der Wurm und dem Haarbach ebenfalls Effekte auf das Herz-Kreislaufsystem beobachtet werden.

Das endokrine Potenzial wurde zum einen durch rezeptorvermittelte Tests (L-YES Assay und ERα CALUX® Assay) und zum anderen durch einen Test zur Untersuchung der Steroidgenese (H295R Assay) untersucht.

Der ERα CALUX® Assay wurde sowohl mit nativen als auch mit aufkonzentrierten Proben (REF 2,5) durchgeführt. Hier konnte ein erhöhtes östrogenes Potenzial mit EEQ-Werten von 4,3 ng E2/l bis 7,8 ng E2/l in sämtlichen untersuchten Proben (RÜB und W3, nativ und Extrakt) nachgewiesen werden. Tendenziell zeigten dabei die nativen Proben ein leicht höheres Potenzial (5,6 ng E2/l bis 7,8 ng E2/l) im Vergleich zu den Extrakten (4,3 ng/l bis 4,7 ng/l), vgl. Abbildung 42. Die gemessen EEQ-Werte an der Probenahmestelle W3 in der Wurm waren nach dem RÜB-Abschlag um den Faktor 5–20 höher als in den zuvor gemessenen Proben im den Gewässer-Screenings (vgl. Kap. 5.3.3).

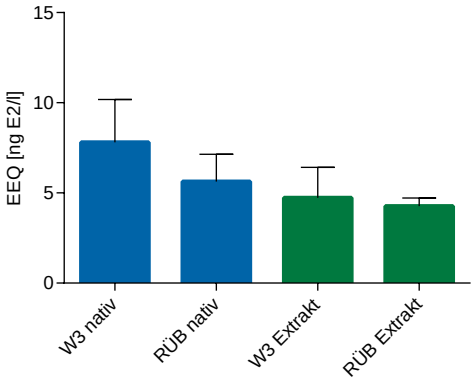

Abbildung 42: EEQ-Werte in ng E2/l mit Standardabweichung gemessen im ERα CALUX® Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse der nativen und aufkonzentrierten Proben der W3 nach RÜB-Abschlag des RÜBs.

Bei Untersuchung der Proben im L-YES Assay zeigten die aufkonzentrierten Proben (REF: 16,7) ebenfalls deutlich erhöhte östrogene Effekte mit EEQ-Werten von 22,8 ng E2/l (RÜB) und 28,8 ng E2/l (W3 nach Abschlag). Die höheren EEQ-Werte des L-YES Assay im Vergleich zum ERα CALUX® Assay sind dabei auf die deutlich höhere Aufkonzentrierung der Proben (REF 16,7 gegen REF 2,5) und die höhere Empfindlichkeit des ERα CALUX® Assay zurückzuführen, wodurch es möglich ist, östrogene Effekte auch in vergleichsweise geringeren Konzentrationen zu testen.

Zur Untersuchung der Effekte auf die Steroidgenese wurde der H295R Assay mit den aufkonzentrierten Proben aus dem RÜB und der Wurm (W3) durchgeführt. Dabei wurde die Produktion der Hormone Östradiol, Testosteron und Progesteron genauer betrachtet. Hier zeigte sich, dass es in der Probe aus dem RÜB selbst zu keiner veränderten Bildung von Östradiol gekommen ist. Allerdings konnte eine erhöhte Östradiolkonzentration nach Belastung der Zellen mit einem REF von 2,5 mit der Probe der W3 gemessen werden (Abbildung 43).

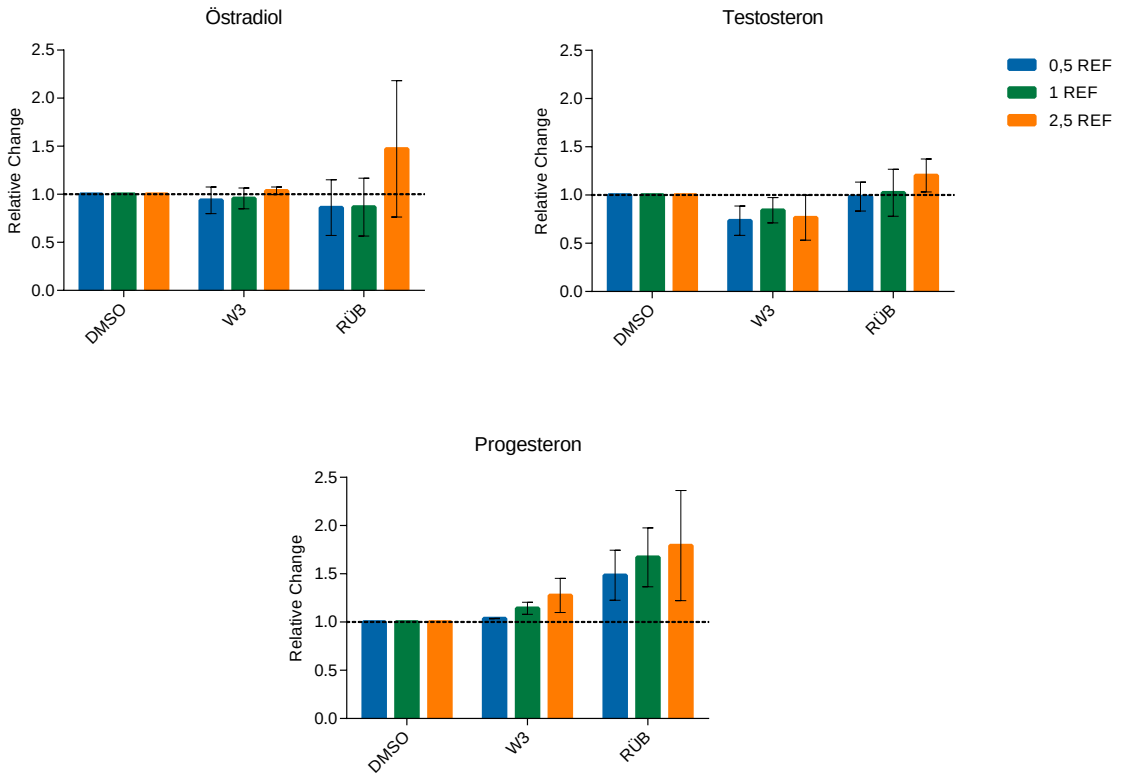

Abbildung 43: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse der aufkonzentrierten Proben der Probenahmestellen W3 nach RÜB-Abschlag und im RÜB selbst.

In der Probe des RÜB war tendenziell eine leicht verringerte Testosteronkonzentration messbar, während es bei Progesteron in beiden Proben (RÜB und W3) zu einer Steigerung der Progesteronproduktion gekommen war. Dabei zeigte die Probe der W3 eine deutlich erhöhte Produktion von Progesteron. Hier scheint es eine Störung in dem Pathway zu geben, in welchem Pregnolon zu Progesteron durch das Enzym 3β-HSD gebildet wird und es im nachfolgenden Schritt durch das Enzym CYP17 zur Produktion von Östradiol und Testosteron kommt.

Die Ergebnisse der endokrinen Tests weisen darauf hin, dass es durch ein Abschlagsereignis des RÜBs zu einem erhöhten Eintrag an endokrinen Stoffen in die Wurm kommen kann, die mitunter sowohl rezeptorvermittelte Effekte, als auch Effekte auf die Steroidgenese auslösen. Schon geringste Konzentrationen können dabei schwerwiegende Folgen für aquatische Organismen haben. Kidd et al. (2007) zeigten, dass bereits Konzentrationen im Bereich 5–6 ng E2/l zum Zusammenbruch ganzer Fischpopulationen führen können. Diese Konzentration entspricht den hier ermittelten EEQ-Werte der nativen Proben aus der Wurm nach Abschlag des RÜB im ERα CALUX® Assay. Aufgrund des Eintrags von Schadstoff aus diffusen Quellen (RÜB, Vorbelastung der Wurm, Sedimentremobilisierung etc.) lässt keine eindeutige Zuordnung der auslösenden Quelle zu bzw. deutet darauf hin, dass vermutlich eine Vielzahl an diffusen Quellen zur Belastung beiträgt. Endokrin

wirksame Stoffe wirken i. d. R. in der Mischung anders, wobei es zu einer additiven oder synergistischen Wirkung der Substanzen kommen kann (Kortenkamp 2007).

Untersuchungen des mutagenen Potenzials mittels Ames-Fluktuations Assay konnte im Stamm TA100 kein Potenzial festgestellt werden. Dagegen konnte ein Stamm TA98 nach Belastung mit den Proben aus dem RÜB und aus der Wurm (W3) ab einem REF von 25 Rasterschubmutationen festgestellt werden. Während die Probe aus dem RÜB ein mutagenes Potenzial sowohl mit als auch ohne Zugabe von S9 aufzeigten, wurde der Effekt bei der Probe aus der Wurm nur nach Zugabe von S9 erhalten. Dies deutet darauf hin, dass im RÜB Stoffe vorhanden sind, die sowohl ohne als auch mit metabolischer Aktivierung zu einer Rasterschubmutation führen können. In der Wurm dagegen scheinen durch einen Verdünnungseffekt nur die Stoffe ein mutagenes Potenzial aufzuweisen, die durch eine metabolische Aktivierung ihre volle Wirkung auf die Bakterien entfalten können. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass es zu einem Eintrag von mutagenen Stoffen durch einen Abschlag des RÜBs in die Wurm kommen kann. Allerdings muss betont werden, dass ein mutagenes Potenzial erst ab einer 25-fachen Aufkonzentrierung der Probe messbar war und somit als sehr leicht einzustufen ist.

Aus der Literatur sind, nach unserem derzeitigen Wissensstand, kaum Untersuchungen bekannt, in denen das RÜB in umfassende ökotoxikologische Untersuchungen einbezogen wurde. Lediglich aus dem Projekt SchussenAktiv können Vergleichswerte herangezogen werden. Hier wurde ebenfalls das endokrine und mutagene Potenzial des RÜB untersucht. Das endokrine Potenzial wurde hier mit Reportergenassays mit Mamakarzinomzellen und Hela-Zellen untersucht. Die ermittelten EEQ-Werte lagen hier im Bereich 5–7 ng E2/l und somit sehr gut vergleichbar mit denen im Rahmen von DemO_3AC ermittelten Werten des ERα CALUX® Assay von 4 ng E2/l bis 8 ng E2/l.

Im Ames-Fluktuation Assay im Stamm YG7108 konnte im Rahmen von SchussenAktiv ebenfalls in einzelnen Fällen ein mutagenes Potenzial in vierfach aufkonzentrierten Proben ermittelt werden. Es zeigte sich, dass der vorhandene Retentionsbodenfilter das östrogene Potenzial nach einem Abschlag des RÜB im Mittel um 83 % reduzieren konnte (Amler et al. 2017). Auf diese Weise ließe sich der Eintrag von östrogenen Stoffen und der damit verbundenen Effekte durch einen Abschlag des RÜBs deutlich reduzieren. Eine Reduzierung des mutagenen Potenzials durch einen Retentionsbodenfilter konnte hingegen nicht eindeutig bestätigt werden, da im SchussenAktiv-Projekt nur vereinzelnd Effekte nachweisbar waren.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass es durch einen Abschlag des RÜBs zum erhöhten Eintrag an Stoffen kommen kann, die ein embryotoxisches, teratogenes, endokrines und mutagenes Potenzial aufweisen können. Zudem werden durch die hydraulische Belastung eines Abschlagereignisses des RÜB die Sedimente aufgewirbelt, wodurch partikelgebundene Schadstoffe remobilisiert werden (vgl. Kap. 5.3.3), die ebenfalls einen negativen Effekt auf Wasserorganismen haben können. Eine zusammenfassende Ergebnisdarstellung der ökotoxikologischen Untersuchungen des RÜBs ist in Tabelle 22 dargestellt.

Tabelle 22: Übersicht der beobachteten Effekte durch Mischwasserentlastung der nativen Proben und der Extrakte (RÜB Soers und W3 nach Abschlagsereignis). Orange: Effekt nachweisbar. Grün: kein Effekt nachweisbar.

Probentyp	nativ		Extrakt			
Test	FET	ERα CALUX©	FET	AMES	ERα CALUX©	L-YES
W3						
RÜB Soers						

Aufgrund des mitunter starken Einflusses von Mischwasserbehandlungsanlagen auf die jeweiligen Vorfluter und die potenzielle Fehlinterpretation der Daten bei Nichtberücksichtigung des Einflusses, wird eine nähere Untersuchung grundsätzlich empfohlen. Als Nachbehandlungsstufe für ein RÜB eignet sich ein Retentionsbodenfilter, der sowohl stofflich als auch hydraulisch und folglich auch ökotoxikologisch zu einer Entlastung des Vorfluters führen kann. Der Bau eines Retentionsbodenfilters zur Behandlung des Abschlags des RÜB Soers ist geplant.

5.2.3 Nachweis nach BWK M7/M3

Gewässer unterliegen i. d. R. einer Vielzahl an Belastungen, darunter verschiedene stoffliche Einträge, hydraulische Belastungen und strukturelle Defizite. Diese führen zu negativen Veränderungen der Gewässerbiozönose und damit zu einer Zielverfehlung des guten ökologischen Zustands nach EU-WRRL (2008/105/EC 16.12.2008). Spurenstoffe stellen hier eine von vielen möglichen Ursachen dar, weswegen eine umfassende Betrachtung aller Belastungsfaktoren in einem Einzugsgebiet essentiell für die geeignete Maßnahmenwahl zur Erreichung der Ziele der EU-WRRL ist.

Der Nachweis der Gewässerverträglichkeit von Misch- und Niederschlagswassereinleitungen bildet einen weiteren Baustein im Hinblick auf eine derartige ganzheitliche Betrachtung. Der WVER hat hierzu im Jahr 2014 Berechnungen auf Basis der BWK Merkblätter M3/M7 (BWK 2001, 2008) zur hydraulischen (WVER 2014b) und stofflichen (WVER 2014a) Belastung der Wurm durch Misch- und Niederschlagswassereinleitungen durchgeführt und Maßnahmen zur Verbesserung der Situation abgeleitet. Im besonderen Fokus steht hierbei das RÜB der Kläranlage Aachen-Soers. Der stoffliche Nachweis nach BWK M3/M7 (BWK 2001, 2008) überprüft die Gewässerverträglichkeit hinsichtlich der Parameter Ammoniak, Sauerstoff und abfiltrierbare Stoffe (AFS).

Der WVER als Betreiber von Kläranlagen und Anlagen zur Mischwasserbehandlung ist im Rahmen der Umsetzung des Maßnahmenprogramms der EU-WRRL verpflichtet, den Nachweis der Gewässerverträglichkeit von Misch- und Regenwassereinleitungen zu erbringen. Zu diesem Zweck wird seitens der Bezirksregierung ein Nachweis nach BWK Merkblatt M3/M7 (BWK 2001, 2008) gefordert, der für die Wurm im Jahr 2014 durchgeführt wurde. In diesem Nachweis wird die stoffliche

(WVER 2014a) und hydraulische (WVER 2014b) Belastung der Wurm durch die Einleitung von Abwasserbehandlungsanlagen untersucht und, falls der Nachweis der Gewässerverträglichkeit nicht erbracht werden kann, Maßnahmen zu Verbesserung modelliert und Maßnahmen zur Verbesserung der Situation abgeleitet. In besonderem Fokus steht hierbei das RÜB Soers auf der Kläranlage Aachen-Soers.

Der stoffliche Nachweis wurde für die Wurm für AFS, Ammoniak und Sauerstoff über den BSB_5 durchgeführt.

Ammoniak ist bereits in geringen Konzentrationen toxisch für Fische und Wirbellose. Ammoniak steht abhängig von pH-Wert und Temperatur im Gleichgewicht mit Ammonium, welches durch Abwasserbehandlungsanlagen in Oberflächengewässer eingetragen werden kann (Ammonium selbst ist für im Wasser lebende Organismen nicht toxisch). Der Grenzwert liegt bei 0,1 mg NH_3-N/l. Häufigkeits-Dauer-Grenzwerte für Ammoniak liegen bei Mittelgebirgs- und Tieflandgewässern zwischen 0,02 mg NH_3-N/l und 0,2 mg NH_3-N/l, je nach Frequenz, Dauer und Wiederkehrzeit (T in Jahren) des Ereignisses. Der Grenzwert für Ammoniak wird anhand der Modellierung in der Wurm eingehalten.

Berechnungen zum Sauerstoffgehalt sollen sicherstellen, dass im Gewässer keine schädlichen Sauerstoffdefizite durch Sauerstoffzehrung bei Mischwassereinleitungen entstehen. Die Grenzwerte variieren, ähnlich wie bei Ammoniak, je nach Frequenz, Dauer und Wiederkehrzeit und liegen bei ca. 6–7 mg O_2/l. Die Sauerstoffkonzentrationen lagen bei den Berechnungen immer deutlich über 7 mg O_2/l, überwiegend zwischen 8 mg O_2/l und 9 mg O_2/l.

Für AFS gibt es bisher keinen festgelegten Grenzwert außerhalb von Großsalmoniden-Laichgewässern. Die berechneten Spitzenkonzentrationen in der Wurm liegen bei rund 160 mg AFS/l. Diese Konzentrationen ergeben sich jedoch nur für den Oberlauf (also im Bereich des Untersuchungsgebietes DemO_3AC); im Unterlauf der Wurm sinkt die berechnete Konzentration auf ca. 125 mg AFS/l. Die Berechnungen weisen hiermit ebenfalls auf die klare Belastung des Wurmoberlaufs durch die starke Versiegelung im Stadtgebiet Aachen hin.

Der stoffliche Nachweis nach BWK Merkblatt M3 und M7 (BWK 2001, 2008) konnte somit für die Wurm erbracht werden (WVER 2014a).

Im hydrologischen Nachweis wird deutlich, dass bereits oberhalb liegende Einleitungen (RÜB Rehmplatz und RÜB Steinkaulstraße) zu einer Überschreitung der Abflusszielgröße führen (vgl. Abbildung 44). Die Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers und des vorgeschalteten RÜB verschärfen dieses Defizit noch erheblich.

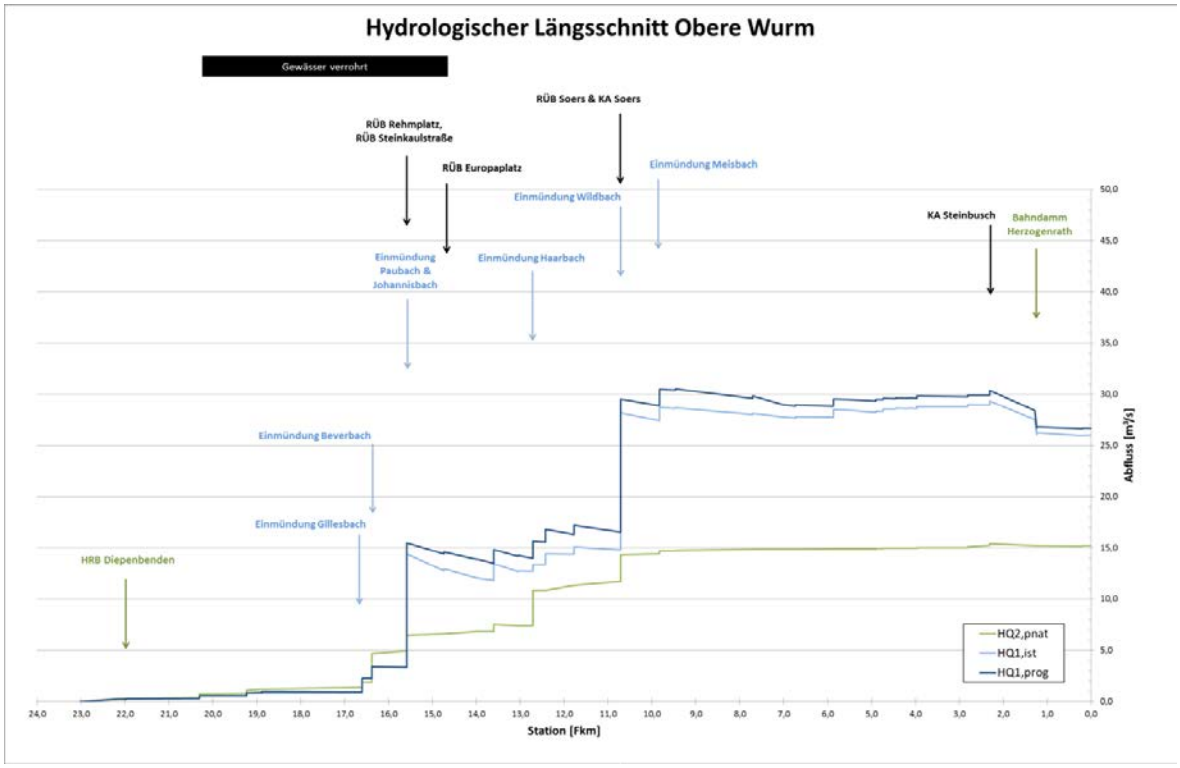

Abbildung 44: Hydrologischer Längsschnitt der Wurm (Obere Wurm) als Vergleich der Szenarien des natürlichen Zustands, des Ist-Zustands und des prognostizierten Zustands (WVER 2014b)

Aufgrund dieser beiden Sprünge im Abflussverhalten sind im hydrologischen Nachweis (WVER 2014b) Maßnahmen vorgeschlagen und modelliert worden. Die vom WVER bevorzugte Maßnahmen stellt der Bau eines großen Retentionsbodenfilters (RBF) am RÜB Soers dar, für den die Genehmigung zum Bau und Betrieb nach § 57 (2) LWG NRW voraussichtlich im Jahr 2018 erteilt werden wird. Obwohl die Modellrechnungen zeigen, dass selbst mit dem geplanten RBF der hydrologische Nachweis nicht erbracht werden kann (Abbildung 45), wird diese Variante dem Bau eines einfachen Regenrückhaltebeckens (RRB) vorgezogen. Bei einem RRB wäre zwar das Rückhaltevolumen, welches auf der zur Verfügung stehenden Fläche untergebracht werden könnte, größer, jedoch beinhaltet der Bau eines RBF eine zusätzliche stoffliche Entlastung der Wurm. Da selbst durch den Bau eines RRBs die hydrologischen Zielgrößen nicht einzuhalten sein werden und ein potenziell natürlicher Zustand unter den vorhandenen Randbedingungen im Stadtgebiet Aachen unerreichbar ist, wird eine höhere Wassermenge zugunsten einer stofflichen Entlastung als Lösungsvariante bevorzugt.

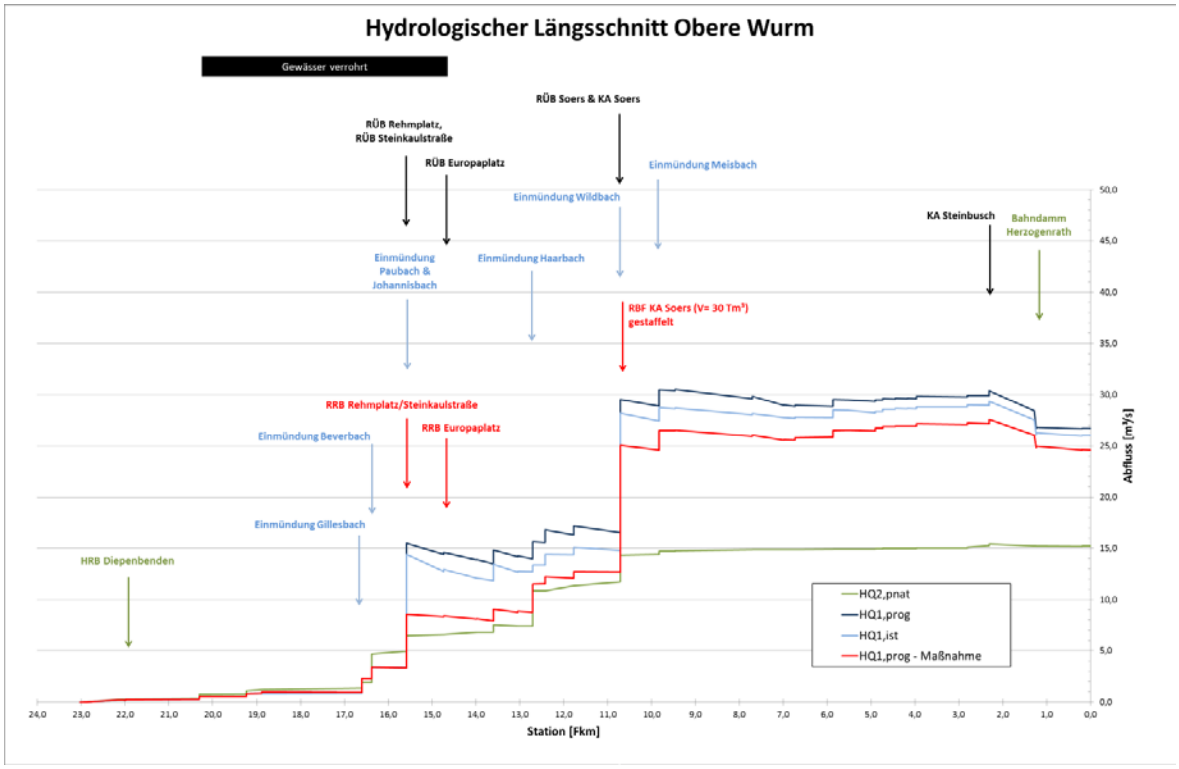

Abbildung 45: Hydrologischer Längsschnitt der Wurm (Obere Wurm) unter Berücksichtigung der modellierten Maßnahme: Bau eines Retentionsbodenfilters (WVER 2014b)

Anhand des hydrologischen Nachweises der Wurm wird deutlich, dass insbesondere im Untersuchungsgebiet des Projekts DemO$_3$AC ein natürlicher Zustand vermutlich nicht zu erreichen ist und die hydraulische Belastung im Bereich der untersuchten Stellen sehr hoch ist. Gleichzeitig führt eine starke Versiegelung innerhalb eines Einzugsgebiets i. d. R. zu einer Verringerung des Niedrigwasserabflusses, welches ebenfalls Auswirkungen auf die Zusammensetzung der Biozönose eines Gewässers hat. Die Zuordnung bestimmter ökologischer Defizite zu einzelnen Belastungen ist in einem multiplen Stressoren-System schwierig (Schäfer et al. 2016), da Überlagerungen oder Maskierungen von Effekten auftreten können. Für den Erfolg von Maßnahmen ist daher die Relevanz einzelner Stressoren entscheidend für die Priorisierung von Maßnahmen- oder Maßnahmenkombinationen. Aktuell steht keine Umsetzung weiterer Maßnahmen aus; die hier dargestellten Maßnahmen in der Abbildung sind lediglich in die theoretische Betrachtung mit eingeflossen.

5.3 Untersuchung des Einflusses der Kläranlagen auf die Vorfluter

5.3.1 Abwasserparameter

Der Einfluss der Kläranlageneinleitung der Aachener Soers ist in der Wurm signifikant sichtbar anhand typischer Abwasserparameter, wie beispielsweise dem DOC oder dem Nitrat (vgl. Tabelle 23). Obwohl es in Bezug auf Nitrat zu einer Erhöhung der Nitratkonzentration im Vorfluter durch die Kläranlageneinleitung kommt, ist der Überwachungswert der Kläranlage für Gesamt-Stickstoff

nicht überschritten (vgl. Kap. 5.1.1). Aufgrund der weitgehenden Elimination von P_{ges} in der Kläranlage und Verdünnungseffekten aufgrund des hohen Abwasseranteils der Wurm wird nach der Einleitung eine Reduzierung der Konzentration im Vorfluter sichtbar. Die Ammoniumkonzentration im Gewässer, welche im Gewässer toxikologisch relevant sein kann (vgl. Kap. 5.2.3). Die Ammoniumkonzentration im Gewässer wird durch die Kläranlage Aachen-Soers nicht verändert. Darüber hinaus steigt die Temperatur des Wassers in der Wurm nach Kläranlageneinleitung sowohl im Winter als auch im Sommer um zwei bis drei Grad Celsius an (vgl. Brückner et al. (2017)).

Tabelle 23 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse. Dargestellt ist die Auswertung der Fragestellung, ob sich die Konzentrationen von Standardparametern in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers signifikant verändern und ob die Konzentrationen in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers mit denen im Ablauf der Kläranlage korrelieren. Fünf der elf Standardparameter wie DOC, NO_3-N, Chlorid, Sulfat und Bromid zeigen eine signifikante Erhöhung unterhalb der Kläranlage Soers. Bei acht von elf Standardparametern korreliert die Konzentration im Gewässer unterhalb der Kläranlage mit der Konzentration im Ablauf der Kläranlage signifikant.

Tabelle 23: Univariate statistische Auswertung von Standardparametern im Datensatz „Screening“ für die Wurm unter Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an W5 gegenüber W2/W3; ↓: signifikant verringert an W5 gegenüber W2/W3; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Gewässer Wurm uh KA vs. oh KA W5 vs. W2/W3		Korrelation/Regression W5 vs. AF	
	Sign.	p, Methode	Sign.	Koeffizient (cc), p, Methode
TOC	-	0,758/0,442 U-Test	+	cc=0,665 (p=0,0122) Spearman Rangkorrelation
DOC	+↑/-	0,038/ 0,086 t-Test	-	cc=0,533 (p=0,0608) Pearson Maßkorrelation
TN_b	-	0,918/ 0,099 U-Test	+	cc=0,889 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation R^2=0,79
NH4-N	-	0,918/0,099 U-Test	+	cc=0,584 (p=0,0347) Spearman Rangkorrelation
NO3-N*	+↑	<0,001/<0,001 U-Test	+	cc=0,862 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation R^2=0,743
NO2-N*	-	0,408/0,07 U-Test	-	cc=0,263 (p=0,372) Spearman Rangkorrelation
N org.	-	0,091/ 0,259 U-Test	-	cc=0,302 (p=0,304) Spearman Rangkorrelation
P ges.	+↓	0,04/ 0,042 U-Test	+	cc=0,609 (p=0,0254) Spearman Rangkorrelation
Chlorid*	+↑	<0,001/<0,001 U-Test	+	cc=0,753 (p=0,00299) Pearson Maßkorrelation R^2=0,566
Sulfat*	+↑	0,016/0,008 U-Test/t-Test	+	cc=0,816 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation R^2=0,665
Bromid	+↑	<0,001/<0,001 t-Test	+	0,898 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation R^2=0,807

Die Ergebnisse der statistischen Analyse (vgl. Tabelle 24) zeigen, inwiefern sich die Konzentrationen von Standardparametern im Haarbach unterhalb der Kläranlage Eilendorf bzw. in der Wurm unterhalb der Einleitung des Haarbachs signifikant verändern und ob die Konzentrationen im Haarbach unterhalb der Kläranlage mit denen im Ablauf der Kläranlage korrelieren. Hier ist zu beachten, dass der Datensatz für die Kläranlage Eilendorf mit n = 4 deutlich niedriger als der für die Kläranlage Aachen-Soers (n = 9 bis n = 13). Im Haarbach ist lediglich die Nitratkonzentration unterhalb der Kläranlage signifikant erhöht. In der Wurm sind zusätzlich TOC und Chlorid an der Probestelle W2, welche unterhalb der Mündung des Haarbachs liegt, durch die Kläranlage Eilendorf (Einleitung über Haarbach in die Wurm) signifikant erhöht. Für fünf der elf Parameter wurden auch im Haarbach signifikante Korrelationen mit den Konzentrationen im Kläranlagenablauf gefunden. Dies waren Gesamtstickstoff, Gesamtphosphor, Chlorid, Sulfat und Bromid.

Zusätzlich zu den univariaten Analysen erfolgte eine multivariate statistische Analyse der Standardparameter zusammen mit den Spurenstoffen, um den Einfluss der Kläranlagenabläufe auf die Wurm zu beschreiben und darzustellen, welche Parameter dazu maßgeblich beitragen. Die Ergebnisse sind in Kap. 5.3.2 aufgeführt.

Tabelle 24: Univariate statistische Auswertung von Standardparametern im Datensatz „Screening“ für den Haarbach und die Wurm unter Einfluss der KA Eilendorf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an H2 gegenüber H1; ↓: signifikant verringert an H2 gegenüber H1; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Gewässer Haarbach uh KA-E vs. oh KA-E H2 vs. H1		Gewässer Wurm uh KA-E vs. oh KA-E W2 vs. W1		Korrelation/Regression H2 vs. AKA-E	
	Sign.	p, Methode	Sign.	p, Methode	Sign.	Koeffizient (cc), p, Methode
TOC	-	0,708, t-Test	+↑	0,013, t-Test	-	cc=0,949 (p=0,0833) Spearman Rangkorrelation
DOC	-	0,589, t-Test	-	0,082, t-Test	-	cc=0,894 (p=0,106) Pearson Maßkorrelation
TN_b	-	0,486, U-Test	-	0,819, t-Test	+	cc=0,994 (p=0,00626) Pearson Maßkorrelation R^2=0,988
NH4-N	-	0,486, U-Test	-	0,819, t-Test	-	cc=0,404 (p=0,596) Pearson Maßkorrelation
NO3-N*	+↑	0,004, t-Test	+↑	0,01, t-Test	-	cc=0,92 (p=0,0801) Pearson Maßkorrelation
NO2-N*	-	0,939, t-Test	-	0,486, U-Test	-	cc=0,589 (p=0,411) Pearson Maßkorrelation
N org.	-	0,713, t-Test	-	0,09, t-Test	-	cc=0,0776 (p=0,922) Pearson Maßkorrelation
P ges.	-	0,728, t-Test	-	0,486, U-Test	+	cc=0,973 (p=0,0271) Pearson Maßkorrelation R^2=0,947
Chlorid*	-	0,076, t-Test	+↑	0,029, U-Test	+	cc=0,991 (p=0,00883) Pearson Maßkorrelation R^2=0,982
Sulfat*	-	0,962, t-Test	-	0,878, t-Test	+	cc=0,991 (p=0,00874) Pearson Maßkorrelation R^2=0,983
Bromid	-	0,371, t-Test	-	0,086, t-Test	+	cc=0,993 (p=0,00667) Pearson Maßkorrelation R^2=0,987

Zusammenfassend ist der Einfluss der Einleitung gereinigten Abwassers in die Vorfluter aus physikalisch-chemischer Sicht insbesondere anhand der Parameter DOC, Nitrat, Phosphat, Chlorid, Sulfat und Bromid sowie der Temperatur messbar. Inwiefern dies zu einer Beeinträchtigung der Gewässerbiozönose führt, muss über biologische Qualitätskomponenten abgeschätzt werden (vgl. Kap. 5.3.3 bis 5.3.5).

5.3.2 Spurenstoffelimination

Die im Rahmen des Screenings aufgenommenen Daten zeigen, dass generell mit Blick auf die Spurenstoffe ein starker Einfluss der Kläranlagen auf die Wurm und den Haarbach vorzufinden ist. Im Haarbach werden vor Einleitung der Kläranlage Eilendorf kaum Spurenstoffe gefunden. Einzelne Substanzen aus unterschiedlichen Stoffgruppen (z. B. Flammschutzmittel, aber auch Pharmaka) deuten darauf hin, dass im Einzugsgebiet der Kläranlage Eilendorf Fehlanschlüsse häuslichen Abwassers vorliegen könnten. Der dennoch weitestgehend unbelastete Zustand des Haarbachs vor Kläranlageneinleitung ändert sich durch die Einleitung der Kläranlage Eilendorf, nach welcher kontinuierlich Spurenstoffe im Gewässer vorzufinden sind.

Die Wurm ist ebenfalls vor der Einmündung des Haarbachs gering belastet. Die Mündung des Haarbachs in die Wurm führt zu einer deutlichen Erhöhung der Spurenstoffkonzentration. Anschließend findet eine weitere Erhöhung der Spurenstoffbelastung in der Wurm infolge der Einleitung des Ablaufs der Kläranlage Aachen-Soers statt.

Durch die Kläranlage Aachen-Soers findet der maßgebliche Eintrag der gemessenen Spurenstoffe in die Wurm statt. Die maximale Konzentrationszunahme im Gewässer wird hierbei für das Antiepileptikum Carbamazepin beobachtet, welches nach Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers in die Wurm im Mittel in einer dreifach höheren Konzentration in der Wurm vorliegt. Vergleichbare Untersuchungen wurden von Kasprzyk-Hordern et al. (2009) und Aymerich et al. (2016) durchgeführt, die ebenfalls insbesondere für Carbamazepin eine deutliche Erhöhung im Vorfluter durch Kläranlageneinleitungen beobachteten. Ein Unterschied der Spurenstoffkonzentration an den Messstellen W2 (vor KA/vor RÜB) und W3 (vor KA/nach RÜB) konnte nicht festgestellt werden. Allerdings fand während des Beprobungszeitraums nur an einem Tag ein kleines Abschlagsereignis stattfand und somit war keine starke Beeinflussung der Abwasserqualität infolge des RÜBs zu erwarten. In Tabelle 25 sind die untersuchten Spurenstoffe in fünf Kategorien unterteilt. Es wird unterschieden zwischen den Substanzen,

1. die maßgeblich durch die Kläranlage eingeleitet werden (Zunahme der Spurenstoffkonzentration in der Wurm durch die Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers ≥ 100 %),
2. für die ein Einfluss der Kläranlageneinleitung erkennbar ist (Zunahme > 30 % bis < 100 %),
3. deren Konzentration durch die Kläranlageneinleitung nicht eindeutig beeinflusst wird (± 30 %),
4. für die eine Verdünnung festgestellt wird (Abnahme der Spurenstoffkonzentration > 30 %) und
5. die während der Screenings nicht in der Wurm nachgewiesen wurden.

Tabelle 25: Auswirkung der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers auf die Wurm nach Kategorie

Kategorie 1	Kategorie 2	Kategorie 3	Kategorie 4	Kategorie 5
Zunahme der Spurenstoff-konzentration >100 %	**Zunahme der Spurenstoff-konzentration >30 % - 100 %**	**Kein Einfluss der KA**	**Abnahme der Spurenstoff-konzentration >30%**	**nicht nachgewiesen**
Aminoantipyrin	Acesulfam	Gabapentin	N-Acetyl-Sulfamethoxazol	Diazepam
Benzotriazol	Atenolol	Metformin	Bisphenol A	Nonylphenol
Candesartan	Bisoprolol	Naproxen	Ibuprofen	Octylphenol
Carbamazepin	Methylbenzotria-zol	Tramadol		Cybutryn
Clarithromycin	Metoprolol	Valsartan		Phantolid (AHMI)
Diclofenac	Isoproturon	Diuron		Musk NN
Sotalol	Cashmeran (DPMI)	Terbutryn		DTPA
Sulfamethoxazol	Galaxolid (HHCB)	Celestolid		
Telmisartan	NTA	Traseolid (ATII)		
		Musk xylene		
		Musk abrette		
		Tonalid (AHTN)		
		Musk ketone		
		EDTA		

In Kategorie 1 befinden sich, mit Ausnahme von Benzotriazol, Pharmaka, die hauptsächlich über menschliche Ausscheidungen ins Abwasser gelangen und liegen in hohen Konzentrationen im Zulauf der Kläranlage vor. Die Spurenstoffe dieser Gruppe zeichnet eine moderate bis schlechte Abbaubarkeit in einer konventionellen Kläranlage aus. Im Gegensatz dazu wird beispielsweise die ubiquitär verbreitete und ebenfalls durch den menschlichen Gebrauch in den Wasserkreislauf gelangende Substanz Ibuprofen im Rahmen der biologischen Behandlung gut abgebaut (vgl. Aymerich et al. 2016; Rosal et al. 2010). Im Gewässer werden hier vor der Kläranlageneinleitung höhere Konzentrationen in der Wurm nachgewiesen als im Ablauf der Kläranlage. Dementsprechend nimmt die Konzentration von Ibuprofen durch die Kläranlageneinleitung Aachen-Soers in der Wurm ab. In Abbildung 46 sind für die verschiedenen Spurenstoffe die mittleren (arithmetisches Mittel) gemessenen Konzentrationen an der Stelle W5, nach Einleitung der Kläranlage, dargestellt. Die Whisker geben die maximalen und die minimalen gemessenen Werte an der Stelle W5 an. Abbildung 46 zeigt neben der gemessenen Konzentration der einzelnen Spurenstoffe (Summe aus blauem und orangem Balken), auch die Herkunft der Belastung an. Es fällt auf, dass bis auf wenige Substanzen, z. B. Ibuprofen, Valsartan, Bisphenol A und Tramadol, die Hauptbelastung eine Folge der Einleitung aus der Kläranlage Aachen-Soers ist. Dies zuvor aufgezählten Sub-

stanzen liegen dagegen bereits vor der Kläranlageneinleitung in einer nennenswerten Konzentration im Oberflächengewässer vor.

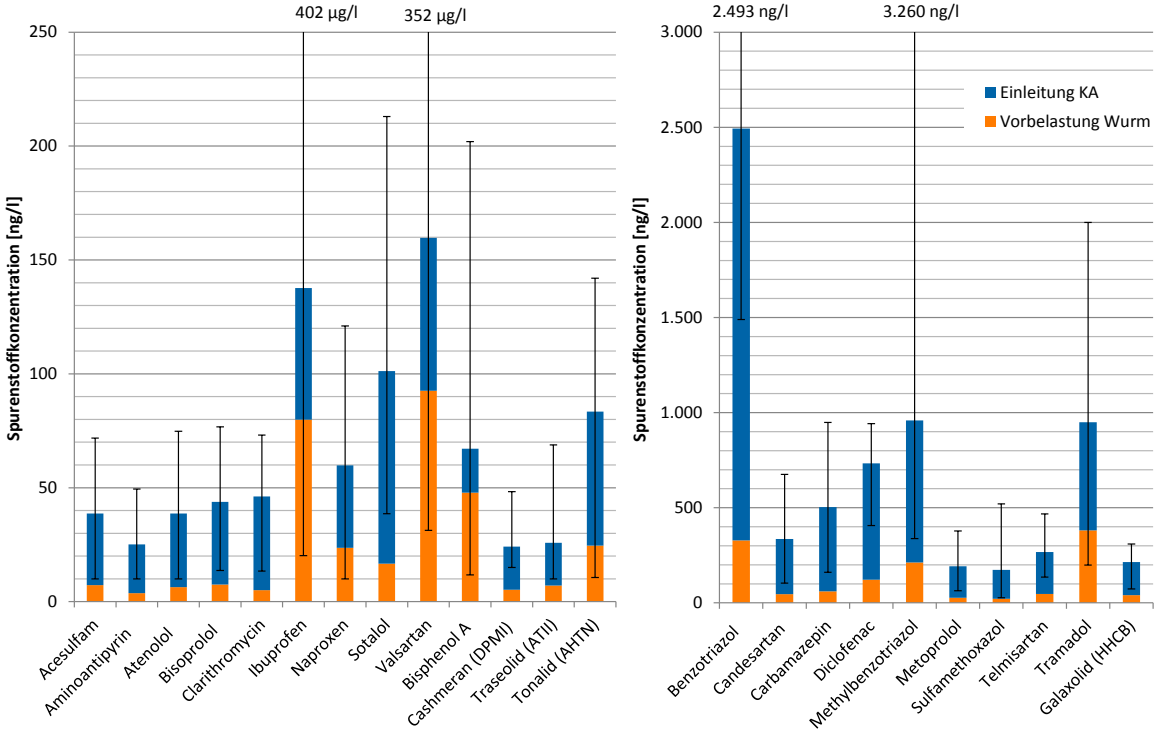

Abbildung 46: Spurenstoffkonzentrationen in der Wurm (W5) nach Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers und Zuordnung der Herkunft der Spurenstoffbelastung (n = 9; Datensatz Screening 2015–2016).

Der Vergleich der Messwerte der untersuchten Substanzen mit den vom Land NRW veröffentlichten Orientierungswerten in der Liste D4 im Anhang der Monitoring-Leitfäden für Oberflächengewässer (Flussgebiete NRW 2014) zeigt, dass Diclofenac sowohl vor als auch nach der Kläranlageneinleitung in die Wurm den empfohlenen Wert von 100 ng/l überschreitet. Des Weiteren werden die angegebenen Werte von Clarithromycin (20 ng/l) teilweise und von Ibuprofen (10 ng/l) regelmäßig in der Wurm sowohl vor der Einleitung als auch nach der Einleitung der Kläranlage überschritten. Im Fall von Naproxen (empfohlener Wert nach D4 Liste: 100 ng/l) und Bisphenol A (100 ng/l) wurde dagegen nur in einem einzelnen Fall eine Überschreitung festgestellt. Carbamazepin weist im Anschluss an die Kläranlageneinleitung Werte in der Wurm auf, die über dem empfohlenen Wert nach D4 Liste von 500 ng/l liegen, ebenso wie Sotalol (100 ng/l) und Sulfamethoxazol (150 ng/l). Alle anderen untersuchten Substanzen werden in der Wurm auch nach Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers in Konzentrationen unterhalb der Orientierungswerte gefunden.

Die Quelle der bereits genannten Vorbelastung der Wurm wurde in Phase 1b untersucht. Hierzu wurde zusätzlich die Relevanz der Kläranlage Eilendorf, die in den Haarbach einleitet und der Einfluss des Haarbachs, eines Seitenflusses der Wurm, auf die Wurm untersucht. In Abbildung 47 ist analog zu Abbildung 46 die Spurenstoffkonzentration im Haarbach nach Einleitung der Kläranlage

Eilendorf aufgetragen sowie die Herkunft der Belastung berechnet. Insgesamt ist der Haarbach vor Einleitung der Kläranlage Eilendorf weitestgehend unbelastet. Auffällig ist, dass bereits vor Einleitung der Kläranlage unter anderem die Substanzen Ibuprofen, Acesulfam, Naproxen, Bisphenol A, Benzotriazol und Galaxolid im Oberflächengewässer nachgewiesen werden können. Diese Einleitungen sind vermutlich auf Fehlanschlüsse im Einzugsgebiet zurückzuführen. Nach Einleitung der Kläranlage steigt die Spurenstoffkonzentration im Haarbach stark an.

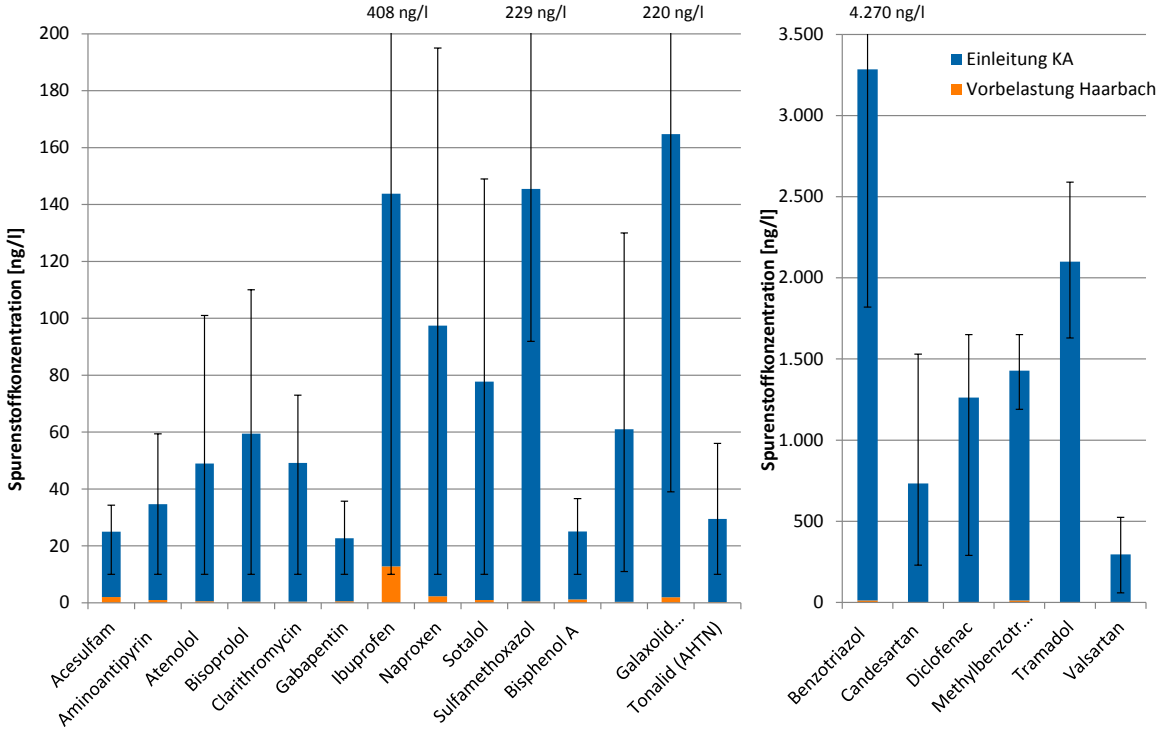

Abbildung 47: Spurenstoffkonzentrationen im Haarbach (H2) nach Einleitung der Kläranlage Eilendorf und Zuordnung der Herkunft der Spurenstoffbelastung (n = 4; Datensatz Screening 2017).

Der Haarbach mündet in die Wurm, die vor Einleitung des Haarbachs ebenfalls größtenteils unbelastet ist. Um den Einfluss der einzelnen Kläranlagen auf die Wurm zu quantifizieren, wurden die Frachten der im gesamten Gebiet parallel gemessenen Spurenstoffe berechnet und so der prozentuale Einfluss der einzelnen Quellen auf die Gesamtbelastung der Wurm berechnet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 48 dargestellt. Es wird hinsichtlich der Vorbelastungen aus der Wurm (W1), dem Haarbach (H1), der Einleitungen durch die Kläranlagen Eilendorf und Aachen-Soers unterschieden.

Zur Darstellung der Herkunft der Spurenstoffe wurden die Frachten bestimmt, die an den Probenahmestellen W2 und W3 (vor der Kläranlageneinleitung) in der Wurm vorliegen sowie die Frachten, die aus der Kläranlage in die Wurm eingetragen wird. Mit Hilfe dieser Werte wurde der prozentuale Anteil berechnet, der die Herkunft der Spurenstoffbelastung angibt.

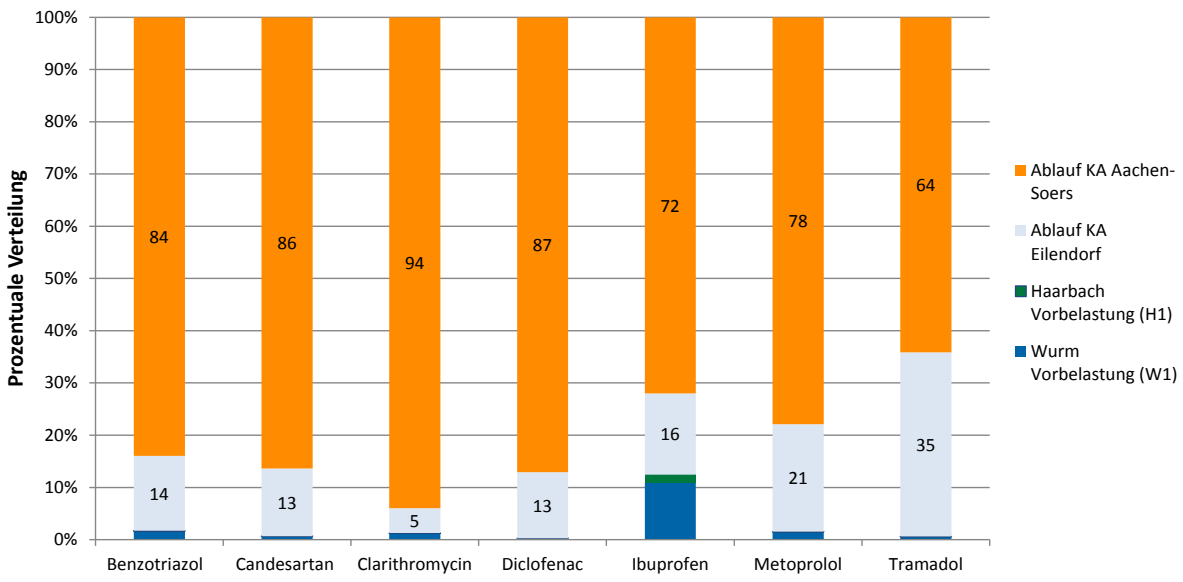

Abbildung 48: Einfluss der Kläranlagen auf die Spurenstoffbelastung in der Wurm an der Probenahmestelle W5 (n = 4; Datensatz Screening 2017).

Generell ist die Kläranlage Aachen-Soers mit 64–94 % der Haupteintragspfad der Spurenstoffe in die Wurm an diesem Flussabschnitt. Tramadol wird darüber hinaus zu einem relativ hohen Anteil (35 %) durch die Kläranlage Eilendorf und entsprechend über den Haarbach in die Wurm eingeleitet. Für Ibuprofen wird bereits sowohl oberhalb der Kläranlage Eilendorf als auch oberhalb der Einleitung des Haarbachs in die Wurm eine Grundbelastung vorgefunden (11 %). Die übrigen untersuchten Spurenstoffe werden maßgeblich durch die beiden untersuchten Kläranlagen in die Gewässer eingetragen. Statistisch werden diese Aussagen anhand einer univariaten Datenanalyse untermauert. Tabelle 26 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse zur Signifikanz der festgestellten Veränderungen ausgewählter Spurenstoffkonzentrationen in der Wurm infolge der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers. Elf der 20 ausgewerteten Spurenstoffe, wie z. B. Aminoantipyrin, Carbamazepin, Diclofenac, Sotalol, Sulfamethoxazol und Telmisartan zeigen eine signifikante Erhöhung in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers. Für 80 % der Spurenstoffe korreliert die Konzentration an der Stelle W5 signifikant mit der Konzentration im Ablauf der Kläranlage. Dies bestätigt statistisch den starken Einfluss der Kläranlage Aachen Soers auf die Wurm.

Tabelle 26: Univariate statistische Auswertung ausgewählter Spurenstoffe für die Wurm unter Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: sign. erhöht/ ↓: sign. verringert an W5 gegenüber W2/W3; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Wurm uh vs. oh KA W5 vs. W2/W3		Korrelation/Regression W5 vs. AF	
	Sign.	p, Methode	Sign.	Koeffizient (cc), p, Methode, R^2
Acesulfam	-	0,571/0,509 U-Test	-	cc=0,584 (p=0,0874) Spearman Rangkorrelation
Aminoantipyrin	+↑	0,014/0,046 U-Test	+	cc=0,818 (p=0,00393) Spearman Rangkorrelation
Atenolol	-	0,157/0,133 U-Test	+	cc=0,883 (p<0,001) Spearman Rangkorrelation
Benzotriazol	+↑	0,006/<0,001 U-Test	+	cc=0,547 (p=0,049) Spearman Rangkorrelation
Bisoprolol	-/+↑	0,068/0,009 t-Test	+	cc=0,828 (p=0,00585) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,686
Candesartan	+↑	0,013/0,003 t-Test	+	cc=0,86 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,74
Carbamazepin	+↑	<0,001/0,001 t-Test	+	cc=0,890 (p=0,0013) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,792
Clarithromycin	+↑	0,01/0,006 t-Test	+	cc=0,802 (p<0,001) Spearman Rangkorrelation
Diclofenac	+↑	0,001/<0,001 t-Test	+	cc=0,59 (p=0,0339) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,348
Gabapentin	-	1,00/1,00 U-Test	+	cc=1,00 (p<0,001) Spearman Rangkorrelation
Ibuprofen	-	0,317/0,397 U-Test	-	cc=0,308 (p=0,295) Spearman Rangkorrelation
Methylbenzotriazol	-	0,216/0,112 U-Test	+	cc=0,717 (p=0,0248) Spearman Rangkorrelation
Metoprolol	+↑	0,043/0,008 U-Test	+	cc=0,575 (p=0,0369) Spearman Rangkorrelation
Naproxen	-	0,964/1,00 U-Test	-	cc=-0,104 (p=0,79) Pearson Maßkorrelation
Sotalol	+↑	0,007/0,01 t-Test	+	cc=0,934 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,873
Sulfamethoxazol	+↑	0,034/0,042 U-Test	+	cc=0,9 (p<0,001) Spearman Rangkorrelation
Telmisartan	+↑	0,006/0,005 t-Test	+	cc=0,896 (p=0,00109) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,802
Tramadol	-	0,837/0,538 U-Test	+	cc=0,83 (p<0,001) Spearman Rangkorrelation
Valsartan	-	1,00/0,427 U-Test	-	cc=0,109 (p=0,742) Spearman Rangkorrelation
Galaxolid	-	0,2/0,157 t-Test	+	cc=0,944 (p=0,0046) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,891

Des Weiteren wurde der Einfluss des Haarbachs auf die Wurm (Vergleich W1 und W2) und der Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf den Haarbach (Vergleich H1 und H2) in Bezug auf relevante Vertreter der Spurenstoffe (überwiegend Pharmaka und Industrie-/Haushaltschemikalien) analog statistisch untersucht. Zudem wurde überprüft, inwiefern die Konzentrationen der entsprechenden Spurenstoffe im Haarbach unterhalb der Kläranlage (H2) mit denen oberhalb der Kläranlage

signifikant korrelieren. Die Konzentration von elf der ausgewerteten 24 Spurenstoffe ist an der Stelle H2 signifikant erhöht, was den starken Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf den Haarbach statistisch bestätigt. Fünf dieser Substanzen liegen nach der Einleitung der Kläranlage Eilendorf in so hohen Konzentrationen in der Wurm vor, dass sie auch nach Einleitung des Haarbachs in die Wurm zu einem signifikanten Anstieg der Konzentration in der Wurm führen (Benzotriazol, Candesartan, Diclofenac, Metoprolol und Tramadol). Für die Konzentrationen der untersuchten Flammschutzmittel wurde keine signifikante Zunahme im Haarbach beobachtet. Weitere fünf Pharmaka (Acesulfam, Atenolol, Benzotriazol, Metoprolol und Sulfamethoxazol) zeigten eine statistisch bestätigte Korrelation zwischen der Konzentration der Kläranlageneinleitung Eilendorf und der Konzentration an der Stelle H2. Insgesamt zeigte sich trotz des deutlich kleineren Datensatzes (n = 4) ein maßgeblicher Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf die Spurenstoffbelastung des Haarbachs und daraus folgend der Wurm (Tabelle 27).

Tabelle 27: Univariate statistische Auswertung ausgewählter Spurenstoffe für Haarbach und Wurm unter Einfluss der KA Eilendorf (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: sign. erhöht/ ↓: sign. verringert an H2 gegenüber H1; p: Wahrscheinlichkeit; n. d. nicht dargestellt, da keine Daten vorliegen).

Parameter	Haarbach uh vs. oh KA-E; H2 vs. H1		Wurm uh vs. oh KA-E; W2 vs. W1		Korrelation/Regression H2 vs. AKA-E	
	Sign.	p, Methode	Sign.	p, Methode	Sign.	Koeffizient (cc), p, Methode, R^2
Acesulfam	-	0,255, t-Test	n. d.		+	cc=0,974 (p=0,0265) Pearson Maßkorrelation,R^2= 0,948
Amino-atipyrin	-	0,114, U-Test	n. d.		-	cc=0,0517 (p=0,948) Pearson Maßkorrelation
Atenolol	-	0,114, U-Test	n. d.		+	cc=1,00 (p<0,001) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,999
Benzo-triazol	+↑	0,029, U-Test	+↑	0,025, t-Test	+	cc=0,976 (p=0,024) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,953
Bisoprolol	-	0,114, U-Test	n. d.		-	cc=0,797 (p=0,203) Pearson Maßkorrelation
Candesar-tan	+↑	0,029, U-Test	+↑	0,036, t-Test	-	cc=0,859 (p=0,141) Pearson Maßkorrelation
Carbama-zepin	+↑	0,029, U-Test	n. d.		-	cc=0,764 (p=0,236) Pearson Maßkorrelation
Clarithro-mycin	-	0,114, U-Test	-	0,114, U-Test	-	cc=-0,143 (p=0,857) Pearson Maßkorrelation
Diclofenac	+↑	0,029, U-Test	+↑	0,029, U-Test	-	cc=0,8 (p=0,333) Spearman Rangkorrelation
Gabapentin	-	0,343, U-Test	n. d.		-	cc=1,0 (p=0,0833) Spearman Rangkorrelation
Ibuprofen	-	0,886, U-Test	-	0,533, t-Test	-	cc=0,4 (p=0,75) Spearman Rangkorrelation
Methylben-benzotriazol	+↑	<0,001, t-Test	n. d.		-	cc=0,25 (p=0,75) Pearson Maßkorrelation
Metoprolol	+↑	0,029, U-Test	+↑	0,029, U-Test	+	cc=0,984 (p=0,0156) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,969
Naproxen	-	0,121, t-Test	n. d.		-	cc=0,8 (p=0,333) Spearman Rangkorrelation
Sotalol	-	0,114, U-Test	n. d.		-	cc=0,208 (p=0,792) Pearson Maßkorrelation
Sulfame-thoxazol	+↑	0,029, U-Test	n. d.		+	cc=0,991 (p=0,00899) Pearson Maßkorrelation, R^2=0,982
Telmisartan	+↑	0,029, U-Test	n. d.		-	0,904 (p=0,0955) Pearson Maßkorrelation
Tramadol	+↑	0,029, U-Test	+↑	0,029, U-Test	-	0,886 (p=0,114) Pearson Maßkorrelation
Valsartan	+↑	0,029, U-Test	n. d.		-	cc=0,949 (p=0,0513) Pearson Maßkorrelation
Galaxolid	+↑	0,02, t-Test	n. d.		-	cc=0,4 (p=0,75) Spearman Rangkorrelation
TCPP	-	0,25, t-Test	n. d.		-	0,178 (p=0,822) Pearson Maßkorrelation
TCEP	-	0,65, t-Test	n. d.		-	cc=-0,906 (p=0,0944) Pearson Maßkorrelation
TBEP	-	0,283, t-Test	n. d.		-	cc=-0,0961 (p=0,904) Pearson Maßkorrelation
TDCPP	-	0,899, t-Test	n. d.		-	0,653 (p=0,347) Pearson Maßkorrelation

Pflanzenschutzmittel (PSM) gehören – anders als beispielsweise Pharmaka – nicht zu den regelmäßig messbaren Vertretern der Spurenstoffe; sie wurden nicht kontinuierlich in der Wurm und im Haarbach gefunden. Von Juli bis Oktober 2015 wurde keines der vier untersuchten Pflanzenschutzmittel (Cybutryn, Diuron, Isoproturon, Terbutryn) in der Wurm nachgewiesen. Daher wurden die Gewässerproben erst im Frühjahr 2016, zur Haupteinsatzzeit, wieder auf PSM analysiert sowie während des Screenings des Haarbachs und der Kläranlage Eilendorf 2017. Generell liegen diese Substanzen in vergleichsweise sehr geringen Konzentrationen vor. Vor Einleitung der Kläranlage Eilendorf werden im Haarbach, mit Ausnahme von Terbutryn, keine PSM gefunden. Unterhalb Kläranlage Eilendorf (H2) wurden PSM immer dann nachgewiesen, wenn diese auch im Ablauf der Kläranlage Eilendorf vorlagen. Auch in der Wurm und der Kläranlage Aachen-Soers konnten im Frühjahr 2016 PSM gefunden werden. Eine Aussage über eine mögliche Zuordnung der Quellen, also Kläranlage oder diffuse Quellen, wie z. B. Abschwemmungen aus der Landwirtschaft, kann jedoch nicht gemacht werden.

Im Rahmen der neun Probenahmetage (Phase 1a, 2015–2016) wurde der Einfluss des Niederschlags auf die Spurenstoffkonzentration in der Wurm untersucht. Es konnte kein Einfluss durch Niederschlag auf die Spurenstoffkonzentration vor der Kläranlageneinleitung (W2 und W3), z. B. in Form einer Verdünnung, nachgewiesen werden. Im Allgemeinen war jedoch der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Spurenstoffkonzentration in der Wurm an Tagen, welche als Regenwettertage eingestuft wurden, weniger ausgeprägt als an Trockenwettertagen. Dies ist auf die Spurenstoffkonzentration im Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers zurückzuführen, welche infolge größerer Abwasservolumenströme an Regenwettertagen für den Großteil der Substanzen geringer ist als an Trockenwettertagen.

Der Einfluss der Kläranlagenabläufe auf die Wurm wurde zusätzlich zu den univariaten Analysen auch multivariat (als PCAs) untersucht. Die multivariate statistische Analyse wurde für die Standardparameter und die Spurenstoffe gemeinsam durchgeführt, um darzustellen, welche Parameter einen maßgeblichen Beitrag zur Gewässerbelastung leisten. Der Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers wird durch die Probestellen W2 und W3 (oberhalb der Kläranlage), der Stelle W5 (unterhalb der Kläranlage) sowie der Kläranlagenproben AF und ANK in dieser multivariaten Analyse abgebildet. Für den Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf das Gewässer wurden die Stellen oberhalb (H1) und unterhalb der Kläranlage (H2) im Haarbach sowie der Ablauf der Kläranlage Eilendorf (AKA-E) berücksichtigt. Zusätzlich wurde der Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf die Wurm durch Integration der Probenahmestellen oberhalb (W1) und unterhalb der Einleitung des Haarbachs (W2) untersucht.

Für die statistische Analyse ist es relevant, dass alle Daten mit der gleichen Anzahl vorliegen. Da nicht alle Analytikparameter durchgängig in allen Screenings gemessen wurden, war diese Anforderung durch die Datengrundlage für die multivariate statistische Analyse nicht gegeben. Daher wurden zunächst nur zur Evaluierung des Einflusses der Kläranlage Aachen-Soers die Hauptkom-

ponentenanalysen (PCA) auf Basis von drei verschiedenen Datensätzen durchgeführt: 1. Datensatz mit möglichst vielen Parametern (beinhaltet fünf bis sechs Termine aus Phase 1a); 2. Datensatz für alle Termine (n = 10) aus Phase 1a (nur für Parameter, die entsprechend häufig gemessen wurden) und 3. Datensatz für alle Termine aus Phase 1a und 1b (n = 13, sieben Spurenstoffe (Indikatorparameter) und Standardparameter).

Alle drei PCA auf Basis der Analytikdaten für die Kläranlage Aachen-Soers zeigen, dass die Proben der Kläranlagenabläufe AF und ANK (orange und gelbe Symbole) eine ähnliche Zusammensetzung aufweisen und sich deutlich von den Gewässerproben in der Wurm (grüne und cyanfarbene Symbole) abgrenzen. Insgesamt sind die Gewässerproben der Stellen W2 und W3 untereinander sehr ähnlich (beides grüne Symbole) und die Proben der Stelle W5 unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers (cyanfarbene Symbole) liegen zwischen den Gewässerproben oberhalb der Kläranlage und den Kläranalgenabläufen. Die Auftrennung in diese drei Gruppen wird mit zunehmender Anzahl an integrierten Probenahmetagen noch deutlicher (vgl. Abbildung 49, Abbildung 50 und Abbildung 51). Die in den Abbildung verwendeten Abkürzungen sind in Tabelle 51 erläutert.

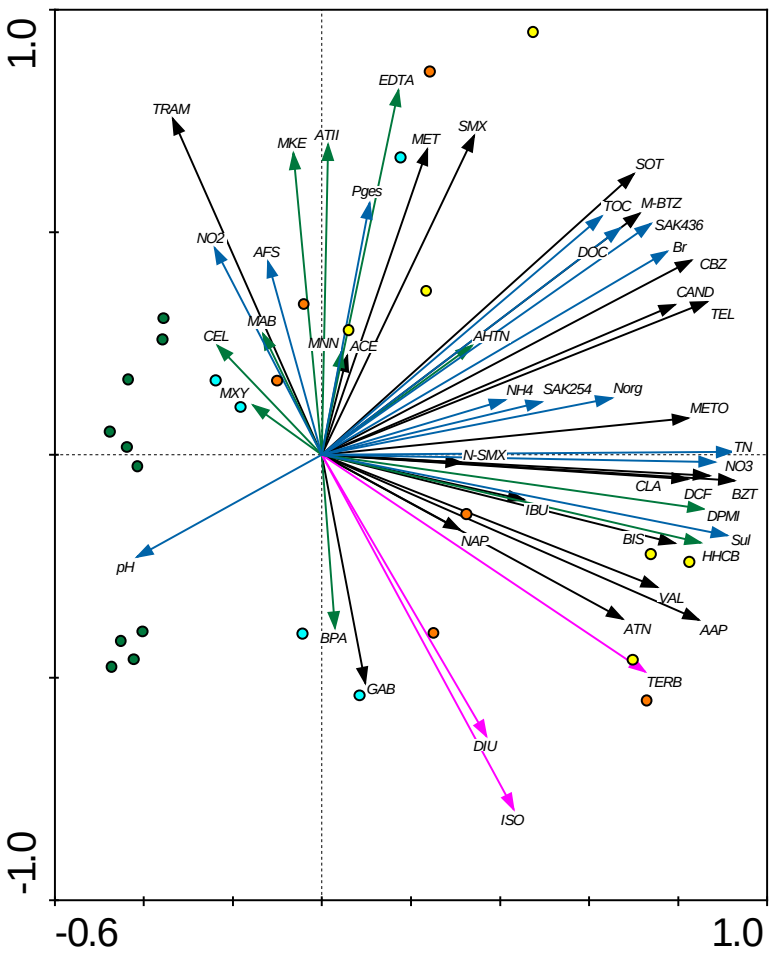

Abbildung 49: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile), den Pflanzenschutzmitteln (pinke Pfeile) und weiteren Spurenstoffen (grüne Pfeile) (5 < n < 6, ausgewählte Screenings mit max. Parameterzahl aus Phase 1a). Eigenwert Achse 1: 0,374, Achse 2: 0,194. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 56,9 %.

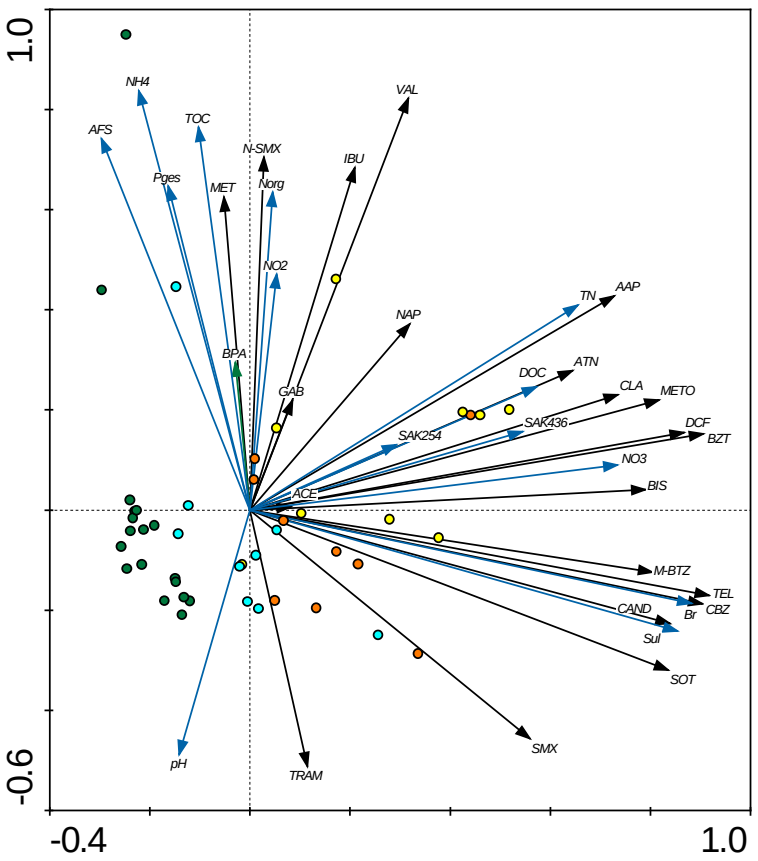

Abbildung 50: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile), den Pharmaka (schwarze Pfeile) und Bisphenol A (grüner Pfeil) (n = 9 Termine aus Phase 1a). Eigenwert Achse 1: 0,391, Achse 2: 0,174. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 56,4 %.

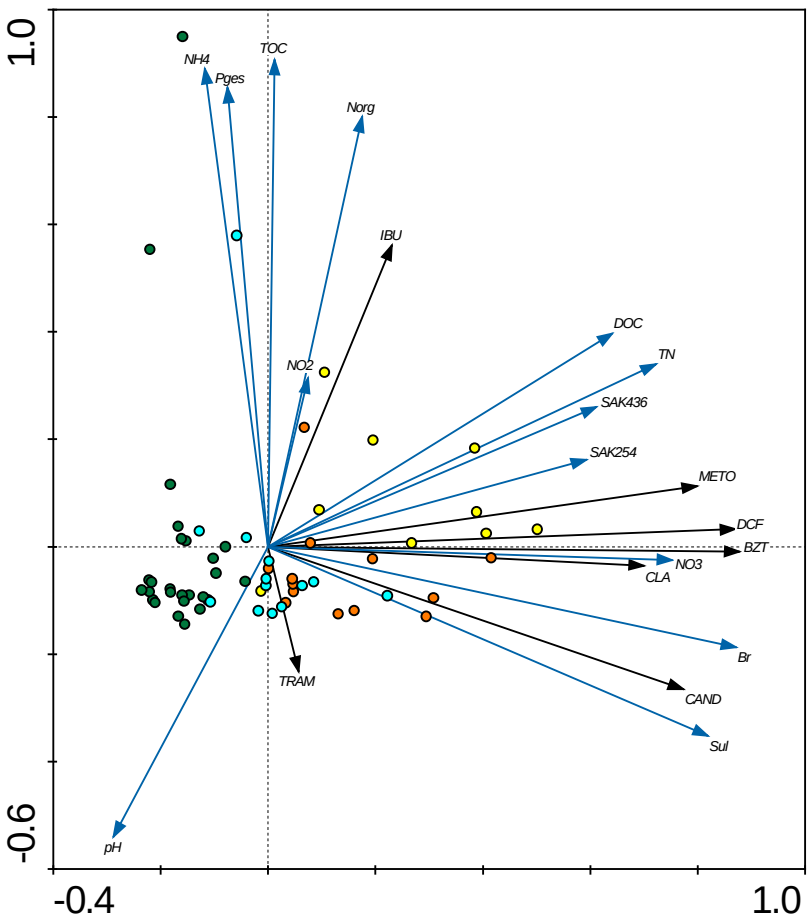

Abbildung 51: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA, grün; unterhalb KA, cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (Ablauf Filter, orange; Ablauf Nachklärung, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu Standardparametern (blaue Pfeile) und ausgewählten Pharmaka (schwarze Pfeile) (n = 13 Termine aus Phase 1a und 1b. Eigenwert Achse 1: 0,401, Achse 2: 0,184. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 58,6 %.

Die Gruppenbildung der Probenahmestelle (also der Punkte) wurde durch die Analytikparameter bewirkt, deren Pfeile annähernd parallel zur x-Achse verlaufen. Dies sind zum einen die Spurenstoffe Benzotriazol (BZT), Diclofenac (DCF), Clarithromycin (CLA), Metoprolol (METO), Candesartan (CAND), Methylbenzotriazol (M-BTZ), Telmisartan (TEL) und Carbamazepin (CBZ), zum anderen die Standardparameter Nitrat (NO3), aber auch Bromid (Br), Sulfat (Sul), DOC und Gesamtstickstoff (TN). Die Konzentration dieser Parameter liegt in den Kläranlagenprobestellen ANK und AF, aber auch in den Gewässerproben unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers gegenüber den Gewässerproben oberhalb der Kläranlage erhöht. Die drei Pflanzenschutzmittel Diuron (DIU), Isoproturon (ISOP) und Terbutryn (TERB), die im Screening der Phase 1a untersucht wurden (Abbildung 49), setzten sich von den meisten Pharmaka und Haushaltschemikalien ab und sind auch in den Gewässerproben oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers nachgewiesen worden. Die Pfeile dieser Substanzen verlaufen vom Ursprung nach rechts unten und liegen alle drei eng zusammen (Abbildung 49), das heißt sie zeigen ein ähnliches Muster in den einzelnen Proben. Die multivariate Analyse zeigt, dass die Kläranlage Aachen-Soers die Konzentrationen der Spurenstof-

fe, insbesondere der Pharmaka, in der Wurm unterhalb der Kläranlage maßgeblich beeinflusst (Abbildung 49, Abbildung 50 und Abbildung 51).

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Daten aus Haarbach und Wurm sowie dem Ablauf der Kläranlage Eilendorf zeigt, dass sich die Probestellen oberhalb der Kläranlage Eilendorf im Haarbach (H1, blaue Symbole) und in der Wurm (W1, graue Symbole) deutlich von den Ablaufproben der Kläranlage (gelbe Symbole) sowie der Probestelle im Haarbach unterhalb der Kläranlageneinleitung (H2, pinke Symbole) abgrenzen (vgl. Abbildung 52). Die Probestelle in der Wurm unterhalb des Zuflusses des Haarbachs (W2, grüne Symbole) liegt intermediär zwischen den Stellen oberhalb der Kläranlageneinleitung (H1, W1) und dem Haarbach unterhalb der Kläranlageneinleitung (H2) bzw. dem Kläranlagenablauf (AKA-E). Verantwortlich für diese Aufspaltung sind vor allem die Pharmaka Metoprolol (METO), Diclofenac (DCF), Candesartan (CAND), Clarithromycin (CLA) und Tramadol (TRAM), die Industrie- und Haushaltschemikalie Benzotriazol (BZT) sowie die Standardparameter Nitrat (NO3), Gesamtstickstoff (TN) und N_{org} (vgl. Abbildung 52). Diese Parameter sind im Ablauf der Kläranlage Eilendorf, aber auch in den Gewässerproben unterhalb der Kläranlage gegenüber den Gewässerproben oberhalb der Kläranlage erhöht. Die multivariate Analyse zeigt, dass die Kläranlage Eilendorf die Konzentrationen der gemessenen Pharmaka im Haarbach und in der Wurm unterhalb der Kläranlage maßgeblich beeinflusst (vgl. Abbildung 52; Erklärung der Abkürzungen in Tabelle 51).

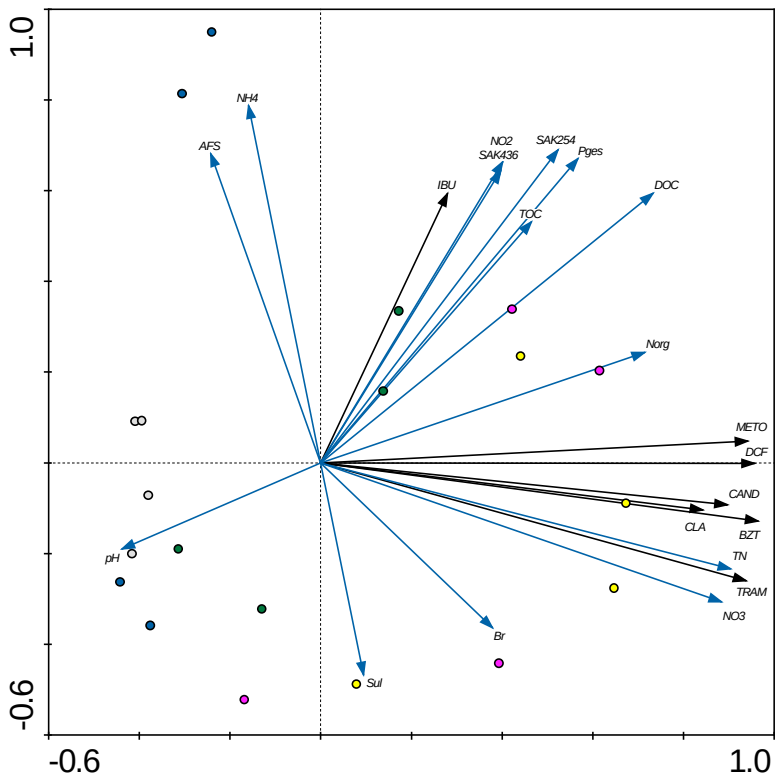

Abbildung 52: PCA der Probestellen im Haarbach (oberhalb KA, blau; unterhalb KA, pink) und in der Wurm (oberhalb KA, grau; unterhalb KA, grün) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Eilendorf (AKA-E, gelb) auf Basis der Analytikdaten zu den Standardparametern (blaue Pfeile) und allen gemessenen Pharmaka (schwarze Pfeile) (n = 4, Screenings Phase 1b). Eigenwert Achse 1: 0,576, Achse 2: 0,167. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 74,3 %.

5.3.3 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität

In Bezug auf den Einfluss, den die Kläranlageneinleitungen der Aachener Soers und der Kläranlage Eilendorf auf ihre jeweiligen Vorfluter haben (Wurm bzw. Haarbach), wurden neben der chemischen Analytik auch ökotoxikologische sowie mechanismusspezifische Toxizitätstests durchgeführt, wobei die akute und chronische Toxizität, das embryotoxische und teratogene sowie das endokrine Potenzial untersucht wurden. Darüber hinaus wurden die Proben auf Mutagenität bzw. Gentoxizität getestet.

Zu den bereits beschriebenen *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen der Kläranlagenproben (vgl. Kap. 5.1) wurden mehrere *in situ*-Testverfahren durchgeführt. Diese Untersuchungen wurden mit dem Bachflohkrebs (*Gammarus pulex*; Fraßtest und interne Chemikalienkonzentration), der Zwergdeckelschnecke (*Potamopyrgus antipodarum*; Reproduktionstest) sowie mit Forellen (*Oncorhynchus mykiss*; Vitellogeninmessung und Nachweis von Mikrokernen) durchgeführt. Zur umfassenden Untersuchung weiterer Eintragsquellen wurden außerdem Sedimentproben aus der Wurm und dem Haarbach entnommen und analysiert. Sedimente besitzen aufgrund ihrer organischen und anorganischen Eigenschaften eine große Anzahl an Bindungsstellen für Schadstoffe

(Gerbersdorf et al. 2009; Hollert et al. 2003). Dadurch können sie sowohl als Senke als auch als Quelle für Schadstoffe fungieren (Brinkmann et al. 2010). In den Sedimenten wurden, wie in den Gewässeruntersuchungen auch, die Embryotoxizität und Teratogenität (Fischembryo-Toxizitätstest (FET)) der extrahierten Sedimentproben, der gefriergetrockneten und nativen Sedimente (Sedimentkontakttest (SKT)) sowie das endokrine (L-Yes Assay und ERα CALUX® Assay, H295R Steroidgenese Assay) und das mutagene (Ames-Fluktuation Assay) Potenzial analysiert.

Akute und chronische Toxizität

Die Ergebnisse der Testsysteme der Daphnien, Algen und Leuchtbakterien als Tests für akute bzw. chronische Toxizität sind zusammenfassend einheitlich in Tabelle 28 aufgeführt. Auf die Darstellung der Kontrollen wurde verzichtet, da diese als Validitätskriterium eingehalten werden müssen und nicht valide Datensätze nicht zur Auswertung herangezogen werden.

Tabelle 28: Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen von Daphnien, Algen und Leuchtbakterien des Einflusses der Kläranlage Aachen-Soers auf den Vorfluter.

Stelle	Daphnien				Algen				Leuchtbakterien				Leuchtbakterien WHT*			
Screening	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**
W2	G1	G1	G1	G1	G1	G2	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
W3	G1	G1	G1	G1	G1	G4	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1
W5	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1	G1

* WHT = Wachstumshemmtest

Für den Algen-Wachstumshemmtest wurde im Gewässer, an den Stellen W2 und W3, beim zweiten Screening (1-2) eine algentoxische Wirkung mit G_A 2, bzw. G_A 4 festgestellt. Die Hemmung lag bei 9,41 %, bzw. 6,65 % bei der Verdünnungsstufe G_A 1. Möglicherweise ist hier ein leichter Einfluss des zu der Zeit vorherrschenden Regenwetterereignisses erkennbar. Für alle anderen Proben konnte dagegen kein Effekt gefunden werden. Bei näherer Betrachtung der Probenahmestellen im Gewässer nach Kläranlageneinleitung (W5) wird deutlich, dass die Kläranlage keinen Einfluss auf die toxische Wirkung des Gewässers in Bezug auf Algen ausübt. Die Ergebnisse des Algen-Wachstumshemmtests sind in Abbildung 53 dargestellt. Ab einer Hemmung von 5 % (rote Linie) liegt eine algentoxische Wirkung vor. Aufgetragen sind die G_A 1 Werte (Probenvolumenanteil 80 %). Eine negative Hemmung entspricht einer Förderung des Algenwachstums, die wiederum auf die hohe Verfügbarkeit von Nährstoffen im Abwasser zurückzuführen ist.

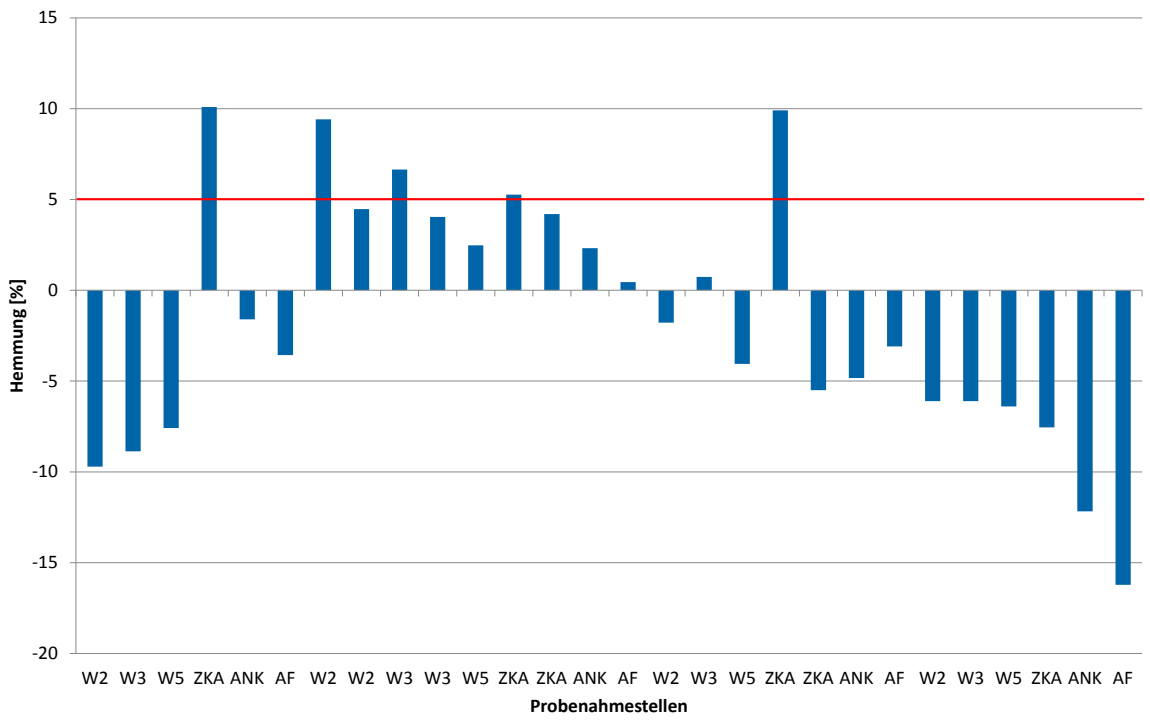

Abbildung 53: Algen-Wachstumshemmtest als Hemmung bzw. Förderung. Die Hemmung der Wachstumsrate ist bezogen auf Kontrollen nach 72 h Exposition.

Im Daphnien-Immobilisationstest konnten während der gesamten Screenings keine daphnientoxische Effekte in den Gewässerproben nachgewiesen werden. Das gleiche gilt für den Leuchtbakterientest; auch hier konnten weder akute noch chronische toxische Effekte nachgewiesen werden. Da keine Effekte nachgewiesen werden konnten (abgesehen vom Zulauf der Kläranlage Aachen-Soers), wurde an dieser Stelle auf eine graphische Darstellung verzichtet.

Zusammenfassend zeigen die Tests, dass das Wasser der Wurm sowohl vor als auch nach der Kläranlage für die getesteten Modellorganismen in der Regel zu keinem Effekt bei den Toxizitätstests führte. Wetterereignisse können ggf. negative Auswirkungen auf die Qualität des Wassers haben, wie die Ergebnisse des Screenings 1-2 andeuten. Die Algen scheinen somit als sensitivster Organismus in der getesteten Biotestbatterie zur akuten und chronischen Toxizität zu reagieren.

Embryotoxisches und teratogenes Potenzial

Zur Untersuchung des embryotoxischen und teratogenen Potenzials wurden sowohl in Phase 1a (W2, W3 und W5) als auch Phase 1b (H1, H2, W1, W2, W3 und W5) Proben in der Wurm und dem Haarbach entnommen.

Ergebnisse des FET-Tests zeigten in keiner der Wurm- und Haarbachproben ein embryotoxisches oder teratogenes Potenzial. Das Ergebnis geht mit den Untersuchungen des Ablaufs der Kläranlage Aachen-Soers einher (vgl. Kap. 5.1). Auch hier konnte in keiner der Screenings ein embryotoxisches und teratogenes Potenzial gefunden werden.

Bei der Untersuchung der Sedimente zeigte sich, dass die Extrakte der Probenahmestellen W1, W2 und H2 subletale Effekte der Embryonen aufwiesen. Zu diesen zählten vor allem Effekte, die das Blut-Kreislaufsystem betreffen, wie Ödeme am Dottersack und Herzen, verlangsamter Herzschlag, teilweise fehlender Blutkreislauf (Abbildung 54).

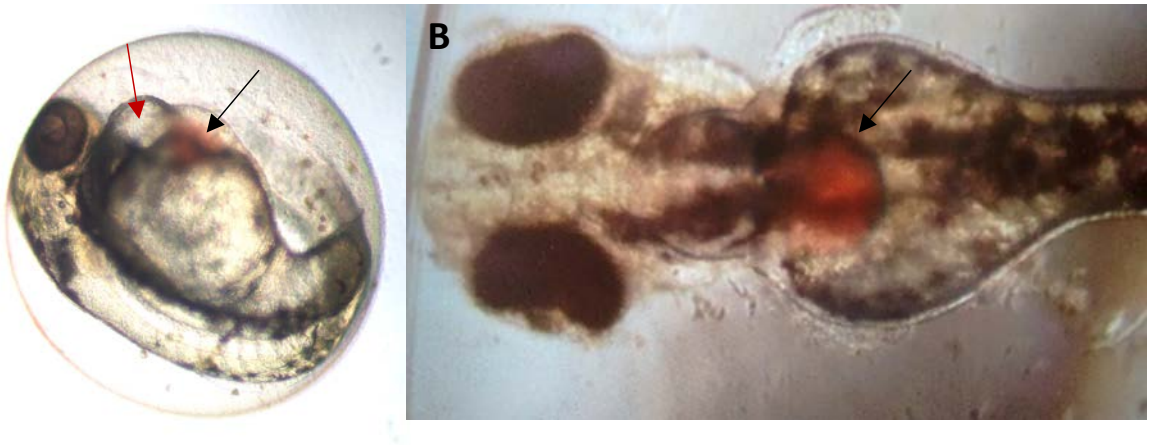

Abbildung 54: Fischembryo-Toxizitätstest mit *Danio rerio* Embryonen nach Belastung mit Sedimentextrakten. A: 48 Stunden alter Embryo mit Ödeme am Perikard (roter Pfeil) und Blutstau am Herzen (schwarzer Pfeil). B: Geschlüpfter Embryo nach 96 Stunden mit Blutstau (schwarzer Pfeil).

Das stärkste embryotoxische Potenzial zeigte dabei die Stelle W2 mit einem EC-50-Wert von 7,2 mg SEQ/ml gefolgt von der H2 mit 14,6 mg SEQ/ml und W1 mit 17,8 mg SEQ/ml.

Die erhaltenen EC50-Werte sind vergleichbar mit aus der Literatur bekannten Sedimentextrakten: so zeigten Kais et al. (2017), dass die Sedimente aus dem Rhein, Ehrenbreitstein und Altrip, ein embryotoxisches und teratogenes Potenzial mit EC50-Werten zwischen 9,2 mg SEQ/ml und 11 mg SEQ/ml aufwiesen. Bei diesen Sedimenten handelt es sich um Referenzsedimente der Bundesanstalt für Gewässerkunde, welche als moderate belastete Sedimente klassifiziert sind. Ebenfalls konnte in den Untersuchungen der Rheinsedimente ähnliche subletale Effekte nachgewiesen werden wie in den Untersuchungen der Wurmsedimente. Diese Effekte werden in der Literatur mit dem Syndrom blue-sac disease beschrieben (Barron et al. 2004). Diese Erkrankung wird vorwiegend durch Stoffe der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) ausgelöst (Barron et al. 2004; Kais et al. 2017; Olivares et al. 2013; Schiwy et al. 2015). PAK entstehen durch Verbrennungsprozesse und können durch atmosphärische Deposition oder durch industrielle Punktquellen in die Gewässer eingetragen werden. Das Konsortium aus SchussenAktiv konnte ebenfalls eine Vielzahl an PAK in den Sedimentproben nachweisen, allerdings wurden in diesem Zusammenhang Sedimentextrakte untersucht.

Durch die Gewinnung der Extrakte mittels Extraktionsverfahren mit polaren und apolaren Lösungsmitteln ist es möglich, sowohl die bioverfügbaren als auch nicht verfügbaren Verbindungen aus den Sedimenten zu lösen. Damit wird ein Worst-Case-Szenario abgebildet, um das mögliche

Schadpotenzial vollständig zu ermitteln, da es durch zum Beispiel Starkregenereignisse oder auch durch Abschlag eines RÜBs erneut zu einer Remobilisierung der gebundenen Stoffe kommen kann, die dann erneut ein Risiko für die aquatischen Organismen darstellen können (Hollert et al. 2003).

Um allerdings auch das ökologische relevante Szenario im FET zu betrachten, wurden die Sedimente sowohl im nativen als auch im lyophilisierten (gefriergetrockneten) Zustand untersucht. Die Untersuchung beider Expositionsszenarien ist notwendig, da sich Sedimente im nativen Zustand durch z. B. Bakterienaktivität schnell verändern (Zielke 2011). Durch die Gefriertrocknung kommt es durch Wasserentzug zu einer Art Konservierung der Stoffe im Sediment. Diese „trockenen“ Sedimente werden anschließend wieder gewässert und können dann im Sedimentkontakttest mit den Embryonen des Zebrabärblings eingesetzt werden, um deren teratogenes und embryotoxisches Potenzial zu untersuchen.

Bei der Testung der nativen Sedimente muss zwingend die Sauerstoffzehrung der Sedimente untersucht werden. Es ist bekannt, dass eine nicht ausreichende Sauerstoffzufuhr embryotoxische und teratogene Effekte bei Zebrabärblingsembryonen hervorrufen kann (Strecker et al. 2011). Daher muss ein Sauerstoffgehalt von 2 mg/l sichergestellt werden. Dazu wurde im Vorfeld der Untersuchungen (als Blindversuch ohne Zugabe der Embryonen, nur mit Sediment) eine Sauerstoffmessung durchgeführt, wodurch eine Sauerstoffzehrung der Sedimente in diesen Untersuchungen ausgeschlossen werden konnte.

Bei der Exposition der rein nativen Proben gegenüber der Zebrabärblingsembryonen konnte in keiner der Sedimentproben ein embryotoxisches oder teratogenes Potenzial nachgewiesen werden. Allerdings konnte bei Belastung der Embryonen mit den gefriergetrockneten Sedimenten an den Probenahmestellen H1, W1 und W2 subletale Effekte beobachtet werden, die mit einer allgemeinen Verzögerung der Entwicklung einhergingen. An der Stelle W4 konnten zudem visuell Verhaltensauffälligkeiten bei den Embryonen beobachtet werden. Zu diesen gehörten eine verzögerte Reaktionsfähigkeit der geschlüpften Embryonen sowie ein limitiertes Ausweichverhalten bei Gefahr (näherkommende Pipette). Diese Auffälligkeiten könnten auf einen neurotoxischen Effekt und damit einhergehend auf die Anwesenheit neurotoxischer Substanzen in dem Sediment der Stelle W4 deuten.

Um eine genaue Quelle der beobachteten Effekte ausmachen zu können, ist es zwingend erforderlich, die Sedimente chemisch-analytisch zu untersuchen. Nur so ist es möglich, Substanzen oder Substanzklassen zu identifizieren, die zu den beobachteten Effekten beitragen. In Schussen-Aktiv konnte in den Sedimentproben neben den PAK ebenfalls eine Reihe Pharmazeutika, Rückstände aus Waschlösungen, Weichmacher und eine Vielzahl weiterer Stoffe identifiziert werden. Die Literatur zeigt dazu, dass in der Regel kein einzelner Stoff für die verursachten Effekte verantwortlich ist, sondern dass die Mischung aus verschiedensten Schadstoffen zu den beobachteten

Effekten führen (Kammann et al. 2005). Billiard et al. (2008) zeigten zudem, dass additive und synergistische Effekte dabei eine große Rolle spielen.

Zusammenfassend zeigte sich nach Exposition der Embryonen gegenüber Sedimentextrakten sowie nativen und gefriergetrockneten Sedimentproben ein embryotoxisches und teratogenes Potenzial der Sedimentextrakte (H2, W1 und W2) sowie der gefriergetrockneten Proben (H1, W1 und W2, W4). Die Tatsache, dass diese Effekte in den rein nativen Proben nicht gefunden werden konnten, könnte zum einen daran liegen, dass sich die Sedimente durch Bakterienaktivität innerhalb der kurzen Zeit verändert haben und die für die Effekte verantwortlichen Stoffe umgesetzt wurden. Auf der anderen Seite kann es durch die Gefriertrocknung zu einer Erhöhung der Bioverfügbarkeit vorhandener Substanzen kommen (Geffard et al. 2004). Die Testung der aufkonzentrierten Proben stellt zwar ein Worst-Case-Szenario dar, allerdings zeigte die Untersuchung eines RÜB-Abschlags (vgl. Kap. 5.2.2) welche Auswirkungen die Aufwirbelung des Sediments auf Zebrabärblingsembryonen haben kann. Hier zeigten sich nach Abschlag des RÜBs in der nativen Probe der Wurm (W3) deutliche Effekte, die mit den hier gefundenen Effekten auf das Herz-Kreislauf-System übereinstimmten. Durch diese Untersuchung konnte ein stark ökologisch relevantes Expositionsszenario dargestellt werden, welches die Effekte partikelgebundener Schadstoffe nach Remobilisierung in Zebrabärblingsembryonen veranschaulicht. Darüber hinaus wurde kein Einfluss der Kläranlagen Aachen-Soers oder Eilendorf auf die Gewässer festgestellt. Bereits oberhalb der Kläranlage Eilendorf (H1) konnten subletale Effekte bei den Zebrabärblingsembryonen festgestellt werden und auch an der Probenahmestelle W1, welche noch oberhalb der Mündung des Haarbachs in die Wurm liegt, war ein teratogenes Potenzial nachweisbar. Möglicherweise deuten die Ergebnisse auf einen Verdünnungseffekt nach Kläranlageneinleitung bei stark abwassergeprägten Vorflutern hin.

In situ* Untersuchungen mit *Gammarus pulex

Der Bachflohkrebs *Gammarus pulex* wurde eingesetzt, um einerseits die Fraßrate (*in situ* Exposition) zu untersuchen. Andererseits wurden Gammariden an den entsprechenden Probenahmestellen gesammelt und die internen Schadstoffkonzentrationen in deren Geweben analysiert.

Zu den *in situ*-Untersuchungen der Fraßrate mit *G. pulex* wurden die Gammariden in kleine Käfige mit einer definierten Menge Futter für eine Periode von sieben Tagen an den entsprechenden Probenahmestellen exponiert (Abbildung 55). Am Ende der Untersuchung wurde dann das Gewicht der Gammariden und das Gewicht der übrig gebliebenen Futtermenge bestimmt und eine Fraßrate errechnet.

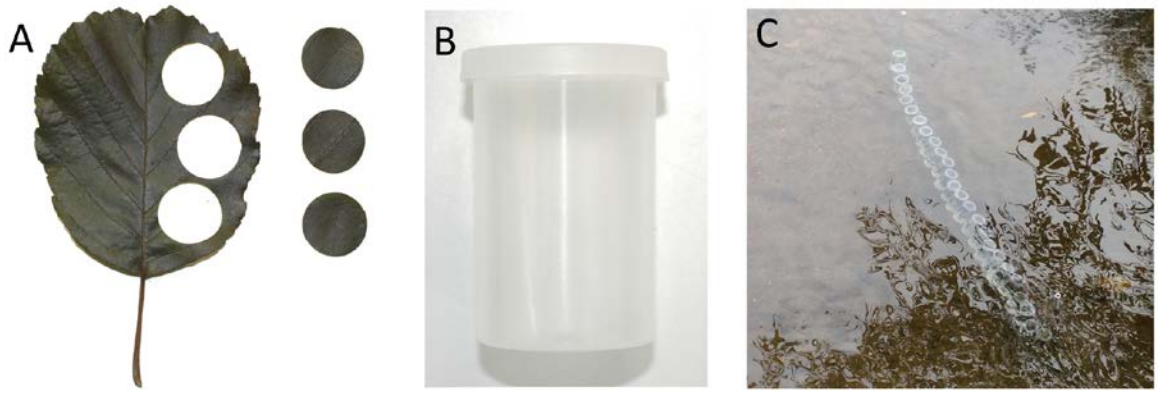

Abbildung 55: Definierte Blattmenge (A), Käfige (B) und Aufbau im Gewässer (C) für die Fraßversuche mit Gammarus pulex.

Aus wissenschaftlichem Interesse wurde in Phase 1a des Projektes zusätzlich zu den Probenahmestellen W2, W3 und W5 ebenfalls eine Stelle direkt unterhalb der Einleitstelle der Kläranlage (W4) untersucht. Darüber hinaus wurden in Phase 1b die Probenahmestellen W1, H1 und H2 einbezogen. Durchgeführt wurde die Untersuchung nach dem Protokoll von Bundschuh et al. (2011a).

Die Untersuchungen des Fraßtests wurden insgesamt siebenmal durchgeführt (2015–2017). Während der Untersuchungen kam es immer wieder zum Verlust von Gammariden an einzelnen Probenahmestellen, wodurch die Datensätze teilweise unvollständig sind. Gründe dafür waren unter anderem starke Strömungen, Abschlag des RÜBs Soers oder Vandalismus. Die Ergebnisse sind in Abbildung 56 dargestellt.

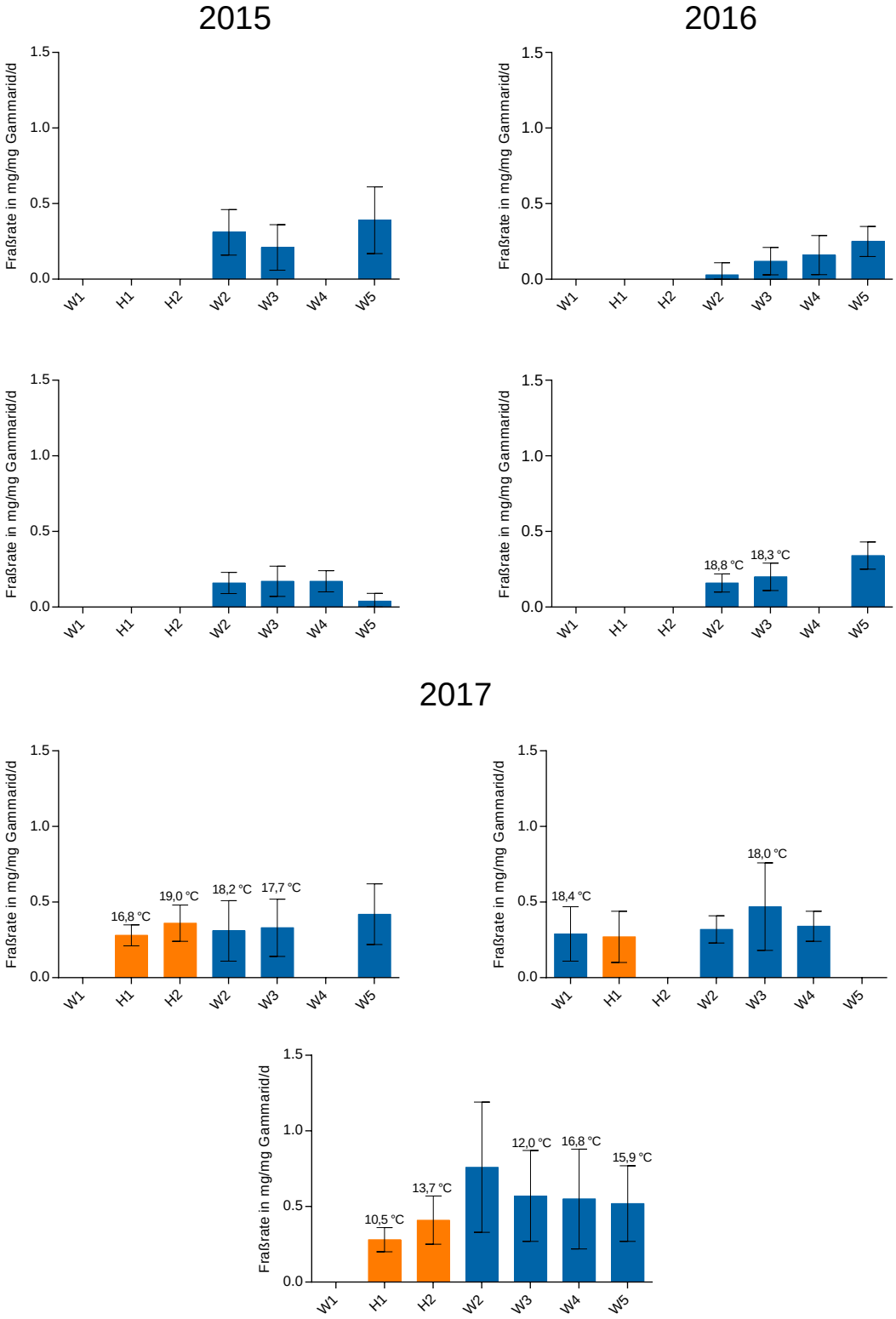

Abbildung 56: *Gammarus pulex* Fraßtest. Aufgetragen sind die Fraßraten in den Jahren 2015, 2016 und 2017 in mg pro mg Gammarid und den dazugehörigen Standardabweichungen. Ab Juli 2016 mit zusätzlich aufgezeichneten gemittelten Temperaturen.

Die Ergebnisse aus dem Jahr 2015 zeigten keine signifikanten Unterschiede der Probenahmestellen untereinander. Allerdings konnte eine generell höhere Fraßrate im Oktober verglichen mit der im Dezember festgestellt werden. Auffällig war die im Dezember 2015 unterhalb der Kläranlage deutlich verminderte Fraßaktivität, die so während keiner weiteren Untersuchungskampagne mehr auftrat. In diesem einmaligen Fall lässt sich aufgrund der unmittelbaren Nähe der Einleitstelle ein Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers bezogen auf die Fraßaktivität der Gammariden nicht ausschließen. Allerdings zeigte sich bereits im Januar 2016 eine signifikant reduzierte Fraßaktivität an der Probenahmestelle W2, während diese an der W5 nicht mehr nachweisbar war. Die Fraßaktivität der Gammariden, welche an der W5 ausgesetzt waren, lag im Bereich der Negativkontrolldaten der Studie von Bundschuh et al. (2011a).

Anders als in den hier beschriebenen Untersuchungen konnte in anderen Studien eine deutlich verminderte Fraßaktivität der Gammariden unterhalb von Kläranlagen festgestellt werden (Bundschuh et al. 2011a; Bundschuh et al. 2011b; Hollender et al. 2009), während die Fraßrate der hier durchgeführten Untersuchungen eher im Kontrollbereich anderer Studien ist (Bundschuh et al. 2011b). Englert et al. (2013) konnten an der Kläranlage Landau eine Reduktion der Fraßaktivität um bis zu 90 % ca. 100 m unterhalb der Kläranlageneinleitung nachweisen. Dabei konnte kein Einfluss von saisonalen oder kurzfristigen Temperaturunterschieden beobachtet werden. Andere Studien allerdings zeigten einen deutlichen Einfluss von extrinsischen Faktoren (Holmstrup et al. 2010; Maltby 1999). Nilsson (1974) identifizierte die Temperatur als wichtigsten extrinsischen Faktor. Sie fanden heraus, dass eine Temperaturänderung von 15°C auf 2°C zu einer Reduktion der Fraßaktivität um bis zu 90 % führt. Demnach kann angenommen werden, dass eine Steigerung der Temperatur auch zu einer Erhöhung der Fraßrate führen kann. Um die Temperatur als Faktor mit in die Untersuchungen einzubeziehen, wurden ab Juli 2016 Temperaturlogger mit ausgebracht, die eine kontinuierliche Aufzeichnung der Temperatur während der Untersuchungsdauer gewährleistete (vgl. Abbildung 56). Im Jahr 2017 wurden neben der Wurm auch Gammariden in den Haarbach eingesetzt (H1 und H2), um den Einfluss dieses Gewässers auf die Gammariden zu untersuchen. Im Juli 2017 konnten weder Unterschiede in den Probenahmestellen in der Wurm noch zwischen dem Wurm und dem Haarbach festgestellt werden und auch im August kam es zu keiner Änderung der Fraßaktivität der Gammariden. Die Aktivität lag in beiden Untersuchungskampagnen im gleichen Bereich und war insgesamt vergleichbar mit den Kontrolltieren aus Bundschuh et al. (2011b). Ein anderes Bild zeigte sich allerdings im Oktober 2017. Hier konnte eine generell deutlich erhöhte Fraßaktivität an allen Probenahmestellen in der Wurm festgestellt werden. Ein Unterschied der einzelnen Probenahmestellen in der Wurm war dabei allerdings nicht zu erkennen. Interessanterweise zeigte sich eine signifikant erhöhte Fraßrate der Wurm gegenüber der Fraßrate der Gammariden im Haarbach, welche vergleichbar mit den vorher durchgeführten Untersuchungen war (Juli und August 2017). Ein Temperatureinfluss konnte bei den Untersuchungen allerdings nicht beobachtet werden. So zeigte sich beispielsweise an der Probenahmestelle H1 bei einer Temperatur von 10,5°C (Oktober 2017) eine vergleichbare Fraßrate im Ver-

gleich zu einer Temperatur von 16,8°C (Juli 2017). Insgesamt zeigen die Untersuchungen der Fraßaktivität von *Gammarus pulex,* dass die Fraßaktivität innerhalb kürzester Zeit variieren kann. In den hier durchgeführten Untersuchungen konnte dabei kein Temperatureinfluss beobachtet werden, daher scheinen entweder andere extrinsische Faktoren eine Rolle bei den unterschiedlichen Fraßaktivitäten zu spielen, oder eine mögliche Änderung der chemischen Zusammensetzung der Gewässer die beobachteten unterschiedlichen Fraßraten zu begründen (Bundschuh et al. 2011b). Allerdings kann anhand der hier vorgestellten Ergebnisse kein eindeutiger negativer Einfluss der Fraßrate von *G. pulex* durch die Kläranlage Aachen-Soers auf die Wurm festgestellt werden und auch der Einfluss des Haarbachs auf die Wurm kann aktuell nicht beobachtet werden.

In Phase 2 werden die Untersuchungen weitergeführt, um den Einfluss durch Ozon auf die Gammariden zu bewerten. In der Literatur wurde dokumentiert, dass die Behandlung von Abwasser mit Ozon (1,04 mg O_3/mg DOC) zu einer erhöhten Fraßrate in Gammariden führen kann (Bundschuh et al. 2011a). Als Ursache hierfür wurde die deutlich effizientere Eliminierung einer Vielzahl von Substanzen (bis hin unter die Nachweisgrenze) genannt.

Zur Untersuchung der internen Mikroschadstoffkonzentration in den Geweben der Gammariden (Angabe der Stoffkonzentration in Nanogramm bezogen auf die Biomasse der Gammariden in Gramm) wurden diese an den entsprechenden Probenahmestellen aus dem Gewässer an den verschiedenen Probenahmestellen in der Wurm (Phase 1a und 1b) und dem Haarbach (Phase 1b) gesammelt. Dadurch können u. a. hydrophobe Substanzen, die an organischem Material binden oder in Organismen akkumulieren können, in die Untersuchung einbezogen werden. Gammariden können ein natürliches Alter von ein bis zwei Jahren erreichen und in der gesamten Lebenszeit Schadstoffe in ihren Geweben anreichern. Durch diese relative lange Lebenszeit sind sie ideale Organismen zur Untersuchung der Bioakkumulation. Zudem fressen sie die am Boden liegenden Blätter, wodurch die Exposition sowohl durch Futter (Anlagerung von Mikroschadstoffen an den Blättern) als auch durch die Hautoberfläche abgebildet werden kann. Da Gammariden Sedimentbewohner sind, nehmen sie insbesondere die Substanzen auf, die an das Sediment akkumulieren. So weist der Großteil der gefundenen Substanzen in den Gammariden ein erhöhtes Akkumulationspotenzial auf. Die Spurenanalysen von Spurenstoffen in den Gammariden wurde zweimal durchgeführt und mittels der QuEChERS-Technik (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) analysiert:

1) Februar 2016 an den Probenahmestellen W3, W4 und W5 (W2: keine ausreichende Anzahl an Gammariden auffindbar)
2) Mai 2017 an den Probenahmestellen H1, W3, W4 und W5 (W2, H2: keine ausreichende Anzahl an Gammariden auffindbar)

Im Februar 2016 konnte in den Gammariden an den drei Probenahmestellen (W3, W4 und W5) eine vergleichbare Zusammensetzung an Substanzen nachgewiesen werden (Tabelle 29). Zu die-

sen gehören unter anderem Substanzen der Gruppen der Pharmazeutika, Flammschutzmittel und Pestizide.

Tabelle 29: Ergebnisse der chemischen Analyse der internen Mikroschadstoffkonzentration mittels QuEChERS-Methode der Probenahmestellen W3, W4, W5 und H1. Angaben in ng/g. Orange: Substanz wurde nicht analysiert

Substanz	W3		W4		W5		H1
	2016	2017	2016	2017	2016	2017	2017
1H-Benzotriazol	1,07	2,36	1,10	3,01	1,36	4,11	-
2-Benzothiazolsulfonsäure	0,25	-	0,20	-	0,24	-	-
4+5-Methyl-1H-benzotriazol	0,28	1,48	0,21	1,66	0,14	1,76	0,36
7-Amino-4-methylcoumarin	1,38	0,85	0,84	0,72	0,35	0,07	0,34
7-Diethylamino-4-methylcoumarin	0,08	-	-	-	-	-	-
Carbamazepin	0,30	0,70	0,20	1,62	0,28	1,94	0,23
Carbendazim	0,56	-	-	-	-	-	-
Cetirizin	0,06	-	0,05	-	0,07	-	-
Citalopram	1,29	1,43	1,27	0,70	1,64	6,45	0,15
Clarithromycin	0,10	0,20	0,26	0,53	0,66	0,68	0,32
Diuron	0,10	0,21	0,08	0,19	0,07	0,18	-
Ethofumesat	0,89	42,17	0,52	25,35	0,09	15,93	22,19
Hexa(methoxymethyl)melamin	0,30	-	0,19	0,09	0,16	0,08	0,31
Imidacloprid	2,90	2,17	1,33	1,28	1,46	3,42	0,22
Mirtazapin	0,18	-	0,24	-	0,26	-	-
Pendimethalin	2,37	-	2,10	-	2,41	-	-
Phenylbenzimidazolsulfonsäure	0,37	-	-	-	-	-	-
Propiconazol	0,38	-	-	-	-	-	-
Propranolol	-	-	0,00	-	0,13	-	-
Roxithromycin	-	-	0,31	-	0,37	-	-
Tebuconazol	6,45	-	4,38	-	3,24	-	-
Terbutryn	0,13	0,22	0,17	0,35	0,19	0,36	0,07
Thiacloprid	0,31	0,49	0,28	0,34	0,41	0,28	0,25
Tri(butoxyethyl)phosphat	5,38	1,08	3,11	4,51	3,17	4,95	8,52
Triphenylphosphat	2,42	1,24	0,85	0,16	0,73	0,23	1,50
Valsartan	0,35	-	0,27	-	-	-	0,08
Denatonium		466,03		168,67		80,81	308,34
Summe ohne Denatonium	27,91	54,60	17,96	40,51	17,42	40,45	34,54
Summe mit Denatonium		520,63		209,18		121,26	342,88

An der Probenahmestelle W3 wurde vorwiegend das Fungizid Tebuconazol mit einer internen Konzentration von 6,65 ng/g, gefolgt von TBEP mit 5,38 ng/g und dem Insektizid Imidacloprid mit 2,9 ng/g nachgewiesen. Außerdem waren das Herbizid Pendimethanil und das Flammschutzmittel Triphenylphosphate (TPP) mit einer Konzentration von 2,4 ng/g in den Geweben der Gammariden feststellbar und die Mengen an Benzotriazol, 7-amino-4-methylcoumari, Citalopram und Ethofu-

mesat lagen in Konzentrationsbereichen um 1 ng/g. An der Stelle W4 dominierte weiterhin Tebuconazol mit einer internen Konzentration von 4,4 ng/g gefolgt von TBEP (3,11 ng/g). Verglichen mit der Probenahmestelle W3 kam es hier bereits zu einer Reduzierung der Konzentrationen dieser Substanzen in den Geweben der Gammariden. Ein gleiches Bild zeigte die Konzentration von TPP, was ebenfalls in einer geringeren Konzentration (0,85 ng/g) messbar war. Alle weiteren untersuchten Substanzen konnten im Februar 2016 in mehr oder weniger vergleichbaren Konzentrationen gefunden werden. Die Gammariden, welche an der Probenahmestelle W5 gesammelt wurden, zeigten bei den meisten Substanzen ein ähnliches Bild wie an der W4. Hier kam es zu einer weiteren Reduzierung der internen Konzentration der Herbizide Tebuconazol (3,24 ng/g) und Ethofumesat (0,09 ng/g).

Bei der Messung der internen Konzentration in den Gammariden im Mai 2017 zeigte sich ein anderes Bild. Während im Februar 2016 die Substanzen Pendimethanil, Tebuconazol und TBEP gefunden werden konnten, wurden die beiden Biozide Pendimethanil und Tebuconazol Im Mai 2017 nicht mehr in den Geweben der Gammariden nachgewiesen. Auf der anderen Seite wurde TBEP an den Probenahmestellen W4 und W5 in höheren Konzentrationen (4,5 ng/g und 4,9 ng/g) als im Jahr zuvor (um die 3 ng/g) gemessen.

Die Korrosionsschutzmittel Benzotriazol und Methylbenzotriazol zeigten eine höhere Konzentration. Dabei kam es bei beiden Substanzen zu einer Steigerung der intern gemessenen Konzentration entlang der Fließrichtung von der W3 zur W5 (Benzotriazol: W3 2,36 ng/g; W4 3,01 ng/g; W5 4,11 ng/g und Methylbenzotriazol: W3 1,48 ng/g; W4 1,66 ng/g; W5 1,76 ng/g). An der Probenahmestelle H1 im Haarbach (in Fließrichtung oberhalb der Stellen W3 bis W5 bzw. ohne Einfluss einer Kläranlageneinleitung) konnte dagegen kein Benzotriazol in den Gammariden nachgewiesen werden und Methylbenzotriazol zeigte eine interne Konzentration von lediglich 0,36 ng/g.

Das Antidepressivum Citalopram wurde an der W5 mit einer Konzentration von 6,45 ng/g in den Gammariden nachgewiesen, während es in der Wurm an den beiden anderen Probenahmestellen in deutlich geringeren Konzentrationen gemessen wurde (W3: 1,43 ng/g und W4: 0,7 ng/g). Auch hier zeigte sich im Haarbach ohne Einfluss der Kläranlageneinleitung eine deutlich geringere interne Konzentration (H1: 0,15 ng/g) der Substanz.

Das Herbizid Ethofumesat zeigte die höchste gemessene Konzentration in den Geweben der Gammariden (42,17 ng/g (W3), 25,35 ng/g (W4) und 15,93 ng/g (W5)), welches ebenfalls an der Probenahmestelle H1 im Haarbach in erhöhten Konzentration mit 22,19 ng/g nachweisbar war. Herbizide sind typische Vertreter für u. a. diffuse Quellen, wie z. B. der Eintrag über den Oberflächenabfluss land- oder forstwirtschaftlich genutzter Flächen.

In der Messung der internen Konzentration im Mai 2017 wurde zudem Denatonium mit analysiert. Denatonium (Handelsname Bitrex®) wird vorwiegend als Bitterstoff in Körperpflegemitteln eingesetzt, aber auch zum vergällen von Alkohol. Zudem findet es Anwendung in Fingerfarben, Haushaltsprodukten und Pestiziden, wodurch diffuse Eintragspfade möglich sind (Lege et al.

2017). In den hier untersuchten Gammariden zeigten sich im Vergleich enorme Konzentrationen an allen untersuchten Probenahmestandorten mit Werten im Bereich 80–466 ng/g. Dabei konnte eine Reduktion der Konzentration von W3 (466,03 ng/g) über W4 (168,03 ng/g) zu W5 (80,81 ng/g) beobachtet werden. Hier könnte das RÜB einen deutlichen Einfluss auf die Probenahmestelle W3 haben, durch welches die Substanz bei einem Abschlag ungeklärt ins Gewässer eingetragen werden könnte. Andererseits führt die Kläranlageneinleitung zu einer deutlichen Zunahme des Durchflusses in der Wurm, so dass ebenfalls Verdünnungseffekte denkbar sind. Die gesammelten Gammariden an der Probenahmestelle H1 zeigten bereits eine deutliche Belastung mit einer Konzentration von 308,34 ng/g. An der Stelle H2 konnte keine ausreichende Zahl an Gammariden für die Analyse gefunden werden, so dass eine abschließende Bewertung des Einflusses der Kläranlage Eilendorf auf den Haarbach erschwert ist. Es zeigte sich dennoch eine deutliche Belastung der Gammariden bereits oberhalb der Kläranlage. Lege et al. (2017) untersuchten 22 Kläranlagenabläufe in Deutschland. In 100 % der Untersuchungen konnte Denatonium mit einer maximalen Konzentration von 341 ng/l nachgewiesen werden. Außerdem konnten Lege et al. (2017) Denatonium im Wasser des Flusses Ammer nachweisen (bis 195 ng/l). Die diversen Einsatzmöglichkeiten erschweren eine Aussage über die Quellen dieser hohen Konzentrationen in der Wurm und dem Haarbach. Darüber hinaus ist Denatonium kein Bestandteil des Untersuchungsumfangs der Spurenstoffmessungen, so dass ein Abgleich mit chemischer Analytik nicht möglich ist.

Studien zeigen, dass die Biozide Tebuconazol, Carbendazim, Diuron und Terbutryn in Baumaterialien verwendet werden. Diese können dann durch Starkregenereignisse abgeschwemmt und anschließend in Gewässer eingetragen werden (Bollmann et al. 2014; Kahle et al. 2008). Diese Substanzen konnten im Jahr 2016 eindeutig in den Gammariden nachgewiesen werden, während sie 2017 nur in sehr geringen Konzentrationen oder gar nicht messbar waren. Flammschutzmittel wie TBEP und TPP, sowie Korrosionsschutzmittel wie Benzotriazol und Methylbenzotriazol werden regelmäßig in Straßen- und Regenwasserabflüssen gefunden (Kloepfer et al. 2005) und können so ebenfalls durch Abschwemmung ungeklärt in Gewässer eingetragen werden. Durch eine Vielzahl an diffusen Eintragsquellen kann hier keine eindeutige Aussage über die Quelle für die höheren Werte in den Geweben der Gammariden im Jahr 2017 getroffen werden. Dabei kann bei Benzotriazol und Methylbenzotriazol ein Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers nicht ausgeschlossen werden, da eine Steigerung der internen Konzentration von der W3 über W4 zur Probenahmestelle W5 zu verzeichnen war. Gleiches gilt für sie Substanzen Carbamazepin und Clarithromycin. Dies konnte im Jahr 2016 so nicht beobachtet werden.

Ein Vergleich der sowohl in den Geweben der Gammariden als auch in der chemischen Analyse der Wasserproben im DemO_3AC-Projekt nachgewiesenen Substanzen zeigte eine Übereinstimmung von 6 Substanzen:

- Benzotriazol,

- Methylbenzotriazol,
- Carbamazepin,
- Clarithromycin,
- TBEP und
- Valsartan.

In den Geweben der Gammariden konnten Substanzen nachgewiesen werden, die in der Chemieanalytik unterhalb der Nachweisgrenze lagen. Ein möglicher Grund könnte das hohe Bioakkumulationspotenzial der Substanzen sein und damit einhergehend das Bestreben der Substanzen an Gewebe oder Partikel zu akkumulieren als in der freien Wasserphase zu verbleiben (Durjava et al. 2013; Nyman et al. 2013; Peña et al. 2011). Von diesen Stoffen konnte beispielsweise TBEP in der chemischen Analyse der Wasserproben nicht nachgewiesen werden, während es in den Gammariden im Jahr 2016 in hohen Konzentrationen messbar war. Außerdem wurde im Vergleich zur chemischen Analyse eine Vielzahl an Herbiziden und Pestiziden in den Gammariden gefunden. Als Beispiel lag Terbutryn unterhalb der Nachweisgrenze in der Wasserprobe, war allerdings in den Geweben der Gammariden in beiden Screenings messbar.

Es zeigte sich, dass trotz der üblicherweise stattfindenden Ausbringung der Pestizide im Frühjahr diese im Februar des Folgejahres noch in den Geweben der Gammariden messbar waren. Eine erhebliche Menge des Herbizids Ethofumesat konnte im Mai 2017 in den Gammariden gemessen werden. Die Ausbringung dieses Stoffes erfolgt nach der Auskeimung der Pflanzen und wird auf die Blätter der Pflanzen gesprüht. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Ausbringung kurz vor der Untersuchung mit den Gammariden stattgefunden hat und es zu noch keinem deutlichen Abbau der akkumulierten Menge durch die Gammariden gekommen ist. Es zeigte sich allerdings deutlich ein Verdünnungseffekt durch die Kläranlage Aachen-Soers anhand von Ethofumesat, da die interne Konzentration von 42,17 ng/g an der W3 im Vergleich zu 15,93 ng/g an der W5 reduziert war. Zudem wurde bereits eine deutliche Belastung der Gammariden (22,19 ng/g), welche im Haarbach (H1) gesammelt wurden, nachgewiesen.

Eine kürzlich veröffentlichen Studie von Inostroza et al. (2016), in welcher ebenfalls eine umfassende Analyse der internen Konzentration von Pestiziden und Pharmazeutika in Gammariden durchgeführt wurde, zeigte mehrheitlich vergleichbare Werte der im Rahmen von DemO_3AC gemessenen Substanzen. Einzige Ausnahme war hier das Fungizid Tebuconazol. In den Proben der Wurm wurde dieses zwischen 3,2 ng/g und 6,4 ng/g nachgewiesen, während es in der Holtemme lediglich in Konzentrationen zwischen 0,6 ng/g und 0,9 ng/g messbar war.

Betrachtet man die Summenkonzentration aller gemessenen Substanzen in den Geweben der Gammariden, dann konnte im Februar 2016 die höchste Summenkonzentration an der Probenahmestelle W3 mit einer Konzentration von 28 ng/g gemessen werden, während die beiden Probenahmestellen W4 und W5 eine vergleichbare interne Konzentration von 17 ng/g aufwiesen. Auch in 2017 war die W3 mit einer internen Konzentration von 54,6 ng/g die am stärksten belas-

tete Probenstelle, während die Konzentration an der W4 und der W5 vergleichbar war (40 ng/g; Summen ohne Denatonium). Es zeigte sich demnach eine stärkere Belastung der Gammariden im Jahr 2017 verglichen mit 2016 (etwa doppelt so hohe Summenkonzentrationen). Die Summenkonzentration der Probenahmestelle H1 lag bei 34,5 ng/g und ist damit deutlich geringer als die Konzentrationen an der W3 und leicht geringer als an der W4 und W5.

Zusammengefasst lässt sich anhand der Ergebnisse des Fraßtests in den meisten Fällen kein eindeutiger Einfluss der Kläranalage Aachen-Soers auf die Gammariden erkennen. Lediglich in einem Fall konnte eine signifikante Reduktion der Fraßrate unterhalb der Kläranlage (W5) beobachtet werden, die aber schon einen Monat später nicht mehr nachweisbar war.

Die Ergebnisse der internen Schadstoffkonzentration der Gammariden zeigen mitunter hohe Konzentrationen bestimmter Substanzen, die teilweise Rückschlüsse auf diffuse Quellen (da z. B. landwirtschaftliche Nutzung der Substanz im Vordergrund steht), teilweise aber auch auf Punktquellen (wie Kläranlageneinleitungen) zulassen. So ist einerseits die Stelle H1, die von Kläranlageneinleitungen unbeeinflusst ist, bereits auffällig (insbesondere Ethofumesat und TBEP). Allerdings sind die gemessenen internen Schadstoffkonzentrationen i. d. R. geringer als flussabwärts, wenn der Einfluss von Abwasserbehandlungsanlagen (RÜB und Kläranlagen) deutlich wird. Da die höchsten (Summen-) Konzentrationen an der W3 gefunden wurden, ist zum einen ein Einfluss des RÜB zu vermuten, andererseits kann die im Anschluss durch die Kläranlageneinleitung erhöhte Wassermenge der Wurm auch auf Verdünnungseffekte hinweisen (ein Vergleich der Summenkonzentration zeigt, dass die Gammariden oberhalb der Kläranlage (W3) stärker belastetet sind als unterhalb der Kläranlage (W5) Aachen-Soers). Zu einer deutlichen Steigerung entlang der Fließrichtung kam es jedoch bei den Substanzen Benzotriazol, Methylbenzotriazol, Citalopram, TBEP und Imidacloprid. Hier wurde in den Screenings im Jahr 2017 eine Steigerung der internen Konzentration von W3 zu W5 beobachtet, wodurch ein Einfluss der Kläranlage zu vermuten ist. Insgesamt ist es möglich, anhand der Bioakkumulation in Gammariden auch Substanzen nachzuweisen, die mittels chemischer Analytik nicht mehr bestimmbar waren. Dies zeigt, dass Substanzen, die chemisch unterhalb der Bestimmungsgrenze liegen, dennoch ökotoxikologisch relevant sein können. Die reine Präsenz von Spurenstoffen in Gammariden lässt jedoch keine Rückschlüsse auf die tatsächlichen Auswirkungen auf die Organismen zu. Diesbezüglich besteht weiterhin Forschungsbedarf.

Endokrines Potenzial

Zur Bestimmung des endokrinen Potenzials wurden die Gewässerproben der Wurm und des Haarbachs ebenfalls sowohl mit rezeptorvermittelten Testsystemen (L-YES Assay und ERα-CALUX® Assay) als auch mit einem Testsystem zur Untersuchung der Steroidgenese (H295R Assay) durchgeführt. Die Untersuchungen wurden in Phase 1a des Projektes mit den Proben aus der Wurm (W2, W3 und W5) durchgeführt und in Phase 1b zusätzlich um die W1 und zwei Proben aus dem Haarbach (H1 und H2) erweitert. Zusätzlich zu diesen Analysen wurden *in situ*-Experimente mit

der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* und Regenbogenforellen *Oncorhynchus mykiss* durchgeführt. Untersuchungen mit der Zwergdeckelschnecke und den Regenbogenforellen haben sich als geeignete sensitive Biomarker herausgestellt, um den Einfluss von östrogenartig wirkenden Substanzen zu untersuchen (Brinkmann et al. 2010; Gust et al. 2014).

In den beiden rezeptorvermittelten Testsystemen (L-YES Assay und ERα-CALUX®) zeigte sich an allen Probenahmestellen in der Wurm und im Haarbach ein östrogenes Potenzial der aufkonzentrierten Proben. In Tabelle 30 ist dabei deutlich zu erkennen, dass bereits ein deutliches östrogenes Potenzial oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers messbar war. Hier zeigte sich beispielsweise an der Probenahmestelle W3 ein östrogenes Potenzial mit EEQ-Werten von 1,3–9,7 ng E2/l (L-YES) bzw. 0,15-0,55 ng E2/l (ERα-CALUX® Assay). Anhand dieses Ergebnisses lässt sich ein Einfluss des RÜB auf die Wurm nicht ausschließen. Schlägt dieses durch starke Regenereignisse in die Wurm ab, dann kommt es zum Eintrag von nahezu ungeklärtem Abwasser. In Kapitel 5.2 werden die Ergebnisse der Untersuchungen eines RÜB-Abschlags präsentiert und es zeigte sich ein deutlich erhöhtes östrogenes Potenzial mit 5- bis 20-fach höheren EEQ-Werten im Vergleich zu den hier ermittelten Werten. Allerdings konnten bereits oberhalb des RÜB östrogene Potenziale in der Wurm ermittelt werden. Die gemessenen EEQ-Werte lagen hier im L-YES Assay bei 2,2–9,8 ng E2/l (W2) und 6,3–18,2 ng E2/l (W1)). Im ERα-CALUX® Assay waren die gemessenen EEQ-Werte deutlich geringer (0,1–0,3 ng E2/l (W2) und 0,1–0,9 ng E2/l (W1)). Dieses Ergebnis liegt an der bereits beschriebenen deutlicheren Sensitivität des ERα-CALUX® Assays im Vergleich zum L-YES Assay und an der Tatsache, dass im ERα-CALUX® Assay deutlich geringere Konzentrationen getestet werden können (L-YES Assay: 16,67 REF; ERα Calux® Assay: 2,5 REF). So lassen sich im ERα Calux® Assay auch leichte östrogene Effekte nachweisen, die im L-YES so nicht nachweisbar gewesen wären (Maletz et al. 2013).

Tabelle 30: EEQ-Werte in ng E2/l im L-YES und ERα Calux® Assay mit aufkonzentrierten Proben aus Phase 1a und 1b; Weiß: nicht beprobt, Orange: östrogener Effekt messbar, Grün: kein Effekt messbar

Probenahme-stelle	Phase 1a				Phase 1b			
Screening	1-1	1-2	1-3	1-4	2-1	2-2	2-3	2-4
L-YES Assay, EEQ in ng/l								
H1	-	-	-	-				
H2	-	-	-	-	1,9			8,1
W1	-	-	-	-			6,3	18,2
W2	2,2	3,6		2,3				9,8
W3	1,3	1,6	3,2	5,1	8,6			9,7
W5	1,9	1,9		3,85	8		1,6	1,3
ERα Calux® Assay, EEQ in ng/l								
H1	-	-	-	-		0,19	0,22	0,85
H2	-	-	-	-		0,32	0,09	1,02
W1	-	-	-	-		0,11	0,07	0,93
W2	0,21	0,11				0,34	0,24	0,11
W3	0,15					0,51	0,24	0,55
W5	0,1					0,18	0,17	0,09

Bei Untersuchung des Haarbachs und der Kläranlage Eilendorf zeigte sich, dass oberhalb der Kläranlage (H1) in keiner der vier Proben ein östrogenes Potenzial im L-YES Assay nachweisbar war, während im ERα Calux® Assay in drei der vier Screenings ein Potenzial messbar war (0,2–0,8 ng E2/l). Unterhalb der Kläranlage Eilendorf (H2) konnte wiederum in beiden Testsystemen ein östrogenes Potenzial gefunden werden (1,9 ng–8,1 ng E2/l im L-YES Assay und 0,1–1 ng E2/l im ERα Calux® Assay). Insgesamt zeigte sich, dass es an allen Probenahmestellen in der Wurm und dem Haarbach in 50–75 % der Screenings einen Nachweis eines östrogenen Effekts gab. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Kläranlageneinleitung zum östrogenen Potenzial in den Vorflutern beiträgt.

Das Screening 2-4 zeigte dabei in allen aufkonzentrierten Proben im L-YES Assay das im Vergleich deutlichste östrogene Potenzial mit EEQ-Werten von 8,1 ng E2/l (H2) bis 18,2 ng E2/l (W1) mit Ausnahme der Probe W5 (1,3 ng E2/l). Eine vergleichbare Tendenz ist auch in den Ergebnissen des ERα Calux® Assay zu erkennen. SCR 2-4 wurde während einer Trockenwetterperiode durchgeführt, wodurch es womöglich zu einer Aufkonzentrierung der östrogen wirkenden Substanzen in der Wurm und dem Haarbach gekommen sein kann. Auf der anderen Seite kam es durch die Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers scheinbar zu einer Verdünnung des östrogenen Potenzials. Da endokrines Potenzial diverse Quellen haben kann, ist ein eindeutiger Einfluss von Regen- und Trockenwetter ist hier nicht nachweisbar.

Einen Tag vor SCR 2-2 kam es zu einem Abschlag des RÜBs. Es wurde vermutet, dass dieser Effekt in den Ergebnissen der beiden rezeptorvermittelten Testsysteme sichtbar sein würde, da ebenfalls die Beprobung eines RÜB-Abschlags zu einem deutlichen endokrinen Potenzial an der Probenahmestelle (W3) führte. Dies war allerdings im L-YES Assay nicht der Fall. Im ERα CALUX® Assay hingegen war der Abschlag des RÜB vor der Messkampagne 2-2 deutlich sichtbar. Hier wurde, neben der Messkampagne 2-4, in welcher auch im L-YES Assay das deutlichste Potenzial messbar war, das höchste östrogene Potenzial mit einem EEQ-Wert von 0,51 ng E2/l an der Probenahmestelle W3 gemessen. Um darüber hinaus den Einfluss der partikulären Phase zu bewerten, wurden die Filterrückstände aus den zuvor filtrierten Gewässerproben exemplarisch für die Screenings 1-1, 2-1 und 2-4 untersucht. Es zeigte sich kein östrogenes Potenzial in den Proben.

Bei Testung der nativen Gewässerproben im ERα CALUX® Assay zeigte sich lediglich in den Screenings 2-2 (W3) und 2-3 (W3 und W5) positive Befunde. Auffällig ist, dass beide Screenings während Regenwetter durchgeführt wurden. Je nach Intensität des Regenereignisses könnte es zur Aufwirbelung von Sedimenten und damit zu einer Remobilisierung gebundener Schadstoffe gekommen sein. Der vor dem Screening 2-2 stattgefundene Abschlag des RÜBs scheint auch, wie bei den aufkonzentrierten Proben, in den nativen Proben an der W3 deutliche Effekte versursacht zu haben. Dies bestätigt auch die Untersuchung eines RÜB-Abschlags (vgl. Kap. 5.2), bei welcher sich eine Steigerung des östrogenen Potenzials um bis das 20-fache zeigte.

Um neben den Einfluss des RÜB, der Kläranlage Eilendorf und des Haarbachs noch weitere Eintragsquellen östrogen wirkender Substanzen zu untersuchen, wurden ebenfalls Sedimente an den entsprechenden Probenahmestellen auf ihr östrogenes Potenzial hin im Erα CALUX® Assay getestet. Auf diese Weise kann der Einfluss der partikelgebundenen Schadstoffe mit in die Untersuchung einbezogen werden. Die Sedimentproben wurden an den Stellen H1 und H2 (Haarbach) sowie an der W1, W2, W3, W4 und W5 (Wurm) entnommen, extrahiert und im ERα CALUX® Assay auf ihr östrogenes Potenzial hin untersucht. Die Ergebnisse der Sedimentextrakte aus der Wurm zeigten unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers eine leichte Steigerung von der W3 (48 pg E2/g) zur W5 (55 pg E2/g). Allerdings konnte bereits oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers und oberhalb des RÜB (W2) ein deutliches östrogenes Potenzial von 78 pg E2/g gemessen werden, was dem höchsten gemessenen EEQ-Werte aller Proben entspricht (Abbildung 57). An dieser Probenahmestelle kam es bereits zum Zusammenfluss des Haarbachs mit der Wurm. Bei genauerer Betrachtung der Sedimentextrakte der Probe H1 und H2 des Haarbachs zeigt sich zudem ein deutlicheres östrogenes Potenzial unterhalb der Kläranlage Eilendorf mit einem EEQ-Wert von 70 pg E2/g (H2) verglichen zu 28,7 pg E2/g (H1).

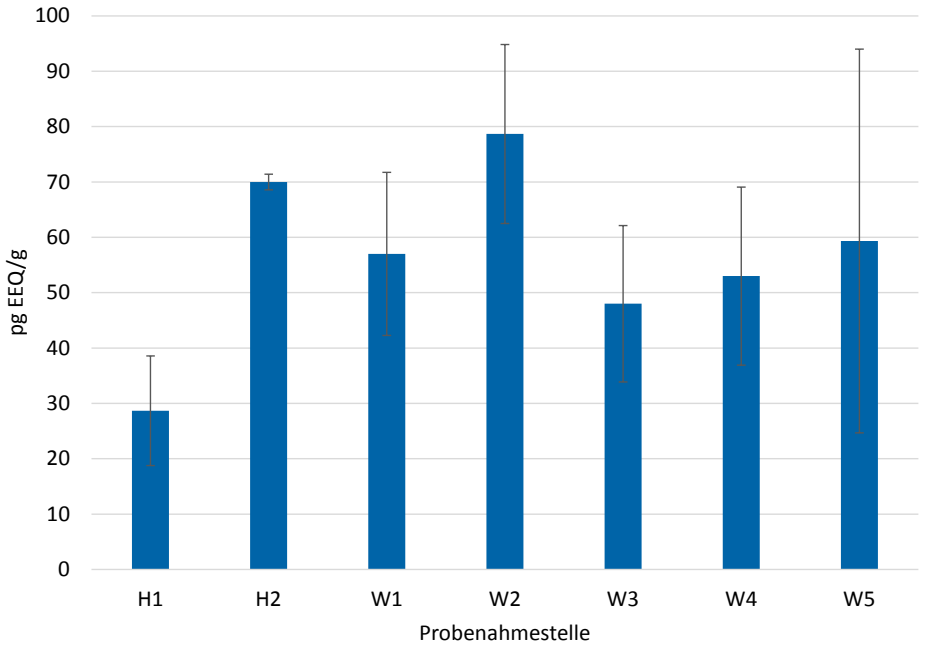

Abbildung 57: Östrogenes Potenzial der Sedimentextrakte (Wurm und Haarbach) angegeben als pg EEQ/g Sediment gemessen im ERα CALUX® Assay mit Standardabweichung.

Anhand dieser Ergebnisse lässt sich ein Einfluss der Kläranlage Eilendorf auf den Haarbach bezogen auf das östrogene Potenzial im ERα CALUX® Assay nicht ausschließen. Allerdings muss erwähnt werden, dass es kürzlich an der Probenahmestelle H1 eine Renaturierungsmaßnahme gab, wodurch es zu einer Sedimentverdriftung gekommen sein und damit einen Einfluss auf die Sedimente der Probenahmestelle H2 haben kann. Wie bereits erwähnt konnten die beiden höchsten östrogenen Potenziale zum einen unterhalb der Kläranlage Eilendorf (H2) und zum anderen nach dem Zusammenfluss des Haarbachs mit der Wurm (W2) gemessen werden. Basierend auf diesen Daten kann ein Einfluss des Haarbachs auf die Wurm nicht ausgeschlossen werden. Auf der anderen Seite konnte selbst an der Probenahmestelle oberhalb des Zusammenflusses (W1) bereits ein deutliches östrogenes Potenzial von 57 pg E2/g gemessen werden, was nochmals den Eintrag östrogen wirkender Stoffe durch diffuse Eintragsquellen unterstreicht.

Vergleicht man die hier erhaltenen Ergebnisse mit der Literatur so zeige sich, dass das gering gemessene östrogene Potenzial der Probe H1 mit einem EEQ-Wert von 28,7 pg E2/g im Bereich der gemessenen Daten aus Sedimenten des Nationalparks Oosterschelde im Rhein-Maas-Delta liegen, wo ein starker anthropogener Einfluss ausgeschlossen werden kann (Houtman et al. 2004). Auf der anderen Seite konnten Houtman et al. (2004) und Houtman et al. (2006) EEQ-Werte von um die 70 pg E2/g in Sedimenten diverser Seehäfen in Holland identifizieren. In diesem Bereich liegen ebenfalls die Proben H2 und W2, aber auch alle anderen Proben bewegen sich zwischen 50 pg E2/g und 60 pg E2/g. Vergleicht man die erhaltenen Ergebnisse der Sedimentextrakte mit denen aus dem L-YES und dem ERα CALUX® Assay so zeigt sich, dass die Daten nicht eins zu eins übereinstimmen. So konnte beispielsweise beobachtet werden, dass die Extrakte der Probe W2 in

diesen Untersuchungen nicht das deutlichste östrogene Potenzial aufwiesen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit auch partikelgebundene Schadstoffe in die Untersuchungen eines Gewässers mit einzubeziehen. Gerade Substanzen mit einem mäßigen Sorptionsverhalten sind in der Lage durch Remobilisierung wieder in die Wasserphase zu gelangen und so erneut ein Risiko für aquatische Organismen darzustellen (Pillon et al. 2004). Aus der Literatur ist bekannt, dass auch östrogen wirkende Substanzen mit einem mäßigen Sorptionsverhalten an Sedimente binden können. So konnten natürliche und auch synthetische Östrogene in Sedimenten nachgewiesen werden (Gorga et al. 2015; Pillon et al. 2004), deren log K_{ow}-Werte zwischen 3,1 (E2) und 4 (EE2) lagen (Fent 2013). Neben dem Vorkommen von natürlichen und synthetischen Hormonen in den Sedimenten, konnte noch eine große Bandbreite anderer östrogen wirkender Substanzen nachgewiesen werden. Zu diesen gehören unter anderem Nonylphenol, Octylphenol, Triclosan und BPA (Gorga et al. 2015). Dass Sedimente auch als Quelle diverser Schadstoffe dienen können, bestätigen die Ergebnisse des erwähnten RÜB-Abschlags. Durch die Aufwirbelung des Sediments, verursacht durch die hydraulische Kraft, die durch den Abschlag eines RÜB entsteht, kam es zu einem deutlich erhöhten (bis zu 20-fach) östrogenen Potenzials der Gewässerprobe an der W3 (vgl. Kap.5.2).

Sedimentverdriftungen können bei der Beurteilung der Sedimente von Bedeutung sein, wodurch es zu einer Verschiebung des Potenzials von einer Stelle zu einer anderen kommen kann. Solch ein Szenario könnte gegebenenfalls durch einen Abschlag des RÜB ausgelöst werden, wodurch es zu einer Verdriftung des Sediments der Stelle W3 an weiter unten im Fluss gelegene Stellen kommen kann. Auf diese Weise könnte auch das geringere östrogene Potenzial mit einem EEQ-Wert von 48 pg E2/g im Vergleich zur W4 (53 pg E2/g) und W5 (59 pg E2/g) erklärt werden.

Die Eintragsquellen für östrogene Substanzen sind unter anderem aufgrund des ubiquitären Vorkommens endokrin wirksamer Substanzen (z. B. Bisphenol A) und der oben beschriebenen Effekte der Sedimentverdriftungen diffus. Dies zeigen Ergebnisse der Untersuchungen an der Probenahmestelle W1. Hier konnte ein deutliches östrogenes Potenzial mit einem EEQ-Wert von 57 pg E2/g nachgewiesen werden, welches im Bereich der gemessen Werte unterhalb der Kläranlage liegt.

Mittels Steroidgenese-Assay (H295R) wurden die Auswirkungen der Gewässerproben des Haarbachs und der Wurm sowie die Sedimente bewertet. Dazu wurde die Synthese der Hormone Östradiol, Testosteron sowie Progesteron untersucht. In Phase 1a wurden ausgewählte Proben der Screenings 1-1 (W2, W3 und W5), 1-2 (W2) und 1-3 (W5) mit einem deutlichen östrogenen Potenzial im ERα CALUX® Assay durchgeführt. Bei der Synthese von Östradiol kam es im Screening 1-1 zu einer Steigerung der Produktion an der Probenahmestelle W2, während die Proben der beiden Stellen W4 und W5 keine Änderungen der Steroidgenese auf Östradiol zeigten. Im Screening 1-2 und 1-3 kam es dagegen konzentrationsabhängig zu einer Hemmung der Östradiolkonzentration. Die Messung von Testosteron zeigte in keinen der Screenings eine Änderung der Steroidgenese (Abbildung 58). Auf der anderen Seite konnte eine Förderung der Progesteronsynthese in den

Proben W2 (Screening 1-1 und 1-2) und W3 (Screening 1-1) nachgewiesen werden, die an der W5 so nicht auftrat.

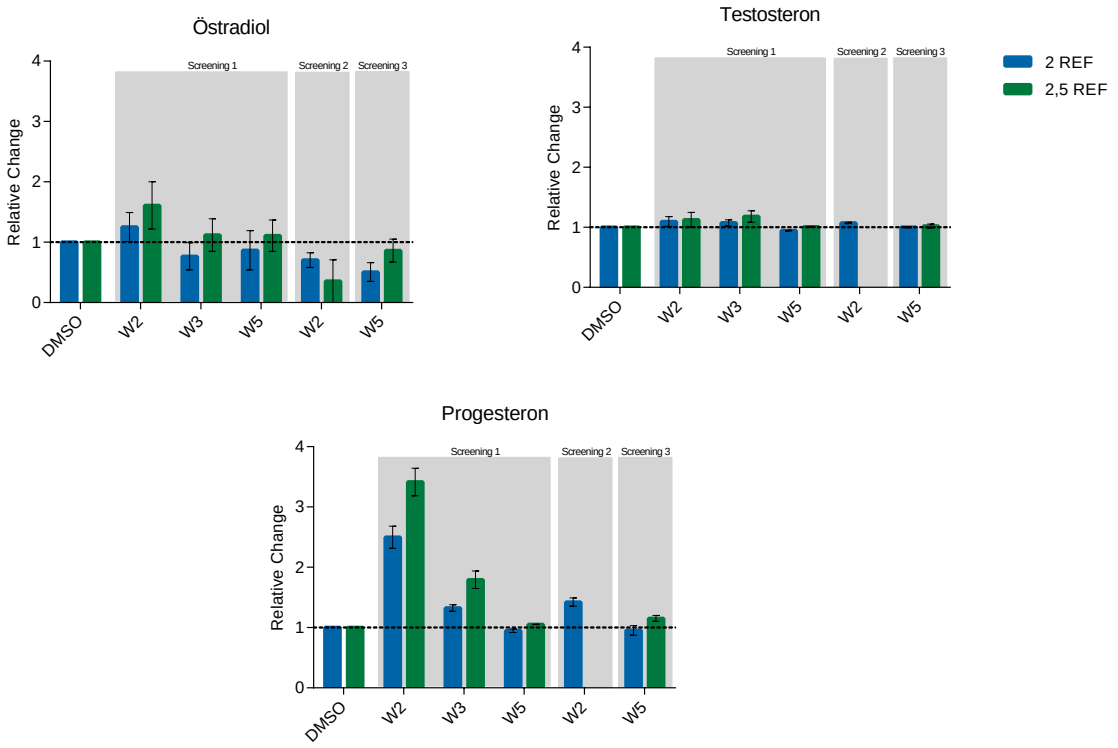

Abbildung 58: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind ausgewählte Proben der Wurm der Phase 1a.

Dieses Ergebnis der Proben aus Phase 1a deutet darauf hin, dass Substanzen in den Wasserproben enthalten sind, die auf zwei verschiedene Wege in der Steroidgenese einwirken. Auf der einen Seite scheint es zur einer Steigerung der Aromatase-Aktivität und damit einhergehend zu einer erhöhten Östradiolkonzentration gekommen zu sein. Da allerdings die Konzentration an Testosteron im Vergleich zur Negativkontrolle keine Änderung aufweist, scheint hier der Syntheseweg gestört zu sein, bei welchen Estron über die Aromatase zu Östradiol katalysiert wird. Auf der anderen Seite scheint es ebenfalls zu einer Störung des Enzyms 3β-HSD zu kommen, welches Pregnolon zu Progesteron umwandelt, wodurch die erhöhte Progesteronkonzentration der Proben W2 und W3 zu erklären ist.

Während der Projektphase 1b wurden je ein Trockenwetterscreening und ein Regenwetterscreening im H295R Assay untersucht (Abbildung 59). Hier zeigten sich zunächst keine Unterschiede durch Regen- oder Trockenwetter. Die Ergebnisse zeigen eine leichte Hemmung der Östradiolproduktion im Screening 2-2 an nahezu allen Probenahmestellen. Ausnahme waren hier die Proben der Stellen W2 und W5. Das Screening 4 zeigte ein anderes Bild: an den Probenahmestellen H1 und W1 wurde ebenfalls eine verringerte Produktion von Östradiol beobachtet, während unter-

halb der Kläranlage Eilendorf (H2) und nach Einstrom des Haarbachs in die Wurm (W2) eine gesteigerte Östradiolkonzentration messbar war. Unterhalb der Kläranlage Aachen Soers war ebenfalls keine veränderte Östradiolkonzentration nachweisbar.

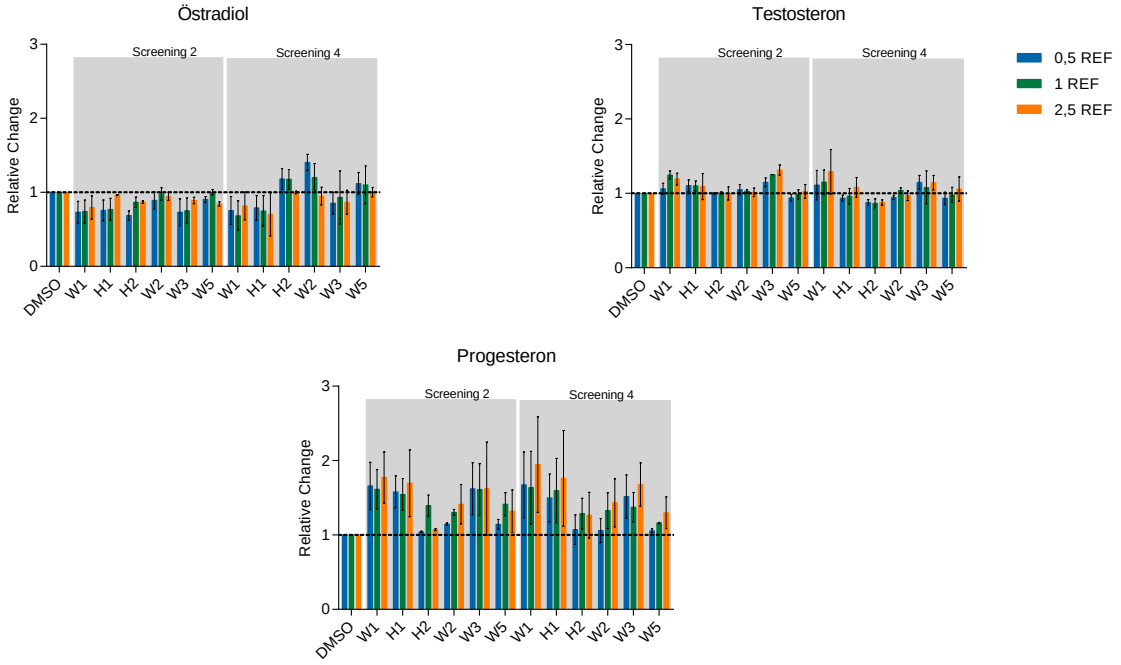

Abbildung 59: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die Ergebnisse ausgewählter Proben der Wurm und des Haarbachs der Phase 1b (Screenings 2-2 und 2-4).

Hervorzuheben ist, dass am Ablauf des Filters der Kläranlage Aachen-Soers eine gesteigerte Östradiolproduktion beobachtet werden konnte, was aber scheinbar keine Steigerung der Östradiolkonzentration in der Wurm mit sich bringt, sondern eher in einer Verdünnung endet. Am Ablauf des Filters der Kläranlage Eilendorf wurde im SCR 2-4 hingegen eine Hemmung der Östradiolkonzentration beobachtet, während die Probe des SCR 2-2 ohne Befund war. Scheinbar trug die Kläranlage Eilendorf in der Messung des Screenings 2-2 nicht zu einer Erhöhung des Potenzials im Haarbach bei, sondern es kam zu einer Verdünnung des Effekts. Allerdings war im Screening 2-4 unterhalb der Kläranlage Eilendorf ein deutlicher Effekt auf die Steroidgenese von Östradiol zu verzeichnen, wodurch sich an dieser Stelle wiederum der Einfluss der Kläranlage bezogen auf den Haarbach nicht ausschließen lässt.

Die Steroidgenese von Testosteron zeigte lediglich in den Proben W1 und W3 beider Messkampgnen eine leichte Steigerung der Hormonproduktion. Zusammen mit den Ergebnissen der gehemmten Östradiolkonzentration der gleichen Proben scheint es hier zu einer Hemmung der Aromatase-Aktivität gekommen zu sein. Unterhalb beider Kläranlagen kam es zu keiner Änderung der Testosteronkonzentration, was mit den Ergebnissen der Abläufe der Filter übereinstimmt. Die

Untersuchungen der Progesteronkonzentration zeigten die deutlichsten Änderungen: in beiden Screenings konnte an allen Probenahmestellen eine deutlich erhöhte Synthese an allen Probenahmestellen festgestellt werden. Unterhalb der Kläranlagen Aachen-Soers (W5) und Eilendorf (H2) scheint es zu einer leichten Verminderung des Effekts zu kommen. Allerdings kann hier kein eindeutiger Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers auf die gesteigerte Produktion beobachtet werden, da am Ablauf des Filters keine bis eine sehr schwache Steigerung der Progesteronkonzentration zu beobachten war. Auf der anderen Seite zeigten die Ergebnisse der Probenahmestellen oberhalb der Kläranlage ebenfalls eine gesteigerte Progesteronsynthese (W3 und W2). Interessanterweise konnte auch hier wieder in der Probe unterhalb der Kläranlage Eilendorf (H2) kein Einfluss auf die Steroidgenese von Progesteron beobachtet werden, während am Ablauf des Filters eine Steigerung der Produktion messbar war und auch oberhalb der Kläranlage (H1) eine Zunahme der Produktion beobachtet werden konnte. Bei den Proben aller Untersuchungsstandorte scheint es ebenfalls wieder zu einer Förderung des Enzyms 3β-HSD, welches die Synthese von Pregnolon zu Progesteron katalysiert, und damit verbunden zu einer gesteigerten Produktion von Progesteron führt, zu kommen.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse deutlich, dass bereits oberhalb der Kläranlage Eilendorf und auch oberhalb des Zulaufs des Haarbachs in die Wurm eine Belastung des Gewässers mit Substanzen vorlag, die einen Einfluss auf die Steroidgenese hatten. Dabei scheinen vor allem Stoffe vorzuherrschen, die die Östradiol- und Progesteron-Synthese beeinflussen. Beide Screenings zeigten unterhalb der Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf eher eine „Normalisierung“ der Hormonproduktion statt eine Steigerung der Effekte. Dieses Ergebnis ist bemerkenswert, da an beiden Kläranlagenabläufen Effekte auf die Steroidgenese festgestellt wurden, die dennoch zu keiner weiteren Änderung der Steroidgenese in den Gewässern führten.

Sedimentuntersuchungen der Wurm und des Haarbachs wurden ebenfalls mittels H295R durchgeführt, um den Einfluss der partikelgebundenen Schadstoffe auf die Steroidgenese zu bewerten (Abbildung 60).

Eine leichte aber nicht signifikante Hemmung der Östradiolkonzentration konnte in den Sedimentproben der Wurm (W4 und W5) beobachtet werden. Die Untersuchung der Testosteronsynthese zeigte, genau wie bei den Gewässerproben, keine Änderung. Ebenfalls vergleichbar mit den Untersuchungen der Gewässerproben sind die Ergebnisse der Progesteronkonzentration. Auch hier wurde, mit Ausnahme der Sedimentproben der Standorte H2, W2 und W4, eine gesteigerte Produktion von Progesteron beobachtet. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass auch in den Sedimenten Spurenstoffe vorhanden sind, die auf das Enzym 3β-HSD einwirken und so zu einer gestörten Synthese von Progesteron führen.

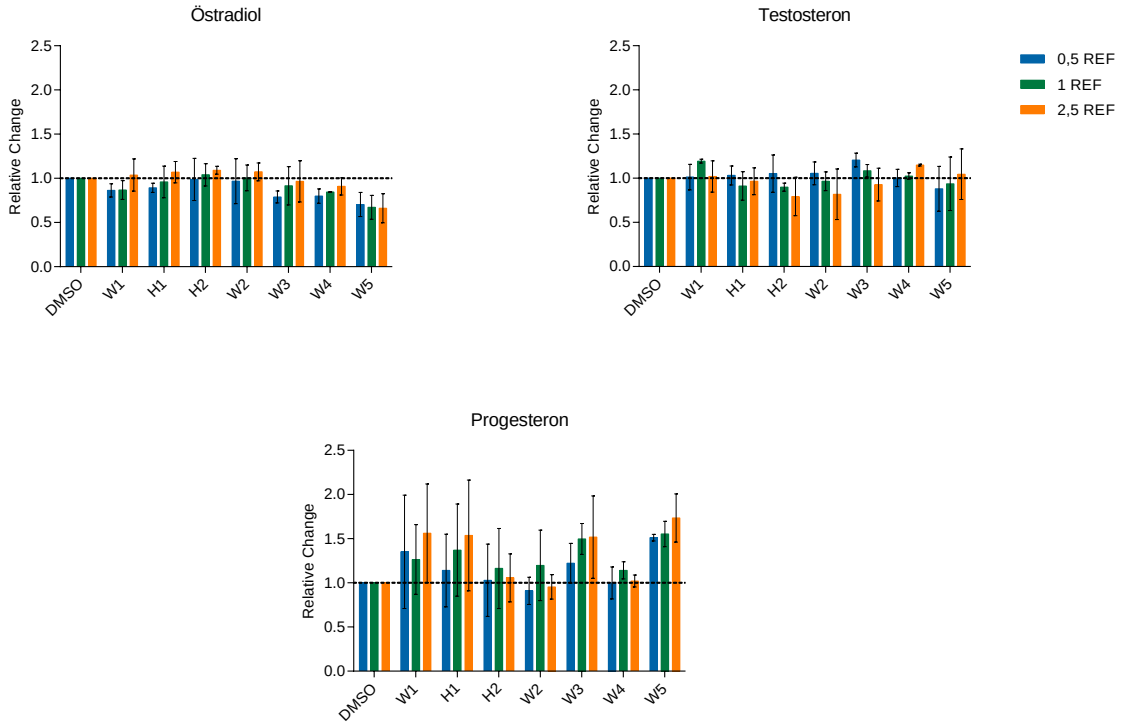

Abbildung 60: Relative Veränderung der Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron bezogen auf die DMSO-Lösungsmittelkontrolle mit Standardabweichung im H295R Assay. Dargestellt sind die extrahierten Sedimentproben der Wurm und des Haarbachs.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die Substanzen, die die Steroidgenese beeinflussen, sowohl in der Wasserphase als auch in den Sedimenten vorkommen. Dies untersuchten auch Gracia et al. (2007): in komplexen marinen Proben in Hongkong konnte eine signifikante Reduktion der Aromatase-Aktivität beobachtet werden. Zudem führen Mischungen aus Stoffen, die einen Einfluss auf die Steroidgenese haben, zu anderen Reaktionen als Einzelsubstanzen, wobei es hier auch auf die Zusammensetzung der Substanzen in einer komplexen Umweltprobe ankommt (Kusk et al. 2011; Maletz et al. 2013).

Als Ergänzung zu den *in vitro*-Untersuchungen wurden ebenfalls *in situ*-Versuche zur Bestimmung des östrogenen Potenzials durchgeführt. Als geeignete sensitive Biomarker stellten sich dabei Untersuchungen mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* und der Regenborgenforelle *Oncorhynchus mykiss* heraus (Brinkmann et al. 2010; Gust et al. 2014). Der Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* stellt dabei ein sensitives *in vivo*-Testsystem zur Detektion endokrin aktiver Substanzen dar. Er lässt sich sowohl für Wasser- als auch für Sedimentproben anwenden (Duft et al. 2003). Die Weibchen dieser Art pflanzen sich unter Laborbedingungen hauptsächlich parthenogenetisch über Ovoviviparie fort. Dies bezeichnet eine spezielle Fortpflanzungsform, bei der die Eier nicht abgelegt, sondern im Mutterleib ausgebrütet werden. Die Jungtiere schlüpfen dabei noch im Körper des Muttertieres bzw. kurz nach der Eiablage. Aufgrund dieser Besonderheit der Fortpflanzung ist es möglich, die exakte Embryonen-

zahl und somit die Fortpflanzungsleistung pro adulter Schnecke sowie der gesamten Population zu ermitteln. Die Versuchstiere wurden direkt in der Wurm (W1, W2, W3, W4 und W5) und dem Haarbach (H1 und H2) über eine Zeit von 28 Tage exponiert (Abbildung 61). Dabei wurde sowohl die Anzahl der unbeschalten als auch die Gesamtsumme der Embryonen ermittelt. Bei den unbeschalten Embryonen handelt es sich um die „neu“ gebildeten Embryonen, während es sich bei den beschalten um die bereits länger in der Bruttasche verbleibenden Embryonen handelt. Dabei gilt: je ausgeprägter die Schale, desto älter der Embryo. Auf diese Weise kann unterschieden werden, welche Embryonen bereits beim Einsetzten in das Gewässer in der Bruttasche der Schnecken waren und welche während der Testdauer neu gebildeten wurden.

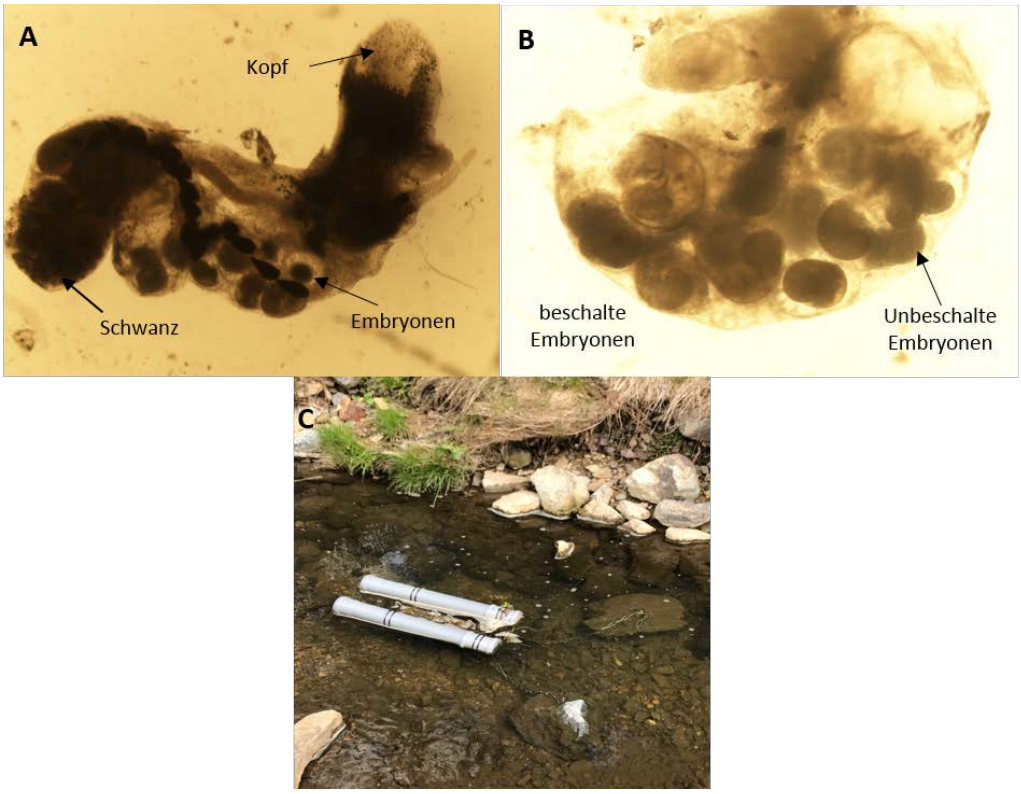

Abbildung 61: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. A: Schnecke ohne Gehäuse; B: Bruttasche mit beschalten und unbeschalten Embryonen; C: Expositionskäfig mit Schwimmkörper.

Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Anstieg der Embryonenzahl (unbeschalt und gesamt) unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers. Oberhalb der Kläranlage konnte keine signifikant erhöhte Embryonenzahl festgestellt werden (Abbildung 62). An der Probenahmestelle oberhalb der Kläranlage Eilendorf kam es sogar zu einer signifikanten Reduktion der Embryonenzahl, während die Anzahl unterhalb der Kläranlage (H2) wieder auf Kontrollniveau war. Aus der Literatur ist bekannt, dass die Temperatur einen deutlichen Einfluss auf die Wirkung embryotoxischer Substanzen haben und deren Sensitivität ändern können.

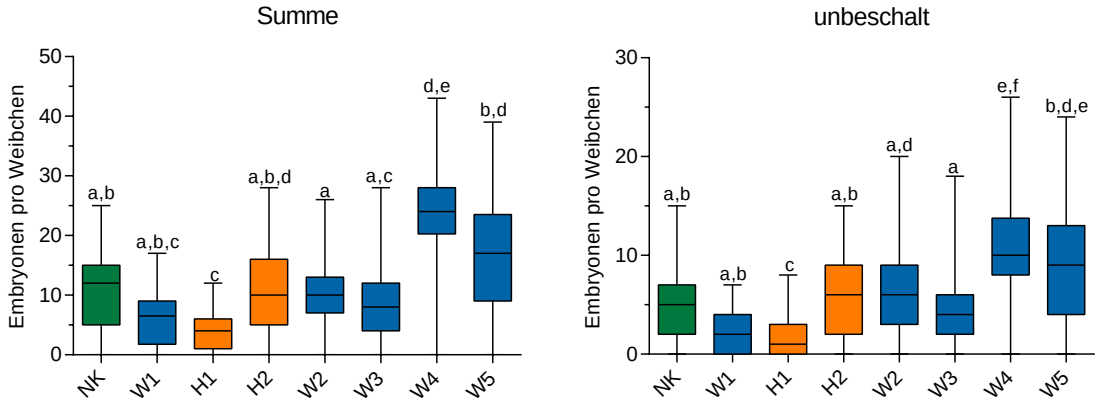

Abbildung 62: Reproduktionstest mit *Potamopyrgus antipodarum*. Die Summe aller Embryonen sowie Anzahl der unbeschalten Embryonen pro Weibchen (mit Min, Max und Boxplots) gegen den Median an den verschiedenen Untersuchungsstandorten in der Wurm und dem Haarbach. Gleiche Buchstaben: kein signifikanter Unterschied zwischen der Stelle; Ungleiche Buchstaben: signifikanter Unterschied zwischen den Stellen.

Dies bedeutet, dass ein Effekt einer Substanz durch steigende Temperaturen erhöht und damit einhergehend auch ein Effekt auf die Embryonenproduktion in Schnecken ausgelöst werden kann (Sieratowicz et al. 2011). Zudem zeigten Gust et al. (2011), dass es bei einer Temperatur von 8 °C zu einer deutlichen Reduktion der Embryonenzahl im Vergleich zu 20 °C kommen kann. Dabei führt eine Temperatur von 20 °C zunächst zu einer Steigerung der Embryonenzahl und geht dann in ein Plateau mit einer anschließenden langsameren Embryonenproduktion über. Um diese Temperatureffekte in die Bewertung der Ergebnisse mit einzubeziehen, wurde an allen Probenahmestellen Temperaturmessungen durchgeführt (Tabelle 31).

Tabelle 31: Mittelwert der Temperaturmessungen über den gesamten Untersuchungszeitraum in der Wurm und dem Haarbach während des Reproduktionstests mit *Potamopyrgus antipodarum*.

Probestelle	Temperatur [°C]
Negativkontrolle	16,0
H1	10,4
H2	12,7
W1	11,3
W2	12,4
W3	10,6
W4	16,1
W5	16,8

Es zeigte sich dabei, dass die Temperatur durch die Kläranlage Aachen-Soers um durchschnittlich 5,5 °C erhöht wird (von 10,6 °C (W3) auf 16,1 °C (W4) und 16,8 °C (W5)). Durch die Kläranlage Eilendorf kommt es zu einer Erhöhung von im Mittel 2,3 °C. Der Temperatureinfluss des Haarbachs auf die Wurm schein vergleichsweise gering zu sein (ca. 1,1 °C).

Anhand der Temperaturergebnisse lässt sich die signifikant verringerte Embryonenzahl an der Stelle H1 erklären. Hier lag die Temperatur gerade bei 10,4 °C und damit deutlich unter dem Temperaturoptimum der Schnecken von 16 °C (Gust et al. 2011; Sieratowicz et al. 2011). Eine ähnliche Temperatur konnte ebenfalls an der Stelle W3 (10,6 °C) gemessen werden. Hier zeigte sich hingegen eine leicht gesteigerte Embryonenzahl auf Kontrollniveau. Eine mögliche Ursache könnte die Wechselwirkung von stofflichen und Temperatureffekten sein.

Unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers kam es zu einem signifikanten Anstieg der Embryonenzahl. Die Temperatur bewegte sich hier zwischen 16,1 °C und 16,8 °C und liegt damit sehr nah am optimalen Temperaturbereich für die Schnecken, wodurch ein Temperatureffekt ausgeschlossen werden kann. Hier scheint die stoffliche Belastung zu der erhöhten Embryonenproduktion beizutragen.

Es ist bekannt, dass eine Vielzahl endokriner Stoffe zu einer Förderung der Embryonenproduktion führen können. Zu diesen gehören Alkylphenole und östrogenartige Substanzen wie z. B. BPA (Zounkova et al. 2014). Ebenso zeigten Studien, dass komplexe Umweltproben, wie Abwasser und Sedimente zu den beobachteten Reproduktionsveränderungen führen können (Magdeburg et al. 2014). Generell ist bekannt, dass (xeno-) Östrogene eine reproduktionsfördernde Wirkung auf die Embryonenproduktion haben (Duft et al. 2003; Galluba und Oehlmann 2012).

Beim Vergleich der erhaltenen Ergebnisse des Reproduktionstests mit den gemessenen Daten im L-YES Assay und im ERα CALUX® Assay werden deutliche Unterschiede sichtbar. Im ERα CALUX® Assay konnte eher eine Verringerung des Potenzials unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers festgestellt werden, während es bei den Schnecken zu einer Reproduktionssteigerung gekommen ist. Der Zusammenhang zwischen der gemessenen östrogenen Aktivität *in vitro* und der Erhöhung der Reproduktion bei Schnecken *in vivo* ist bis heute nicht vollständig geklärt (Stange et al. 2012). Bei *in situ*-Untersuchungen spielen zudem neben der Temperatur noch weitere extrinsische Einflussfaktoren (pH-Wert, DOC-Gehalt etc.) eine Rolle, die in einem *in vitro* Zelltest nicht mitberücksichtigt werden, aber einen Einfluss auf die Schnecken und die Wirkweise von Schadstoffen haben können. Zur weiteren Untersuchung des Temperatureffekts auf die Reproduktion der Schnecken wird aktuell am Institut für Umweltforschung ein Temperaturvergleich mit den Schnecken durchgeführt.

Ein weiterer geeigneter Biomarker zur Untersuchung östrogenwirkender Substanzen sind *in situ*-Expositionen mit Fischen. Dabei hat sich der Nachweis von Vitellogenin in männlichen und juvenilen Fischen als besonders sensitiver Biomarker herausgestellt (Brinkmann et al. 2010). Vitellogenin ist ein Vorläuferprotein des Eidotters, welcher normalerweise in der Leber weiblicher

Fische gebildet und dann von dort ins Blut abgegeben wird. Eine Änderung der Vitellogeninproduktion bei Weibchen oder das generelle Vorkommen bei männlichen und juvenilen Fischen lässt sich als Biomarker für Östrogenität einer Umweltprobe heranziehen. Da bei dieser Methode das Blutserum der Fische untersucht wurde und es sich damit um einen Tierversuch handelt, wurde parallel eine tierversuchsfreie und nicht-invasive Methode angewandt und die Ergebnisse beider Methoden miteinander verglichen. Bei der nicht-invasiven Methode wird lediglich der Mucus (Kiemenschleim) der Fische benötigt, der mit Hilfe eines Körperabstriches erhalten wird. Der Fisch kann anschließend sofort zurück in das Gewässer gesetzt werden. Die Fische wurden für die Untersuchungen in Käfige eingesetzt und für zehn Tage in der Wurm exponiert.

Um zuvor den allgemeinen Gesundheitszustand der Forellen nach der Käfigexposition zu bewerten, wurden der Konditionsfaktor (KF), der lebersomatische Index (LSI) und der gonadosomatische Index (GSI) untersucht. Dabei zeigte sich in der Bewertung des KF und GSI kein signifikanter Unterschied zu den in den Kontrolltieren erhaltenen Ergebnissen (Abbildung 63). Dies deutet darauf hin, dass die Tiere weder in ihrem allgemeinen Zustand (KF) eingeschränkt waren, noch, dass es zu einer Förderung oder Hemmung der Geschlechtsreife (GSI) gekommen ist. Die Analyse des LSI zeigte einen tendenziellen Anstieg des Faktors zur W5 hin. Hier scheint es zu einer Erhöhung der Biotransformation in den Tieren gekommen zu sein, die auf eine erhöhte chemische Belastung hindeutet.

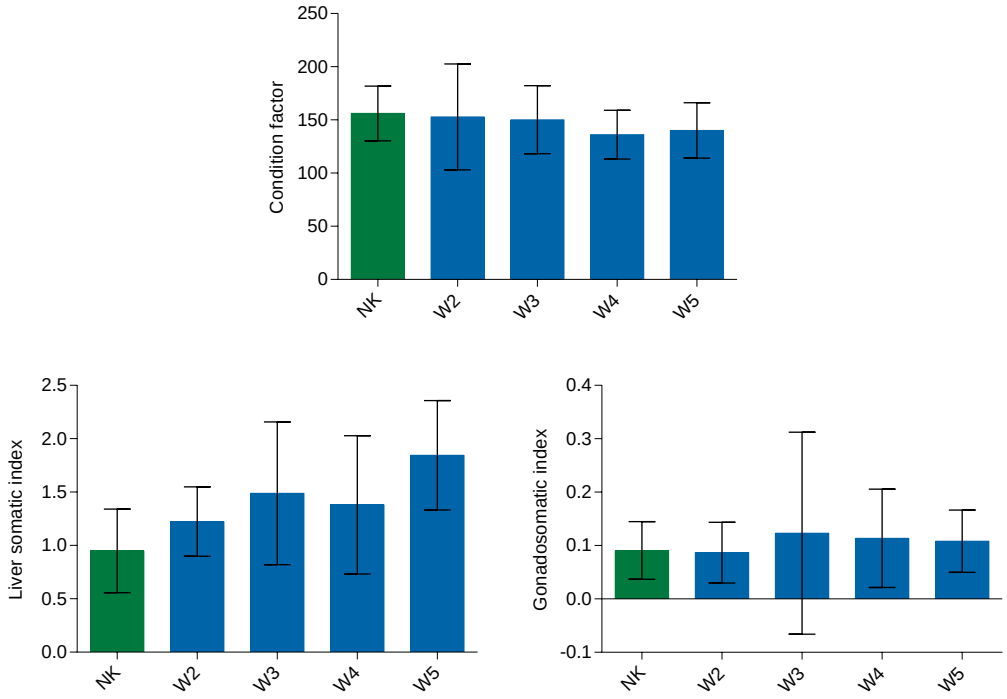

Abbildung 63: Expositionsversuche mit *Oncorhynchus mykiss* in der Wurm. Untersuchungen des Konditionsfaktors, des lebersomatischen Faktors sowie des gonadosomatischen Faktors mit dazugehörigen Standardabweichungen

Die gemessenen Kontrollwerte der Tiere befinden sich im Bereich anderer Kontrolltiere (Brinkmann et al. 2010; Orrego et al. 2006). Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Kontrolltiere in ihrer Fitness nicht eingeschränkt waren und damit keinen Einfluss auf die Messergebnisse der aus der Wurm enthaltenen Forellen hatten.

Die Ergebnisse beider Methoden zeigten keine signifikante Steigerung der Vitellogeninkonzentration in juvenilen Regenbogenforellen. Die Werte aller gemessenen Fische bewegen sich im Bereich der Negativkontrolle. Die nicht-invasive Methode zeigte damit zwar ein vergleichbares Ergebnis, aufgrund der Tatsache, dass es keine positiven Befunde gab, kann keine abschließende Evaluierung gemacht werden, ob die Sensitivität beider Methoden vergleichbar ist.

Aus der Literatur sind viele Beispiele bekannt, die eine Steigerung der Vitellogeninproduktion in männlichen und juvenilen Forellen zeigten, wenn diese in östrogenaktivem Abwasser exponiert werden (An et al. 2008; Bjerregaard et al. 2006; Bjerregaard et al. 2008; Burki et al. 2006). In den Untersuchungen der Wurm zeigte sich sowohl im L-YES Assay und im ERα Calux® Assay als auch in den *in situ*-Untersuchungen mit den Schnecken ein östrogenes Potenzial. Da allerdings in den Forellen keine gesteigerte Vitellogeninproduktion nachgewiesen werden konnte, scheint die östrogene Belastung in der relativ kurzen Expositionszeit (zehn Tage) als eher gering eingestuft zu sein. An et al. (2008) konnten bei männlichen Fischen erst eine signifikante Induktion von Vitellogenin bei einer Belastung mit reinem Abwasser aus dem Kläranalgenablauf nachweisen (100 %

Abwasser). Auch wurde gezeigt, dass die Expositionszeit eine entscheidende Rolle in Bildung von Vitellogenin spielt. Bei Fischen, die drei Monate mit aufbereiteten Abwasser belastet wurden, konnte eine signifikant erhöhte Vitellogeninrate sowohl in männlichen als auch in weiblichen Fischen (Abwasseranteil 50 %) nachgewiesen werden Das Konsortium aus SchussenAktiv konnte allerdings in exponierten Fischen (Exposition über drei bis vier Monate) keine gesteigerte Vitellogeninkonzentration an den unterschiedlichen Probenahmestellen nachweisen. Dies verdeutlicht, dass neben der Expositionszeit der Belastungsgrad des Gewässers ein entscheidender Faktor ist, um die Produktion von Vitellogenin in juvenilen Regenbogenforellen anzuregen und allein die Dauer der Exposition nicht maßgeblich ist.

Zusammenfassend zeigen sämtliche zellbasierte Testsysteme und der Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke zur Untersuchung des endokrinen Potenzials positive Befunde. Dabei ist nicht immer eindeutig nachweisbar, ob die Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf einen negativen Einfluss auf die Gewässer ausüben. In den beiden rezeptorvermittelten Testsystemen (L-YES Assay und ERα CALUX® Assay) zeigte sich unterhalb beider Kläranlagen eher ein Verdünnungseffekt als eine Steigerung des östrogenen Potenzials und auch in der Untersuchung der Steroidgenese mittels H295R Assay lässt sich kein eindeutiger Einfluss durch die Kläranlagen feststellen. Allerdings lässt sich bei der Untersuchung der Effekte auf die Steroidgenese der Einfluss der Kläranlagen auch nicht gänzlich ausschließen, da beide Kläranlagen zu keiner vollständigen Eliminierung der Spurenstoffe, die für die Effekte verantwortlich sind, führen. Da jedoch die Kläranlagenabläufe teilweise endokrines Potenzial aufweisen, ist grundsätzlich auch eine Beeinflussung der Vorfluter zu erwarten. Auf der anderen Seite zeigten die *in situ*-Untersuchungen mit den Regenbogenforellen keine Steigerung der Vitellogeninproduktion in juvenilen Fischen, während der Reproduktionstest mit *P. antipodarum* eine gesteigerte Embryonenzahl an den beiden Probenahmestandorten W4 und W5 unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers zeigte. An den Probenahmestellen oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers und unterhalb der Kläranlage Eilendorf war dagegen kein Einfluss feststellbar. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich also ein Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers bezogen auf die Reproduktion der Zwergdeckelschnecke nicht ausschließen. Allerdings muss erwähnt werden, dass gerade endokrine Disruptoren ubiquitär verbreitet sind und durch diffuse Eintragsquellen in Gewässer eingetragen werden können. So zeigten ebenfalls die Untersuchungen des RÜB (vgl. Kap. 5.2), dass es durch einen Abschlag und damit verbunden zu einem Eintrag von ungeklärtem Abwasser in Wurm zu einer Steigerung (fünf- bis zwanzigfach) des östrogenen Potenzials an der Probenahmestelle W3 kommen kann. Im Projekt COMPREHENT wurde gezeigt, dass kommunale Kläranlagen östrogen aktive Substanzen, wie Alkylphenole, emittieren können (Eggen et al. 2003), die sich dann im Sediment ablagern (Pillon et al. 2004). Diese können anschließend durch z. B. einen RÜB-Abschlag wieder remobilisiert werden und so erneut ein Risiko für aquatische Organismen darstellen. Dies unterstreichen die Untersuchungen der Sedimentproben, bei denen an allen untersuchten Probenahmestellen ein östrogenes Potenzial nachweisbar war.

Insgesamt zeigten die Ergebnisse die Notwendigkeit eine diversifizierte Biotestbatterie anzuwenden, um das umfassende endokrine Potenzial einer Umweltprobe untersuchen zu können. Während *in vitro*-Methoden in der Lage sind eine Vielzahl Proben in relativ kurzer Zeit zu untersuchen, geben *in vivo* und *in situ*-Untersuchungen die Möglichkeit umweltrelevante und realistische Szenarien abzubilden, die ebenfalls extrinsische Faktoren der Umwelt mit einbeziehen, was durch die Testung von nur *in vitro*-Methoden so nicht möglich wäre.

Gentoxisches und mutagenes Potenzial

Zur Untersuchung des mutagenen und gentoxischen Potenzials der Gewässerproben wurden zum einen die beiden *in vitro*-Methoden, Ames-Fluktuation Assay und Mikrokerntest, und zum anderen ebenfalls *in situ*-Expositionsversuche mit den Regenbogenforellen *Oncorhynchus mykiss* durchgeführt. Genau wie bei der Bestimmung des Vitellogeningehalts hat sich die Untersuchung der Mikrokerne im Blut der Regenbogenforellen als geeigneter und sensitiver Endpunkt herausgestellt (Brinkmann et al. 2010).

Aus der Literatur ist bekannt, dass eine Vielzahl an Substanzen ein gentoxisches oder mutagenes Potenzial in Gewässern haben können. Zu diesen Substanzen gehören Flammschutzmittel, Methyltriclosan, Carbendazim oder Schwermetalle, wie Nickel und Arsen (Binelli et al. 2009; Kumar et al. 2013; Palermo et al. 2015).

Im Ames-Fluktuation Assay wurden insgesamt acht Screenings durchgeführt: vier Screenings in Phase 1a (Proben W2, W3 und W4) und vier in Phase 1b (H1, H2, W1, W2, W3 und W5). Es wurden sowohl aufkonzentrierte Proben des Gewässers als auch Extraktproben der Sedimente an den entsprechenden Probenahmestellen untersucht.

Es zeigte sich in den ersten vier Screenings der Phase 1a in keiner der untersuchten Proben ein mutagenes Potenzial im Ames-Fluktuation Assay (Tabelle 32). Dagegen zeigen die Ergebnisse der vier Screenings der Phase 1b vermehrt positive Befunde, die (je nach Probenahmestelle) in ein bis zwei Messungen vorkamen. Zudem zeigte sich, dass das gemessene mutagene Potenzial in fast allen Screenings erst ab einem REF von 25 oder 50 messbar war, was auf ein generell geringes mutagenes Potenzial hindeutet. Bereits oberhalb der Kläranlage Eilendorf (H1) konnte in 50 % der Screenings ein mutagenes Potenzial nachgewiesen werden. Lediglich während SCR 1-1 konnte an der Probenahmestelle W5 nach metabolischer Aktivierung (+S9-Mix) ein mutagenes Potenzial mit einem REF von 25 nachgewiesen werden, welches genauso auch am Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers messbar war. Anhand der durchgeführten Untersuchungen ist kein eindeutiger Einfluss der Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf auf die Gewässer zu erkennen.

Tabelle 32: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse im Ames-Fluktuation Assay mit aufkonzentrierten Proben aus Phase 1a (1-1 bis 1-4) und Phase 1b (2-1 bis 2-4). Grün: kein mutagenes Potenzial; Orange: mutagenes Potenzial im Stamm *S.typhimurium* TA98 ohne (-S9) bzw. mit (+S9) der metabolischen Aktivierung; Weiß: keine Probenahme

Screening/PN-Stelle	1-1	1.2	1-3	1-4	2-1	2-2	2-3	2-4
W1	-	-	-	-				
W2						REF 50 (-S9) ab REF 12,5 (+S9)		
W3						REF 50 (+S9)-		
W5					ab REF 25 (+S9)			
H1	-	-	-	-		REF 50 (+S9)-		REF 50 (+S9)-
H2	-	-	-	-	REF 50 (+S9)			ab REF 25 (+S9)-

Auffällig ist die Probenahmestelle W1, an der zu keinem Zeitpunkt ein mutagenes Potenzial nachgewiesen wurde (Beprobung im Rahmen der Phase 1b, SCR 2-1 bis 2-4). W1 befindet sich in der Wurm noch vor Mündung des Haarbachs, kurz nachdem die Wurm aus einem langen, verrohrten Abschnitt wieder an die Oberfläche gelangt. Alle anderen Probenahmestellen zeigen grundsätzlich ein geringfügig mutagenes Potenzial.

Vergleicht man die Screenings während Regen-und Trockenwetter so ist kein eindeutiger Einfluss erkennbar. Zwar zeigte das Screening 2-2 (Regenwetter mit vorangegangenem RÜB-Abschlag) an drei der sechs Probenahmestellen im Haarbach und der Wurm ein mutagenes Potenzial, allerdings wurde während SCR 2-3, welches ebenfalls während einer Regenwetterperiode durchgeführt wurde, an keiner der untersuchten Stellen ein mutagenes Potenzial nachgewiesen. Mutagene Stoffe sind in der Umwelt ubiquitär verbreitet (Kosmehl et al. 2004). Ein Einfluss des RÜB-Abschlags auf die Ergebnisse im Rahmen des SCR 2-2 ist denkbar.

Unter Verwendung des Stamms TA100 wurde in keiner der Gewässer- oder Kläranlagenproben ein mutagenes Potenzial nachgewiesen. Generell ist bekannt, dass der Stamm TA98 und damit der Nachweis für Rasterschubmutationen, der sensitivere Endpunkt ist (Kosmehl et al. 2004). Die Unterschiede in der Sensitivität scheinen dabei abhängig von den in den Proben enthaltenen dominierenden Substanzen zu sein. Basenpaarmutationen können beispielsweise durch die Präsenz von PAK ausgelöst werden. Diese benötigen in der Regel eine metabolische Aktivierung, während

andere Substanzen keine Aktivierung benötigen und dennoch ein mutagenes Potenzial auslösen (Kosmehl et al. 2004).

Die Untersuchung der Sedimente an den entsprechenden Probenahmestellen zeigen, dass partikelgebundene Stoffe einen Beitrag zu den gefundenen Effekten leisten können. In allen untersuchten Sedimentextrakten konnte ein mutagenes Potenzial sowohl im Stamm TA98 (Rasterschubmutationen) als auch im Stamm TA100 (Basenpaarmutationen) mit und ohne metabolischer Aktivierung (S9-Mix) nachgewiesen werden (Abbildung 64).

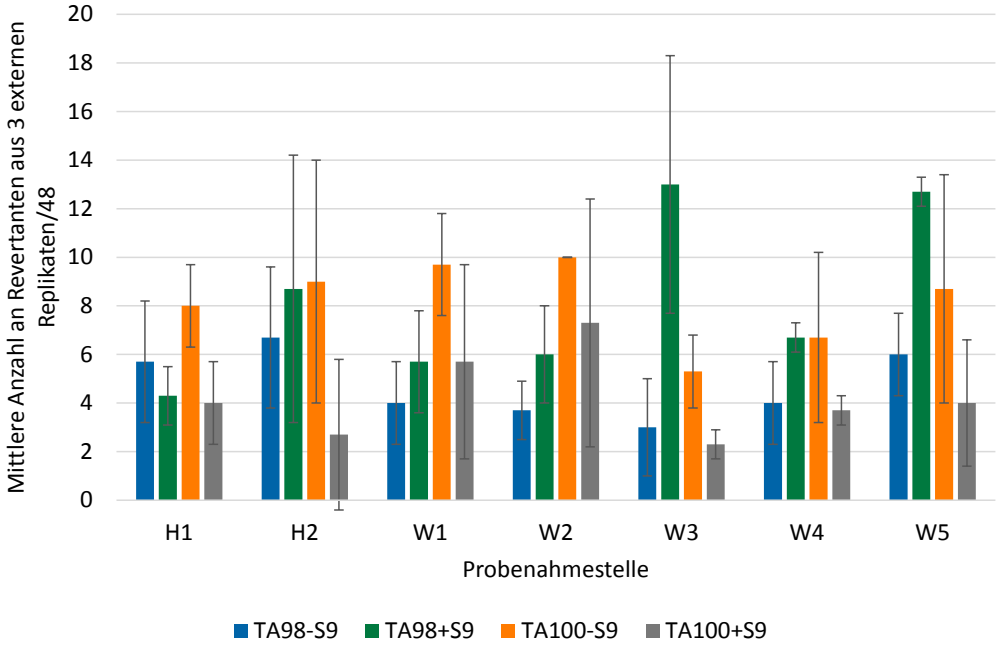

Abbildung 64: Übersicht der erhaltenen Ergebnisse im Ames-Fluktuation Assay mit aufkonzentrierten Proben aus der extrahierten Sedimentproben der Wurm und des Haarbachs mit Standardabweichung. Untersucht wurden die Stämme TA98 und TA100 sowie mit als auch ohne Zugabe des S9-Mixes.

Eine mögliche Erklärung für die Effekte im Stamm TA100 in den extrahierten Sedimentproben im Vergleich zu den Gewässeruntersuchungen könnte sein, dass eine Vielzahl an Substanzen, die zu Basenschubmutationen führen, ein starkes Sorptionsverhalten haben und daher nicht leicht in die wässrige Phase remobilisiert werden können. Durch die Extraktion der Sedimente werden die an den Partikeln sorbierten Stoffe mit Hilfe von Lösungsmitteln herausgelöst und können dann zu den beobachteten Effekten führen. Eine Vielzahl an Endpunkten kann nur nach Extraktion der Sedimente untersucht werden, da z. B. in Zelltests das native Sediment nicht eingesetzt werden kann (Kosmehl et al. 2004; Ohe et al. 2004). Die Untersuchung der Sedimentextrakte stellt demnach ein Worst-Case-Szenario dar. Die Ergebnisse zeigen allerdings, dass durch Aufwirbelung der Sedimente durch zum Beispiel Starkregenereignisse oder RÜB-Abschläge vor allem leicht sorbierte

Substanzen wieder remobilisiert und zu den beobachteten Effekten in den Gewässerproben beitragen können.

Die beschriebenen Ergebnisse deuten auf die Anwesenheit von diversen Substanzen in Sedimenten des Haarbaches und der Wurm hin, welche in der Lage sind, mit und ohne metabolische Aktivierung Mutationen im *Salmonella typhimurium* hervorrufen zu können. Allerdings kann zum jetzigen Zeitpunkt kein eindeutiger Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers oder Eilendorf auf die Wurm oder den Haarbach festgestellt werden. Auch ein Einfluss des Haarbachs auf die Wurm kann nicht nachgewiesen werden. Das breite Spektrum der Präsenz von möglichen diffusen (Rußpartikeln, Reifenabrieb, Landwirtschaft) und punktuellen (Altlasten) Quellen für mutagene Stoffe führt zur nahezu ubiquitären Verbreitung von potenziellen Mutagenen und erschwert eine eindeutige Aussage über die möglichen Verursacher (Ohe et al. 2004).

Die Untersuchung des gentoxischen Potenzials wurde mit Hilfe des Mikrokerntests sowohl *in vitro* als auch *in situ* durchgeführt. Die *in vitro*-Messung wurde dabei mit den V79-Zellen lediglich in Phase 1a durchgeführt und war in Phase 1b kein Bestandteil der Biotestbatterie. Bei den *in situ*-Untersuchungen wurden pro Fisch zwei Blutausstriche angefertigt von denen je 1.000 Zellen ausgezählt und die Mikrokerne notiert wurden.

Es konnte in keiner der untersuchten Proben der Wurm eine signifikant erhöhte Mikrokernrate in den V79-Zellen festgestellt werden und auch die Untersuchungen in den Fischen zeigte eine generell geringe Mikrokernrate, die im Vergleich zur Negativkontrolle nicht signifikant war.

Bei näherer Betrachtung der Untersuchungen im Mikrokerntest und im Ames-Fluktuations Assay scheint generell eine geringe Belastung an Gentoxizität und Mutagenität in der Wurm vorzuliegen. Es konnten lediglich im Ames-Fluktuations Assay in den aufkonzentrierten Proben (REF 25 oder 50) Effekte nachgewiesen werden, die in Umweltkonzentrationen so nicht nachweisbar waren. Dabei konnte kein Einfluss der Kläranlagen Aachen-Soers oder Eilendorf auf die Gewässer festgestellt werden und eher die generell ubiquitär verbreiteten Stoffe scheinen zu den gelegentlich positiven Befunden beizutragen. Dabei können ebenfalls die Sedimente und das RÜB Soers als mögliche Quelle nicht ausgeschlossen werden.

Zusammenfassung der ökotoxikologischen Untersuchungen

Die umfassenden Untersuchungen der Proben aus der Wurm und dem Haarbach zeigten im Ames-Fluktuation Assay sowie in allen endokrinen Testsystemen (L-YES, ERα-CALUX® und H295R Steroidgenese Assay) ein positives Ergebnis. Dagegen wurden im Fischembryo-Toxizitätstest und im Mikrokerntest keine Effekte nachgewiesen. Mehrheitlich konnte dabei kein Zusammenhang mit den Kläranlagen Aachen-Soers oder Eilendorf festgestellt werden. Gerade die vereinzelten positiven Befunde im Ames-Fluktuation Assay weisen auf ein ubiquitäres Vorkommen mutagener Substanzen in der Umwelt hin. Mutagene Substanzen können durch diffuse und punktuelle Ein-

tragspfade in die Gewässer eigetragen werden und dann zu den beobachten Effekten führen. Ein anderes Bild zeigte sich bei der Untersuchung des endokrinen Potenzials:

- Die beiden rezeptorvermittelten Testsysteme (L-YES Assay und ERα CALUX® Assay) zeigten unterhalb beider Kläranlagen eher einen Verdünnungseffekt als eine Steigerung des östrogenen Potenzials.
- Die Untersuchung der Steroidgenese mittels des H295R Assays zeigte keinen eindeutigen Einfluss durch die Kläranlagen.
- Die *in situ*-Untersuchungen mit den Regenbogenforellen zeigte keine Steigerung der Vitellogeninproduktion in juvenilen Fischen.
- Der Reproduktionstest mit der Zwergdeckelschnecke zeigte eine gesteigerte Embryonenzahl an den beiden Probenahmestellen W4 und W5 unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers. An den Probenahmestellen oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers und unterhalb der Kläranlage Eilendorf war dagegen kein Einfluss feststellbar. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich ein Einfluss der Kläranlage Aachen-Soers bezogen auf die Reproduktion der Zwergdeckelschnecke ableiten.

Diese Ergebnisse der endokrinen Tests veranschaulichen dabei, dass die *in vitro*-Ergebnisse nicht auf die *in situ*-Situation übertragen werden kann. Während die *in vitro*-Testsysteme keinen eindeutigen Nachweis eines Einflusses der Kläranlagen lieferten, zeigte sich im Reproduktionstest ein anderes Bild. Allerdings muss erwähnt werden, dass gerade endokrine Disruptoren ubiquitär verbreitet sind und durch diffuse Eintragsquellen in Gewässer eingetragen werden können. In Phase 2 werden sämtliche endokrine Testsysteme (*in vitro* und *in situ*) erneut angewendet, so dass untersucht werden kann, ob die Ozonung des Abwassers zu einer Eliminierung der Substanzen führt, die zu der gesteigerten Reproduktion der Zwergdeckelschnecken geführt haben.

Die bereits erwähnten diffusen Eintragspfade zeigten sich auch in der Untersuchung der Sedimente. Die Untersuchungen der Sedimentextrakte der Proben aus dem Haarbach und der Wurm zeigten dabei ein teratogenes, endokrines und mutagenes Potenzial. Hier lässt sich ein Einfluss der Sedimente auf die positiven Befunde in den Gewässern nicht ausschließen. Die Untersuchungen eines RÜB-Abschlags (vgl. Kap. 5.2) verdeutlichen dabei, welche Auswirkungen die Aufwirbelung des Sediments haben kann. So konnte durch den Abschlag ein fünf- bis zwanzigfach erhöhtes östrogenes Potenzial unterhalb des RÜB (W3) beobachtet werden. Durch solch einen Abschlag kann es außerdem zur Aufwirbelung und Verdriftung von Sedimenten kommen, die ebenfalls einen Beitrag an den beobachteten Effekten haben können, wenn die sedimentgebundenen Partikel wieder remobilisiert werden.

Die unterschiedlich ausfallenden Ergebnisse zeigen die Notwendigkeit, eine Biotestbatterie anzuwenden, um das Risiko, das von Spurenstoffen ausgeht, bewerten zu können. Sowohl die hier durchgeführten Untersuchungen als auch vorangegangen Studien veranschaulichen, dass eine verlässliche Abschätzung des ökotoxikologischen Potenzials von zu untersuchenden Umweltpro-

ben alleine aufgrund eines Toxizitätstests an nur einem einzelnen Organismus nicht möglich ist (Amler et al. 2017; RiSKWa 2016; Wernersson et al. 2015). Dafür ist immer eine Kombination mehrerer Biotests, eine sogenannte Biotestbatterie, notwendig. In einer Biotestbatterie ist es zudem sinnvoll, akute, chronische und mechanismusspezifische Untersuchungen mit einzubeziehen. Die Vorteile von *In vitro*-Tests für die Abwasserbewertung bestehen darin, dass die Tests sensitiv, spezifisch für einen gegebenen Wirkmechanismus sowie einfach und kostengünstig anzuwenden und damit für Routineuntersuchungen geeignet sind. Andererseits ist die ökologische Relevanz der Befunde von i*n vitro*-Tests eingeschränkt, da lediglich Wirkpotenziale, aber keine Effekte bei intakten Organismen erfasst werden. Dagegen geben *in vivo* und *in situ*-Untersuchungen die Möglichkeit, umweltrelevante und realistische Szenarien abzubilden, die ebenfalls extrinsische Faktoren der Umwelt mit einbeziehen, was durch die Testung von nur *in vitro*-Methoden so nicht möglich wäre.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Belastung der Vorfluter ausgehend von Kläranlageneinleitungen bei den meisten Tests nicht eindeutig ist – im Umkehrschluss also vermutlich als nicht sehr ausgeprägt zu bewerten ist. Dies weist auch auf eine gute Reinigungsleistung der Kläranlagen hin. Andererseits scheinen die diffusen Belastungen im Untersuchungsgebiet eine mindestens gleichwertige Belastung für die Vorfluter darzustellen. Bezogen auf die ökotoxikologischen Potenziale haben sich vor allem das endokrine, aber auch das mutagene Potenzial (Ames-Fluktuations Assay) als relevantes Bewertungssystem herausgestellt.

5.3.4 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen

Die Analysen der Proben, die in den Screenings gezogen wurden, zeigten bezüglich der Keimzahlen von *E. coli* und Enterokokken keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und W1, W2, W3 und W5 in der Wurm. Es scheint keinen signifikanten Einfluss des Kläranlagenablaufes der Kläranlage Aachen-Soers auf die Wurm zu geben. Da auch die Probenahmestellen im Haarbach vor und nach Einleitung des Ablaufes der Kläranlage Eilendorf eine vergleichbar hohe Keimzahl aufweisen, scheint auch diese Kläranlage bezüglich der Keimzahl keinen signifikanten Einfluss auf den Haarbach zu haben (Abbildung 65, Abbildung 66). Demzufolge ist ein Einfluss des Haarbaches auf die Keimzahlentwicklung in der Wurm auszuschließen. Des Weiteren wurde beobachtet, dass die Keimzahlen während der Trockenwetterscreenings zum Teil höher als bei den Regenwetterscreenings lagen. Es ist allerdings kein signifikanter Unterschied zu beobachten. Für *E. coli* lagen die Werte an den Probenahmestellen H1, H2, W1, W2, W3 und W5 zwischen $5{,}0 \cdot 10^2$ und $3{,}77 \cdot 10^4$ KBE/ml. Für Enterokokken wurden an den Probenahmestellen H1, H2, W1, W2, W3 und W5 Werte zwischen $2{,}82 \cdot 10^1$ und $5{,}37 \cdot 10^3$ KBE/ml ermittelt. Literaturdaten von Studien mit ähnlichen Probenahmestellen im Gewässer zu W2, W3 und W5 (z. B. Gewässeranalyse vor und nach einer Kläranlage), zeigten Keimzahlen für *E. coli* im Bereich $1{,}0 \cdot 10^3$–$1{,}0 \cdot 10^5$ KBE/ml und für Enterokokken $1{,}0 \cdot 10^2$–$5{,}0 \cdot 10^4$ KBE/ml (Abegglen et al.

2009a; Gasse et al. 2009). Damit liegen die Keimzahlen vor und nach der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers unter den in ähnlichen Umweltsituationen gefundenen Literaturdaten.

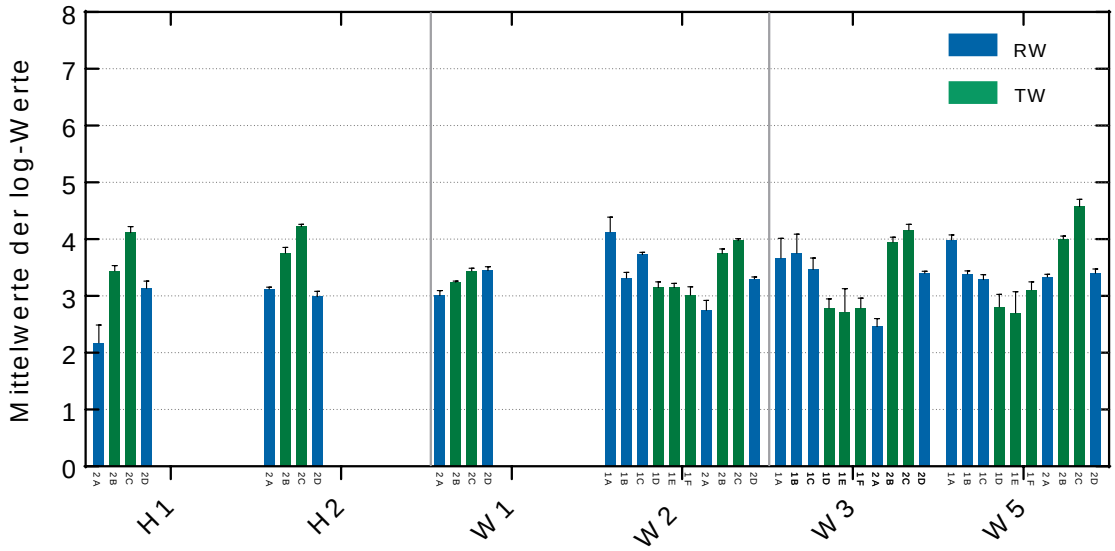

Abbildung 65: Keimzahlbestimmung *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm. H1/H2/W1 n=4; W2/W3/W5 n= 10 (s. außerdem: Tabelle 20).

Die univariate statistische Analyse der Keimzahlen der Probestellen in der Wurm oberhalb und unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers zeigt, dass diese nicht signifikant unterschiedlich sind (Tabelle 33). Auch die Kläranlage Eilendorf hat keinen signifikanten Einfluss auf die Keimzahl im Haarbach und in der Wurm (Tabelle 34).

Korrelationsanalysen der Keimzahlen zwischen dem Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers (AF) und der Probestelle in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers (W5) ergaben eine schwache, aber signifikante positive Korrelation der Keimzahlen von *E. coli*, aber keinen signifikanten Unterschied für die Keimzahl der Enterokokken (Tabelle 33).

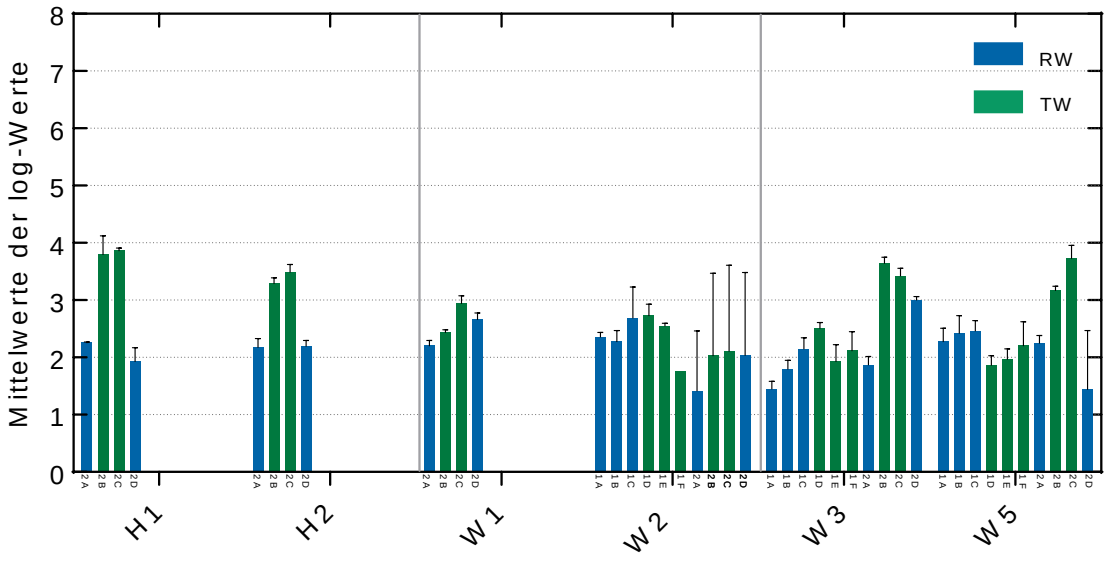

Abbildung 66: Keimzahlbestimmung Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm. H1/H2/W1 n=4; W2/W3/W5 n= 10 (s. außerdem: Tabelle 20).

Für *E. coli* (Abbildung 67 bis Abbildung 69) wurden keine signifikanten Antibiotikaresistenzen gegen Gentamycin gefunden. Die gefundenen Resistenzen gegen Ampicillin waren mit bis zu 93 % an der Stelle W1 am höchsten. An den weiteren Probenahmestellen betrugen die Ampicillinresistenzen durchschnittlich ca. 40 %, was im Rahmen der bisherigen Erkenntnisse (vgl. Kap. 5.1.7) liegt. Auffällig sind die besonders hohen gefundenen Resistenzen an den Probenahmestellen W1 und W2 welche innerhalb eines Screenings Ende August (Trockenwetterbedingungen) auftraten. Für diese vergleichsweisen hohen gefundenen Resistenzen gibt es derzeit noch keine Erklärung. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass diese sehr hohen Resistenzwerte auf einen Fehler in der Probenbearbeitung (z. B. Antibiotikadosierung oder Lagereffekte) zurückzuführen sein könnten.

Es konnte beobachtet werden, dass die Resistenzen von *E. coli* sich gegen Sulfamethoxazol/Trimethoprim für Regen- und Trockenwetter unterschieden. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich ein Resultat der Ausführung der Experimente. Für die Regenwetterscreenings wurde Sulfamethoxazol zunächst als Einzelpräparat verwendet. Hier wurden Resistenzen von bis zu 100 % im Vergleich zu einer Kontrollplatte ohne Antibiotikum detektiert, so dass Sulfamethoxazol als Einzelpräparat keinen Effekt auf *E. coli* zu haben scheint. Da Sulfamethoxazol im humanmedizinischen Bereich als Kombinationspräparat gegen Cystitis und andere Infektionen mit Trimethoprim verschrieben wird (Verhältnis 5:1) wurde für die Trockenwetterscreenings das Kombinationspräparat aus beiden Antibiotika verwendet. Die Resistenzen wurden dadurch in den meisten Fällen auf unter 40 % reduziert. *E. coli* zeigte innerhalb der Screenings der Wurm und des Haarbaches keine nennenswerten Resistenzen gegenüber Cefotaxim.

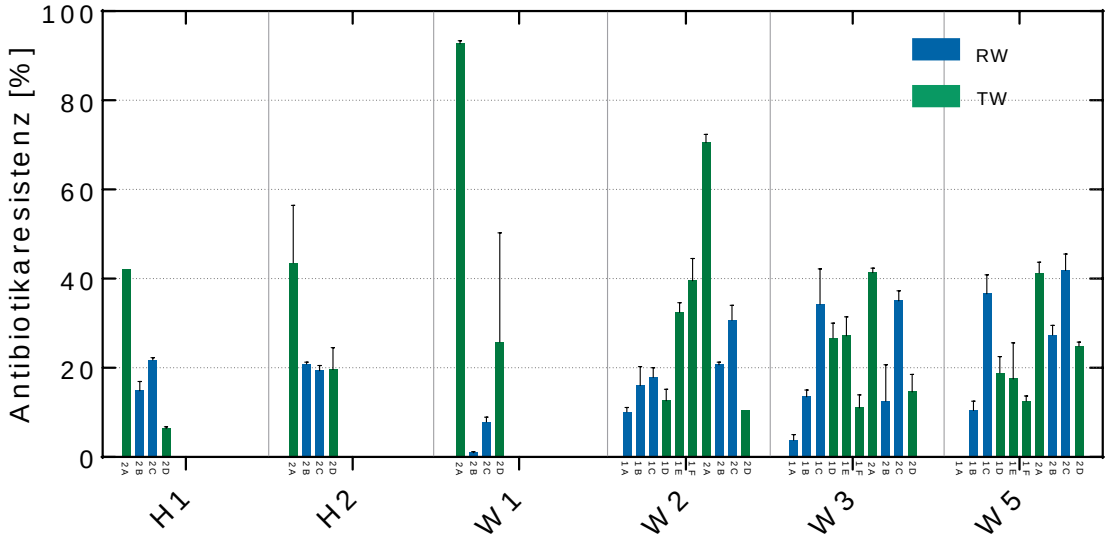

Abbildung 67 Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

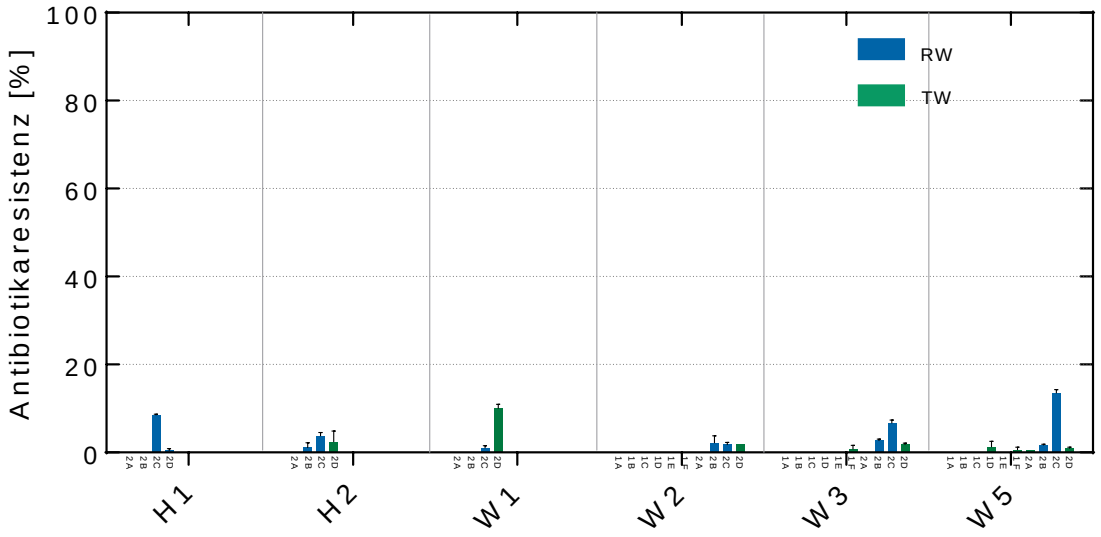

Abbildung 68 Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

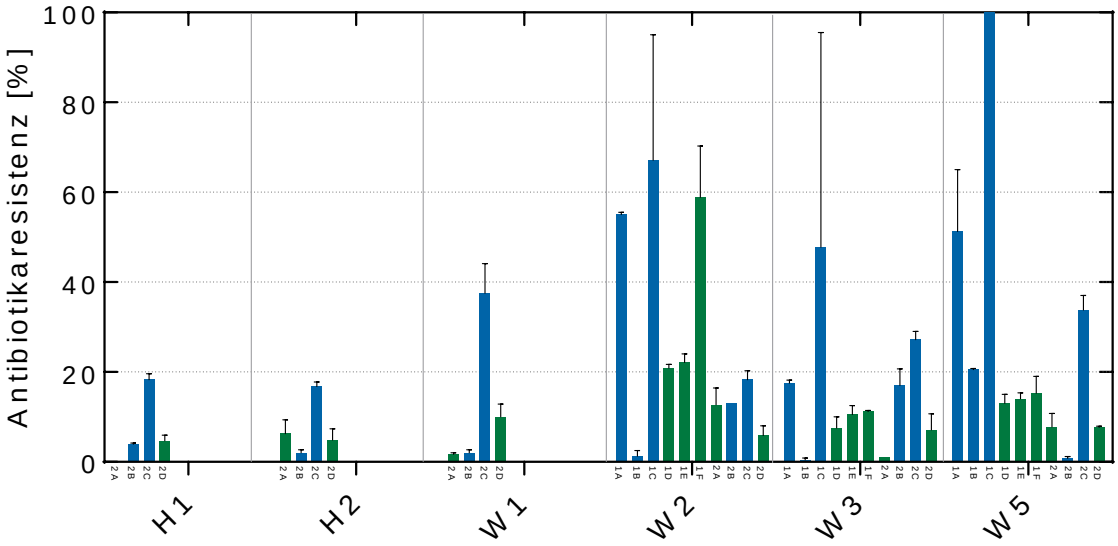

Abbildung 69: Antibiotikaresistenzen *E. coli* an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Sulfamethoxazol/Trimethoprim (blau = RW, grün = TW) , für 1A-C wurde nur Sulfamethozol eingesetzt, danach in Kombination mit Trimethoprim (s. außerdem: Tabelle 20).

Für Enterokokken (Abbildung 70 bis Abbildung 73) lagen die Resistenzen gegen Ampicillin und Vancomycin unterhalb von 20 %. Die Resistenzen gegen Gentamycin wurden mit Werten bis zu 56 % ermittelt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Regen- und Trockenwetterscreenings. Untersuchungen von Solbach (2013) zeigten eine Sensitivität von Enterokokken gegenüber Gentamycin von unter 60 %. Zusätzlich wurden 55 % der *E. faecalis* Stämme (die Art, zu der die Gattung Enterokokken gehört), welche in den USA isoliert wurden, als sehr resistent gegenüber Gentamycin beschrieben (Rüden und Edmond 1998). Die Resultate aus dem Projekt DemO$_3$AC bestätigen somit die weit verteilte natürliche Resistenz von Enterokokken gegen Gentamycin. Die Resistenzen gegen Clarithromycin wurden mit bis zu 31 % in der Wurm und mit bis zu 40 % im Haarbach detektiert.

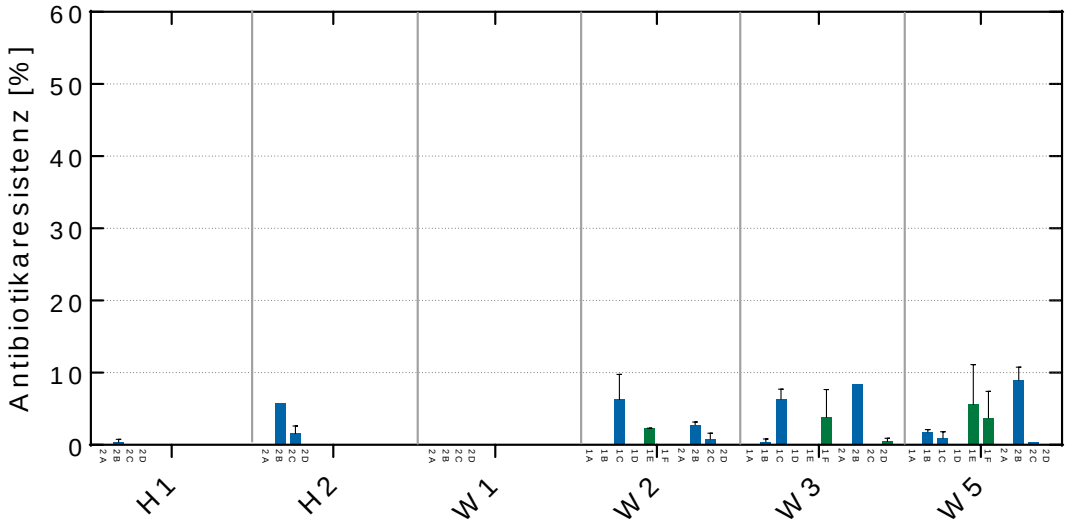

Abbildung 70: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Ampicillin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

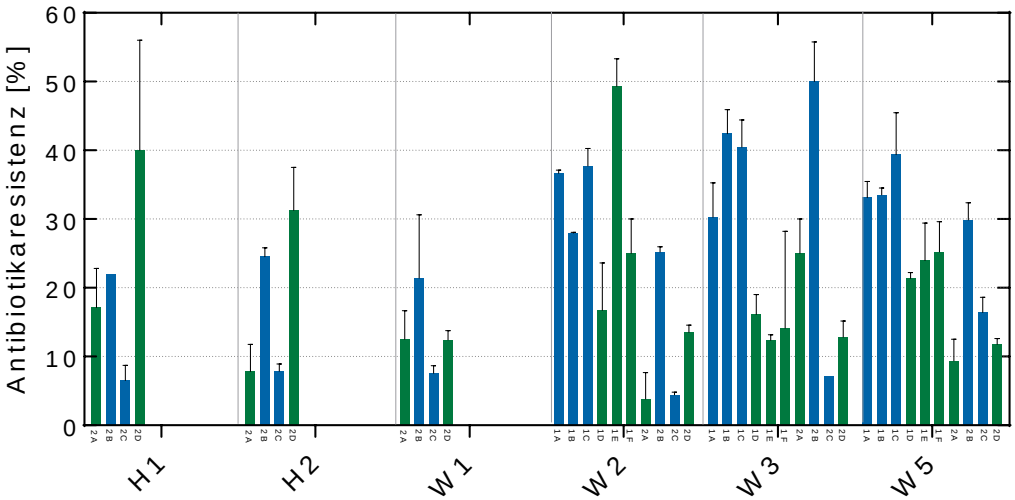

Abbildung 71: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Da Gentamycin ein häufig verschriebenes Antibiotikum in der Tierhaltung ist, könnten die gefundenen Resistenzen aufgrund von Gülleausbringung auf den an die Wurm angrenzenden Agrarlandschaften bzw. die angrenzenden Viehweiden hervorgerufen worden sein.

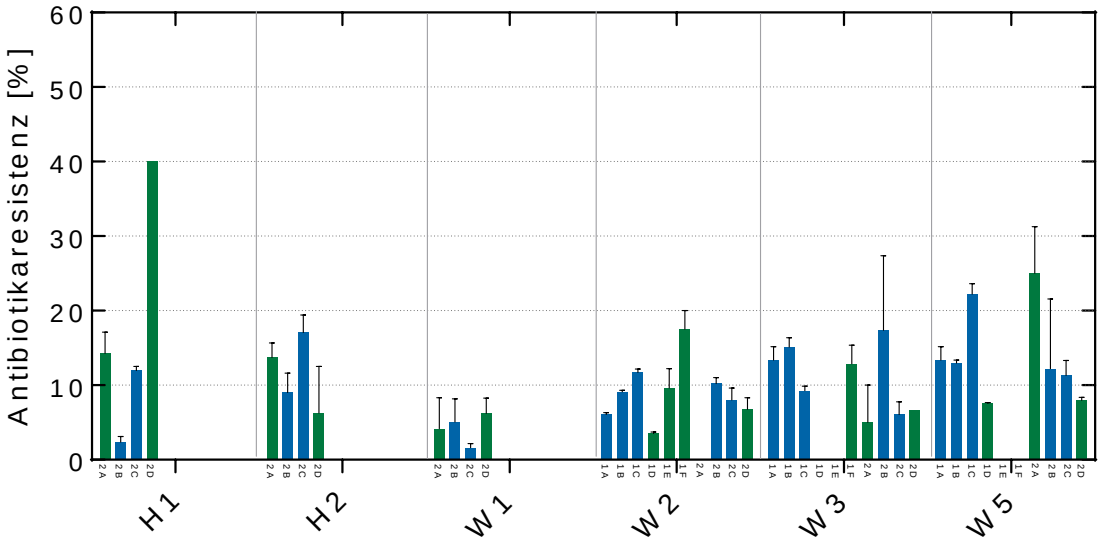

Abbildung 72: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

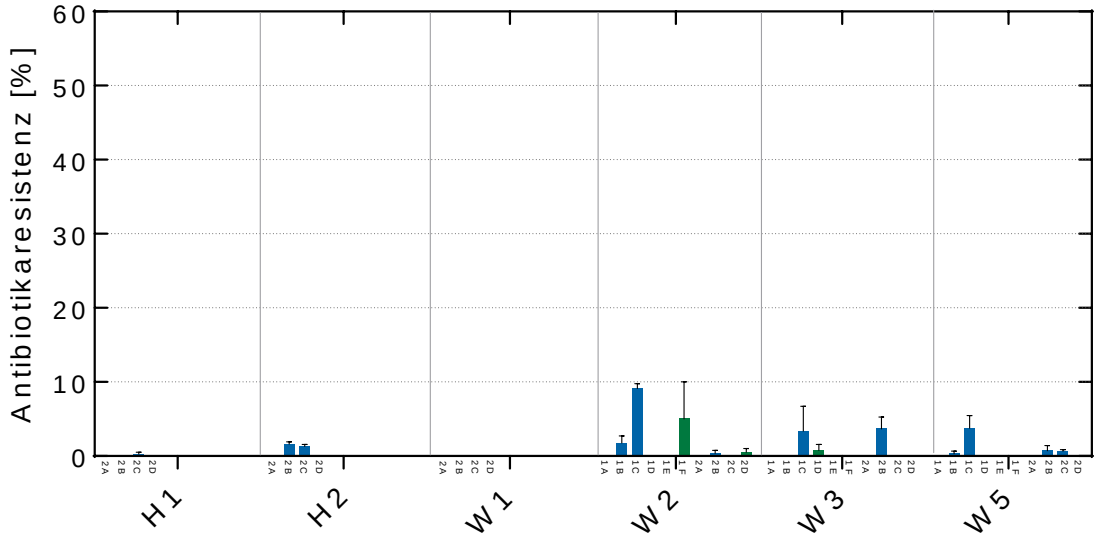

Abbildung 73: Antibiotikaresistenzen Enterokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Vancomycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Es wurden nahezu keine Resistenzen von Staphylokokken gegenüber Ampicillin und Vancomycin gefunden (keine grafische Darstellung). Gegen Gentamycin sind auffällige Resistenzen gefunden worden, die sich insbesondere bei Trockenwetter zeigten (vgl. Abbildung 74). Dieses Ergebnis zeigte sich sowohl bei den Untersuchungen der Phase 1a (2015–2016) als auch der Phase 1b (2017), weshalb nicht von einem Ausreißer ausgegangen wird. Eine Erklärung gibt es nach derzei-

tigem Stand allerdings nicht – hierzu werden weitere Untersuchungen durchgeführt. Die Resistenzen von Staphylokokken gegenüber Claritrhomycin sind in Abbildung 75 dargestellt.

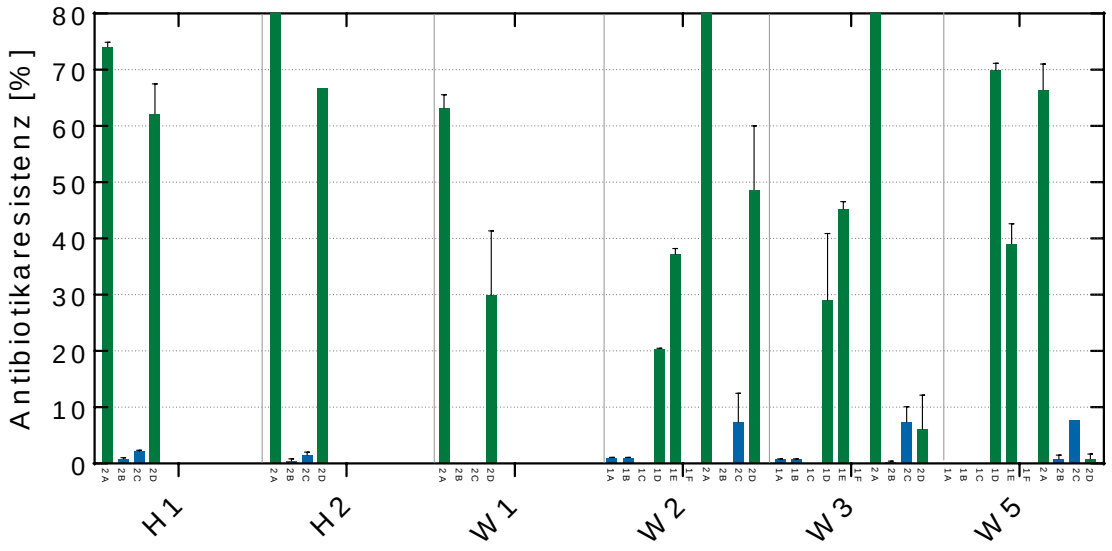

Abbildung 74: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Gentamycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

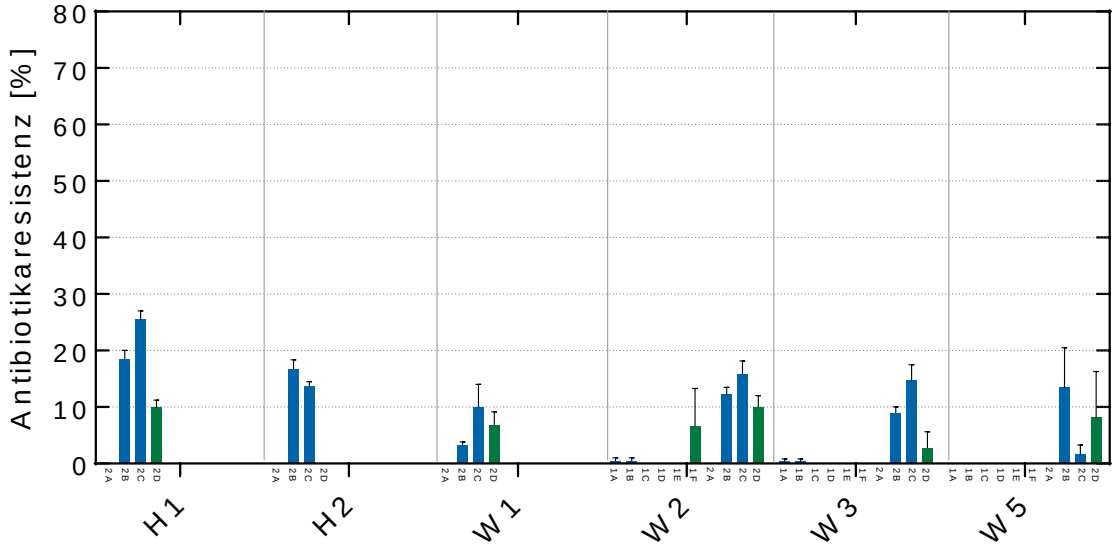

Abbildung 75: Antibiotikaresistenzen Staphylokokken an den Probenahmestellen H1 und H2 im Haarbach und an den Stellen W1, W2, W3 und W5 in der Wurm für Clarithromycin (blau = RW, grün = TW) (s. außerdem: Tabelle 20).

Hinsichtlich der Antibiotikaresistenzen zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probestellen in der Wurm oberhalb und unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers sowie zwischen dem Zulauf und Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers (vgl. Tabelle 33). Auch im Haarbach oberhalb und unterhalb der Kläranlage Eilendorf sowie in der Wurm oberhalb und unterhalb des Zuflusses des Haarbachs wurden keine signifikanten Unterschiede in dem Anteil antibiotikaresistenter Keime beobachtet (Tabelle 34).

Korrelationsanalysen zwischen dem Anteil antibiotikaresistenter Keime an Probenahmestelle W5 (uh KA) und dem Ablauf Kläranlage Aachen-Soers (AF) ergaben keine signifikanten Zusammenhänge für *E. coli*. Bei den Enterokokken und den Staphylokokken wurden lediglich für die Resistenzen gegenüber Gentamycin schwache, aber signifikante positive Korrelationen zwischen dem Ablauf der Kläranlage Aachen-Soers und der Probestelle in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers gefunden (Tabelle 33). Für alle anderen Antibiotika zeigten sich auch bei den Enterokokken und Staphylokokken keine statistischen Zusammenhänge zwischen den Resistenzen im Ablauf Filter und in der Wurm unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers (Tabelle 33).

Tabelle 33: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die Kläranlage Aachen-Soers (-: nicht signifikant; +: signifikant; ↑: signifikant erhöht an W5 gegenüber W2/W3; ↓: signifikant verringert an W5 gegenüber W2/W3; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden; p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Gewässer uh KA vs. oh KA W5 vs. W2/W3		Korrelation/Regression W5 vs. AF	
	Sign.	p, Methode	Sign.	Koeffizient (cc), p, Methode
Enterokokken				
Keimzahl	-	0,427/ 0,473 U-Test	-	cc= 0,0667 (p=0,838) Spearman Rangkorrelation
AR Ampicillin	-	0,443/ 0,721 U-Test	-	cc=0,454 (p=0,172) Spearman Rangkorrelation
AR Gentamycin	-	0,948/ 0,908 t-Test	+	cc=0,661 (p=0,0332) Spearman Rangkorrelation
AR Clarithromycin	-	0,326/ 0,411 t-Test	-	cc=0,777 (p=0,831) Pearson Maßkorrelation
AR Vancomycin	-	0,591/ 0,894 U-Test	-	cc=0,398 (p=0,243) Spearman Rangkorrelation
Staphylokokken				
AR Ampicillin	*keine Resistenzen*		*keine Resistenzen*	
AR Gentamycin	-	0,671/ 0,671 U-Test	+	cc=0,715 (p=0,0157) Spearman Rangkorrelation
AR Clarithromycin	-	0,264/ 0,495 U-Test	-	cc=0,500 (p=0,126) Spearman Rangkorrelation
AR Vancomycin	-	0,504/ 0,584 U-Test	*Zu wenig Resistenzen*	
Escherichia coli				
Keimzahl	-	0,791/ 0,791 U-Test	+	cc= 0,685 (p= 0,025) Spearman Rangkorrelation
AR Ampicillin	-	0,692/ 0,847 t-Test	-	cc=0,442 (p=0,185) Pearson Maßkorrelation
AR Cefotaxim	-	0,490/1,00 t-Test/ U-Test	*Zu wenig Resistenzen*	
AR Gentamycin	-	0,482/ 0,716 U-Test	-	cc=0,171 (p=0,607) Spearman Rangkorrelation
AR Sulfamethoxazol/Trimethoprim	-	0,821/0,307 U-Test	-	cc=0,297 (p=0,384) Spearman Rangkorrelation

Tabelle 34: Univariate statistische Auswertung von Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen (AR) im Datensatz „Screening“ für die Kläranlage Eilendorf (+: signifikant; ↑: signifikant erhöht an H2 gegenüber H1 bzw. an W2 gegenüber W1; ↓: signifikant verringert an H2 gegenüber H1 bzw. an W2 gegenüber W1; keine/zu wenig Resistenzen: statistische Analyse konnte aufgrund einer unzureichenden Datenbasis nicht durchgeführt werden, p: Wahrscheinlichkeit)

Parameter	Gewässer Haarbach uh KA vs. oh KA Eilendorf H2 vs. H1		Gewässer Wurm uh vs. oh Zufluss Haarbach W2 vs. W1	
	Sign.	p, Methode	Sign.	p, Methode
Enterokokken				
Keimzahl	-	0,511, t-Test	-	0,203, t-Test
AR Ampicillin	-	0,486, U-Test	-	0,343, U-Test
AR Gentamycin	-	0,711, t-Test	-	0,775, t-Test
AR Clarithromycin	-	0,526, t-Test	-	0,444, t-Test
AR Vancomycin	-	0,486, U-Test	-	0,343, U-Test
Staphylokokken				
AR Ampicillin	*Keine Resistenzen*		-	0,686, U-Test
AR Gentamycin	-	1,00, U-Test	-	0,627, t-Test
AR Clarithromycin	-	0,44, t-Test	-	0,31, t-Test
AR Vancomycin	-	0,686, U-Test	-	0,886, U-Test
Escherichia coli				
Keimzahl	-	0,886, U-Test	-	0,686, U-Test
AR Ampicillin	-	0,653, t-Test	-	0,961, t-Test
AR Cefotaxim	-	0,486, U-Test	-	0,686, U-Test
AR Gentamycin	-	0,686, U-Test	-	0,686, U-Test
AR Sulfamethoxazol/Trimethoprim	-	0,686, t-Test	-	0,973, t-Test

Ein paarweiser Vergleich zwischen Regenwetter- und Trockenwetterproben wurde für die Antibiotikaresistenzen von Staphylokokken gegenüber Gentamycin durchgeführt, da diese erhöhten Resistenzen bei Trockenwetter zeigen. Die statistische Analyse ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen Regen- und Trockenwetter für die Probestellen in der Kläranlage Aachen-Soers (ZKA, AF), aber eine signifikante Erhöhung in der Wurm (n = 17) und im Haarbach (n = 4) bei Trockenwetter (Tabelle 35), d. h. bei Trockenwetter war die Anzahl Gentamycin-resistenter Staphylokokken in der Wurm und im Haarbach signifikant höher als bei Regenwetter. Zur Ermittlung der Ursachen sind nun Folgeuntersuchungen geplant.

Tabelle 35: Univariate statistische Auswertung von Antibiotikaresistenzen (AR) bei Regenwetter und Trockenwetter (Datensatz „KA Soers“ (ZKA, AF), Datensatz „Wurm (W1, W2, W3, W5)“ und Datensatz „Haarbach (H1, H2)“) (-: nicht signifikant, +: signifikant; ↑: signifikant erhöht bei Trockenwetter; ↓: signifikant verringert bei Trockenwetter; p: Wahrscheinlichkeit)

Datensatz	AR von Staphylokokken gegenüber Gentamycin	
	paarweiser Test: Trockenwetter vs. Regenwetter	
	Sign.	p, Methode
KA Soers (ZKA, AF)	-	0,216, U-Test
Wurm (W1, W2, W3, W5)	+ ↑	<0,001, U-Test
Haarbach (H1, H2)	+ ↑	<0,001, t-Test

Tabelle 36: Korrelationsanalysen der Antibiotikaresistenzen und der Antibiotikakonzentrationen (Datensatz „Screening“ für alle Probenahmestellen)

Mikroorganismen	Korrelation zwischen der Antibiotikakonzentration und den Antibiotikaresistenzen bestimmter Mikroorganismen gegenüber Clarithromycin bzw. Sulfamethoxazol	
	Sign.	Korrelationskoeffizient (cc), Wahrscheinlichkeit (p), Methode
Clarithromycin		
Enterokokken	+	cc= 0,369, p=0,0049, Spearman Rangkorrelation
Staphylokokken	+	cc= -0,403, p=0,00197, Spearman Rangkorrelation
Sulfamethoxazol		
Escherichia coli	-	cc=0,0308, p=0,864, Spearman Rangkorrelation

Korrelationsanalysen zwischen den Antibiotikaresistenzen und den Antibiotikakonzentrationen wurden für Clarithromycin und Sulfamethoxazol durchgeführt, da für diese beiden Antibiotika auch chemische Analysedaten vorlagen. Diese Korrelationsanalysen zeigten einen schwachen, signifikanten positiven Zusammenhang zwischen den Antibiotikaresistenzen von Enterokokken gegenüber Clarithromycin mit den Clarithromycin-Messwerten, für Staphylokokken wurde dagegen ein schwacher, signifikant negativer Zusammenhang beobachtet (Tabelle 36). Auf eine Auswertung der Antibiotikaresistenzen von *E. coli* gegenüber Clarithromycin wurde aufgrund mangelnder Wirkzusammenhänge verzichtet. Für Sulfamethoxazol wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Antibiotikaresistenzen von *E. coli* gegenüber Sulfamethoxazol und den Antibiotikamesswerten gefunden.

Die multivariate Analyse der Daten zur Antibiotikaresistenz der Bakterien im Wasser der Kläranlage Aachen-Soers und der Wurm mittels PCA ist in Abbildung 76 dargestellt. Sie zeigt Anteil der

erklärten Varianz von 47 %, also nur knapp die Hälfte der Gesamtvarianz im Datensatz lässt sich auf den ersten beiden Achsen abbilden.

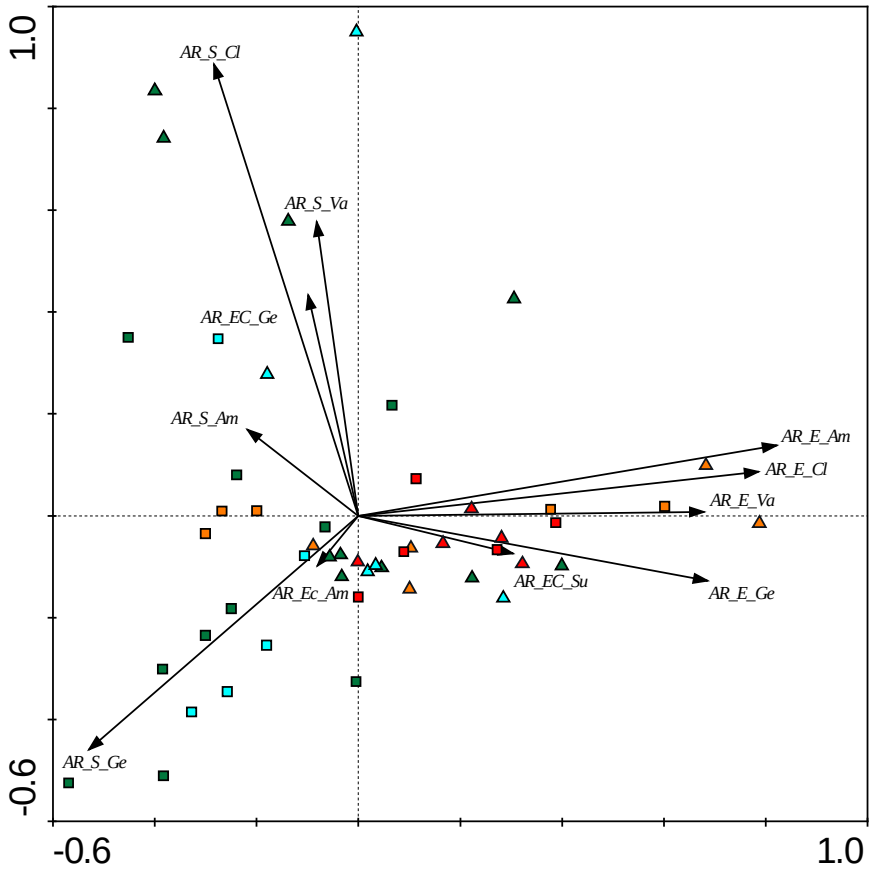

Abbildung 76: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA (W2, W3), grün; unterhalb KA (W5), cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (ZKA, rot; AF, orange) auf Basis der Antibiotikaresistenzen (AR) (schwarze Pfeile) von *E. coli* (Ec), Enterokokken (E) bzw. Staphylokokken (S) gegenüber Ampicillin (Am), Gentamycin (Ge), Clarithromycin (Cl), Sulfamethoxazol/Trimethoprim (Su) bzw. Vancomycin (Va). Quadrate: Trockenwetter-Proben; Dreiecke: Regenwetter-Proben. Eigenwert Achse 1: 0,312, Eigenwert Achse 2: 0,158. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 47 %.

Es zeigt sich eine Aufspaltung in zwei Gruppen: die Symbole für die Proben auf der Kläranlage (ZKA rot, AF orange) befinden sich überwiegend in der rechten Abbildungshälfte während sich die Gewässerproben in der Wurm (unterhalb der Kläranlage grüne und oberhalb der Kläranlage cyanfarbene Symbole), bis auf wenige Ausnahmen, in der linken Abbildungshälfte eingruppieren. Die Aufspaltung wird einerseits insbesondere durch erhöhte Antibiotikaresistenzen der Enterokokken (AR_E_Am, AR_E_Cl, AR_E_Va, AR_E_Ge) in den Kläranlagenproben bewirkt, andererseits durch erhöhte Antibiotikaresistenzen insbesondere von Staphylokokken gegenüber Gentamycin (AR_S_Ge) und Clarithromycin (AR_S_Cl) in den Gewässerproben. Die Analyse zeigt weiterhin, dass keine Abgrenzung zwischen den Zu- und Abläufen der Kläranlage Aachen-Soers und ebenfalls

keine Abgrenzung zwischen den Gewässerproben oberhalb und unterhalb des Zulaufs der Kläranlage Aachen-Soers festgestellt werden konnte (Abbildung 76).

Die multivariate Analyse bestätigt den bereits univariat ermittelten Befund, dass die Antibiotikaresistenzen der Staphylokokken gegenüber Gentamycin (AR_S_Ge) in den Gewässerproben, die bei Trockenwetter gezogen wurden (Quadrate) deutlich höher sind als in den bei Regenwetter genommenen Proben (Dreiecke). Wodurch die erhöhten Resistenzen verursacht werden, ist bisher nicht bekannt. Da Gentamycin ein häufig verschriebenes Antibiotikum in der Tierhaltung ist, könnten die gefundenen Resistenzen durch Gülleausbringung auf den an die Wurm angrenzenden Agrarflächen und Viehweiden hervorgerufen worden sein.

Die multivariate Analyse mittels PCA für den Datensatz der Kläranlage Eilendorf (Abbildung 77), welcher zwei Probestellen in der Wurm (W1, W2) sowie zwei Probestellen in Haarbach (H1, H2) umfasst, ergab einen Anteil der erklärten Varianz in Höhe von 54,5 % für die ersten beiden Achsen.

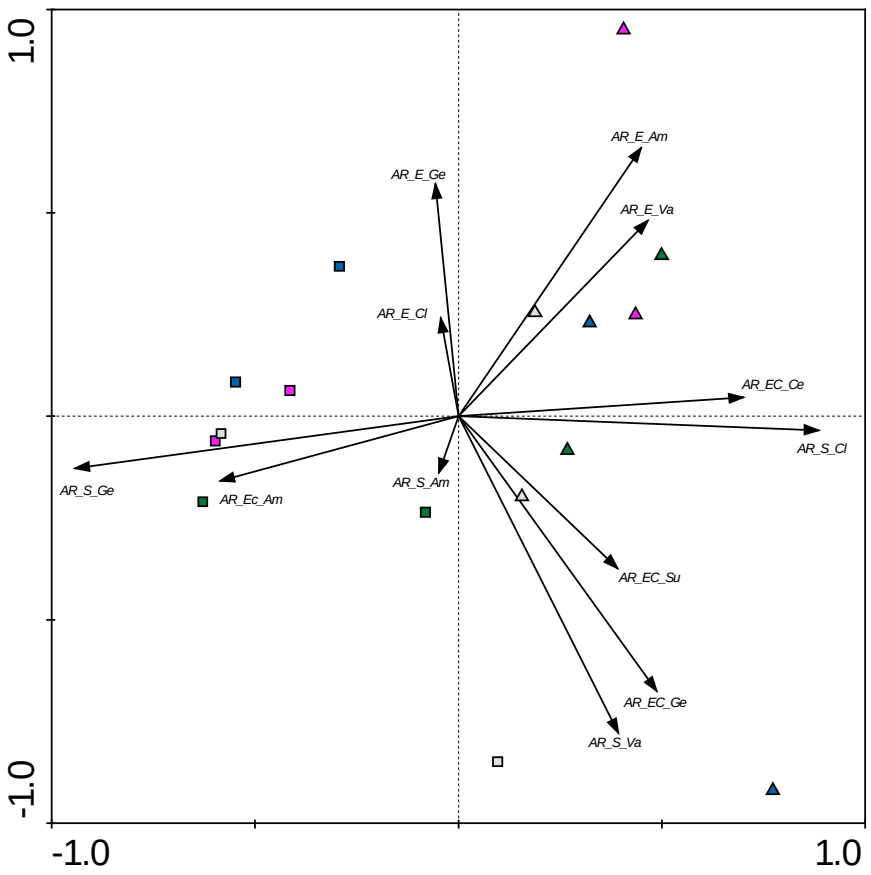

Abbildung 77: PCA der Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Eilendorf (W1), grau; unterhalb KA Eilendorf (W2), grün) sowie im Haarbach (oberhalb der KA Eilendorf (H1), blau; unterhalb der KA Eilendorf (H2), pink) auf Basis der Antibiotikaresistenzen (AR) (schwarze Pfeile) von *E. coli* (Ec), Enterokokken (E) bzw. Staphylokokken (S) gegenüber Ampicillin (Am), Gentamycin (Ge), Clarithromycin (Cl), Sulfamethoxazol/Trimethoprim (Su) bzw. Vancomycin (Va). Quadrate: Trockenwetterproben; Dreiecke: Regenwetterproben. Eigenwert Achse 1: 0,365, Eigenwert Achse 2: 0,18. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 54,5 %.

Die PCA zeigt keine Aufspaltung der Probestellen oberhalb und unterhalb der Kläranlage Eilendorf anhand der Antibiotikaresistenzen; dies ist demnach ein Indiz dafür, dass die Antibiotikaresistenzen durch die Einleitung der Kläranlage Eilendorf nicht maßgeblich beeinflusst werden. Dies gilt sowohl für den Haarbach (H1 blaue Symbole vs. H2 lila Symbole) als auch für die Wurm (W1 graue Symbole vs. W2 grüne Symbole). Dagegen zeigt sich eine Aufspaltung der Trockenwetterproben (Quadrate), die sich überwiegend in der linken Abbildungshälfte gruppieren, und der Regenwetterproben (Dreiecke), die ausnahmslos in der rechten Abbildungshälfte zu finden sind (Abbildung 77). Diese Auftrennung wird einerseits durch die Antibiotikaresistenzen von Staphylokokken gegenüber Gentamycin (AR_S_Ge) sowie von *E. coli* gegenüber Ampicillin (AR_Ec_Am) bewirkt. Diese beiden Resistenzen sind bei Trockenwetter gegenüber dem Regenwetter deutlich erhöht. Andererseits sind die Antibiotikaresistenzen von Staphylokokken gegenüber Clarithromycin (AR_S_Cl) und von *E. coli* gegenüber Cefotaxim (AR_Ec_Ce) bei Regenwetter höher als bei Trockenwetter (Abbildung 77). Somit bestätigt die multivariate Analyse die bereits univariat für den

Haarbach ermittelten erhöhten Antibiotikaresistenzen von Staphylokokken gegenüber Gentamycin während Trockenwetter. Da diese Erhöhung sowohl im Haarbach als auch in der Wurm an verschiedenen Probestellen beobachtet wurde, wird eine zufallsbedingte Erhöhung extrem unwahrscheinlich. Hier erhärtet sich der Verdacht, dass die Antibiotikaresistenzen der Staphylokokken gegenüber Gentamycin von der Wettersituation abhängig sind, auch wenn hierfür bislang kein kausaler Zusammenhang hergeleitet werden konnte.

Für E. coli und Enterokokken wurde im Rahmen der Phase 1b der Ansatz der multiplen Antibiotikaresistenzen untersucht. Die Ergebnisse der multiplen Resistenzen von *E. coli* bzw. Enterokokken gegen insgesamt sechs Antibiotika sind in Tabelle 37 bzw. Tabelle 38 dargestellt.

Tabelle 37: Test auf multiple Antibiotikaresistenzen von *E. coli* gegenüber Ampicillin, Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ertapenem, Imipenem und Cefotaxim

***E. coli* multiple Antibiotikaresistenzen**				
Screening	1	2	3	4
Ampicillinresistenz				
Ampicillin	✓	✓	✓	✓
Gentamycin				
Sulfamethoxazol/Trim.		✓	✓	✓
Ertapenem				
Imipenem				
Cefotaxim				
Gentamycinresistenz				
Ampicillin		✓		✓
Gentamycin	✓	✓	✓	✓
Sulfamethoxazol/Trim.		✓		✓
Ertapenem				
Imipenem				
Cefotaxim		✓	✓	✓
Sulfamethoxazol/Trimethoprim Resistenz				
Ampicillin	✓	✓	✓	✓
Gentamycin		✓		
Sulfamethoxazol/Trim.	✓	✓	✓	✓
Ertapenem				
Imipenem				
Cefotaxim				✓

Innerhalb des Agardiffusionstests (CLSI 2015; EUCAST 2017) konnten für *E. coli* Ansätze für multiple Resistenzen nachgewiesen werden (Tabelle 37). Ampicillinresistente *E. coli* zeigten in drei der vier Screenings auch Resistenzen gegen Sulfamethoxazol/Trimethoprim und Gentamycinresistente *E. coli* wiesen in zwei der vier Screenings auch Resistenzen gegen Ampicillin und Sulfamethoxazol/Trimethoprim und in drei der vier Screenings auch gegen Cefotaxim auf. Definitionsgemäß

ist ein Mikroorganismus als multiresistent zu bezeichnen, wenn dieser mehrere gleichzeitig auftretende Resistenzen trägt. Laut dieser Definition liegt bei den gegen Ampicillin resistenten Erregern in drei der vier Screenings und bei den gegen Gentamycin resistenten Erregern in zwei der vier Screenings eine Multiresistenz vor. Bei den gegen Sulfamethoxazol/Trimethoprim resistenten Erregern wurden demnach in allen vier Screenings multiresistente Erreger gefunden. Zusätzlich zu dieser Definition gibt es weitere Definitionen einer vorliegenden Multiresistenz bezogen auf den klinischen Bereich. So werden von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) Vorschläge zur Eingruppierung gram-negativer resistenter Erreger gemacht, welche gegen drei der vier relevanten Antibiotika-Hauptklassen (Acylureidopenicilline, Cephalosporine, Chinolone und Carbapeneme) resistent sind (3MRGN – **M**ulti**r**esistente **g**ram**n**egative Stäbchen mit Resistenz gegen **drei** der vier Antibiotikagruppen) oder gegen alle vier der Antibiotikaklassen (4MRGN – **M**ulti**r**esistente **g**ram**n**egative Stäbchen mit Resistenz gegen **vier** der 4 Antibiotikagruppen) (BGG 2012). Laut dieser Definition müsste für *E. coli* neben dem verwendeten Antibiotika Ampicillin welches zu den Aminopenicillinen gehört auf ein weiteres Antibiotikum der Acylureidopenicilline überprüft werden und zudem ein weiteres Antibiotikum aus der Gruppe der Chinolone mit in die Testbatterie aufgenommen werden.

Für Enterokokken konnten im Agardiffusionstest (CLSI 2015; EUCAST 2017) ebenfalls multiple Antibiotikaresistenzen nachgewiesen werden, die Ergebnisse sind in Tabelle 38 aufgeführt.

Tabelle 38: Test auf multiple Antibiotikaresistenzen von Enterokokken gegenüber Ampicillin, Gentamycin, Vancomycin und Imipenem.

Enterokokken multiple Antibiotikaresistenzen				
Screening	1	2	3	4
Ampicillinresistenz				
Ampicillin	✓	✓	✓	
Gentamycin				
Vancomycin		✓		
Imipenem	✓	✓	✓	
Gentamycinresistenz				
Ampicillin				
Gentamycin		✓	✓	✓
Vancomycin				
Imipenem	✓			
Clarithromycin				
Ampicillin		✓		
Gentamycin		✓		
Vancomycin				
Imipenem	✓	✓	✓	
Vancomycin				
Ampicillin	✓	✓		✓
Gentamycin	✓			✓
Vancomycin	✓	✓		✓
Imipenem	✓	✓		✓

Die gegen Ampicillin resistenten Isolate zeigten in drei der vier Screenings ebenfalls eine Resistenz gegenüber Imipenem und in einem der vier Screenings zusätzlich gegen Vancomycin. Bei den gegen Gentamycin resistenten Isolaten wurde außer im ersten Screening mit einer zusätzlichen Resistenz gegen Imipenem keine weitere Resistenz gegen die getesteten vier Antibiotika festgestellt. Die gegen Clarithromycin resistenten Isolate konnten aufgrund der fehlenden Auswerteverfahren von CLSI (2015) und EUCAST (2017) nicht nochmals auf Clarithromycin im Agardiffusionstest überprüft werden. Jedoch zeigten sich hier zusätzliche Resistenzen gegen Ampicillin (zweites Screening) und in drei der vier Screenings gegen Imipenem. Bei den Vancomycin resistenten Enterokokken konnten in drei Screenings zusätzliche Resistenzen gegen Ampicillin und Imipenem und in zwei Screenings gegen Gentamycin detektiert werden.

Die Methode der Bestimmung von multiplen Antibiotikaresistenzen wurde im Rahmen der Phase 1b etabliert. Die resistenten *E. coli* wurden auf fünf weitere, die resistenten Enterkokken auf vier weitere Antibiotika getestet. Mit Hilfe des Agardiffusionstests konnten sowohl für *E. coli* als auch für Enterokokken verschiedene Co-Resistenzen und auch definitionsgemäße Multiresistenzen nachgewiesen werden. Die in den Untersuchungen nachgewiesenen multiplen Antibiotikaresis-

tenzen von *E. coli* und Enterokokken sind im Hinblick auf die immer knapper werdenden Reserveantibiotika als kritisch zu bewerten. Nach derzeitiger Datenlage sind die erhobenen Ergebnisse für eine Aussage, ob und inwiefern die Kläranlage das Auftreten von multiplen Resistenzen in der Wurm beeinflusst, nicht geeignet. In Phase 2 soll die Datengrundlage jedoch durch eine Erweiterung des Untersuchungsumfanges soweit ausgebaut werden, dass eine solche Einschätzung möglich wird.

5.3.5 Lebensgemeinschaften im Gewässer

Das Gewässerumfeld des Haarbachs und der Wurm im Untersuchungsabschnitt ist stark besiedelt und intensiv genutzt. Naturnaher Oberläufe oder Zuflüsse, die als Quellen zur Besiedlung mit gewässertypischen Arten dienen können fehlen weitestgehend. Beeinflusst wird das Gewässer u. a. durch diverse Beeinträchtigungen im Streckenverlauf, stoffliche Belastungen durch die Einleitung der Kläranlagen Eilendorf (Haarbach) und Aachen-Soers, hydraulische und stoffliche Belastungen aufgrund von Abschlagsereignissen des RÜB Soers und durch weitere diffuse Einträge (z. B. Wildbach, Abschwemmungen aus landwirtschaftlichen oder Verkehrsflächen).

Die Bewertung nach Wasserrahmenrichtlinie erfolgt anhand fünf Güteklassen, die in Tabelle 39 darstellt sind.

Tabelle 39: Güteklassen als Bewertungsschema für die Gewässerqualität nach EG-Wasserrahmenrichtlinie

Sehr gut	Gut	Mäßig	Unbefriedigend	Schlecht

5.3.5.1 Makrozoobenthos

Die Ergebnisse der Qualitätskomponente Makrozoobenthos weisen die Wurm und den Haarbach im Untersuchungsgebiet als strukturell beeinträchtigte Gewässer mit einer leichten saprobiellen Belastung aus (Tabelle 40). Dabei liegen die Ergebnisse des Saprobienindex (SI) für das gesamte Untersuchungsgebiet und alle Aufnahmezeitpunkte mit Werten von 1,9 bis 2,4 überwiegend im Übergangsbereich der Güteklasse 2 (gut) und der Güteklasse 3 (mäßig).

Das Bewertungsmodul „Allgemeine Degradation“ (AD), welches die Auswirkungen verschiedener Stressoren (Degradation der Gewässermorphologie, Nutzung im Einzugsgebiet, Belastung durch Pestizide oder hormonäquivalente Stoffe) widerspiegelt, ist als multimetrischer Index aus gewässertypspezifischen Einzelindices aufgebaut, der abschließend in eine Qualitätsklasse überführt wird. Im Gesamtergebnis resultiert das Modul für alle ausgewerteten Datensätze in einer lediglich unbefriedigenden bis schlechten ökologischen Zustandsklasse (ÖZK) (Tabelle 40).

Tabelle 40: Gesamtergebnis der Module „Saprobie“ und „Allgemeine Degradation“ der Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse gut = grün, mäßig = gelb, unbefriedigend = orange, schlecht = rot).

Biologische Bewertungseinheit	Untersuchung Jahr - Monat	Ergebnis für Probestelle						
		W1	W2	W3	W4	W5	H1	H2
Organische Verschmutzung (neuer deutscher Saprobienindex)	2017-10	2,07	2,14	2,09	1,91	1,87		
	2017-04	2,00	2,20	2,04	1,95	2,00		
	2016-05	2,43	2,30	2,18	2,10	2,00		
	2015-04[2]	2,14	1,98	2,00	2,11	2,04		
	2014-04[3]	2,60	2,18	2,38		2,02		
	2012-03[3]						1,91	2,17
Allgemeine Degradation (Score 0–1)	2017-10	0,26	0,14	0,20	0,21	0,33		
	2017-04	0,13	0,03	0,21	0,25	0,18		
	2016-05	0,13	0,08	0,24	0,19	0,15		
	2015-04[1]	0,27	0,13	0,19	0,26	0,18		
	2014-04[2]	0,11	0,11	0,14		0,23		
	2012-03[2]						0,20	0,12

Es ist deutlich erkennbar, dass die Lebensgemeinschaft starke Defizite auf der gesamten Untersuchungsstrecke aufweist, wobei die Beeinträchtigung der Gewässermorphologie dabei den wichtigsten Stressor darstellt. Dies wird besonders deutlich in den beiden Einzelindices „Fauna Index Typ 5“ (FI) und dem „%-Anteil EPT-Taxa“, welche in dem Bewertungsmodul Allgemeine Degradation verrechnet werden. Der FI bewertet den Anteil der Taxa mit hohen morphologischen Ansprüchen im betrachteten Gewässertyp und damit auch die typspezifische natürliche Makrozoobenthos-Lebensgemeinschaft. Ein hoher Index indiziert ein strukturell intaktes naturnahes Gewässer, da dort bevorzugt Tiere leben, die einen hohen Anspruch an die Gewässermorphologie aufweisen. Dementsprechend weist ein niedriger Index durch das vermehrte Auftreten von Arten die häufig in Gewässern mir degradierter Morphologie vorkommen, auf eine strukturelle Verarmung hin. Insgesamt wurden in der Wurm viele Arten nachgewiesen, die strukturell degradierte

[1] Daten aus Jantsch (2016).

[2] Daten des WVER

Gewässer indizieren und eine negative Einstufung im Fauna Index besitzen, so dass dieser Index im Ergebnis überwiegend als unbefriedigend bis schlecht bewertet wird (ÖZK 5, Abbildung 78 A). Auch der Individuenanteil der besonders fließgewässertypischen Eintagsfliegen-, Stein- und Köcherfliegenlarven (EPT-Taxa) ist durchgehend zu niedrig. Diese drei Insektenordnungen umfassen überwiegend belastungsintolerante Arten mit relativ hohen Habitatansprüchen, sowohl im aquatischen Bereich als auch im terrestrischen Umfeld. Sie sollten bei naturnaher Ausprägung des Gewässers und einer Einstufung in den guten Zustand mindestens 50 % der Individuen stellen. Dieser Wert wird hier durchgehend deutlich unterschritten und führt i. d. R. zu einer schlechten Bewertung (ÖZK 5, Abbildung 78 B). Lediglich an W3 kommt es zeitweise zu einer Einstufung in die ÖZK 4 (unbefriedigend).

Vor allem an W1 und W2 weicht der strukturelle Zustand der Wurm deutlich von dem eines grobmaterialreichen, silikatischen Mittelgebirgsbaches ab und das Sohlsubstrat besteht überwiegend aus Feinmaterial wie Sand und mineralischem Schlamm, die Strömung ist langsam und das Gewässer wenig beschattet. Im weiteren Verlauf verbessert sich die Gewässermorphologie etwas. Die Strömungsgeschwindigkeit nimmt zu und es kommen zunehmend auch grobe Sohlsubstrate wie Kies und größere Steine vor, wodurch ein größeres Potenzial zur Ansiedlung der gewässertypischen EPT-Taxa vorhanden ist. Eine deutliche Zunahme des Anteils dieser Arten konnte allerdings nicht festgestellt werden. Zwar steigt der Wert an W3 etwas an, liegt aber mit maximal 40 % im April 2017 immer noch deutlich zu niedrig im Bereich der ÖZK 4 und ab dem Zulauf der Kläranlage Aachen-Soers (W4, W5) wird der Index wieder durchgehend in die ÖZK 5 (schlecht) eingestuft (vgl. Abbildung 78 B).

Als Maß für die Qualität der biologisch relevanten Gewässerstrukturen wurde der Habitatindex berechnet. Dieser liegt im Bereich der oberen Wurm (W1–W3) bei 3,9–4,7 und verbessert sich unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers an W4 deutlich auf einen Wert von 2,1 (Abbildung 78 D). Eine Beeinträchtigung der Gewässermorphologie ist daher wahrscheinlich nicht alleine ausschlaggebend für die anhaltende Reduktion der meist belastungsintoleranten EPT-Taxa unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers.

Der $SPEAR_{pesticide}$ zeigt einen ähnlichen Verlauf wie der Anteil der EPT-Taxa. Er indiziert insgesamt eine durchgehende diffuse Schadstoffbelastung, wobei eine kontinuierliche Verbesserung von W1 nach W3 zu beobachten ist. Hier bleibt jedoch zu beachten, dass vor allem an W1 und W2 auch gewässermorphologische Ursachen für das Fehlen der im $SPEAR_{pesticide}$ als sensitiv eingestuften Arten vorliegen können und die Ergebnisse keine reale Abnahme einer potentiellen Schadstoffbelastung wiederspiegeln. Allerdings ist im direkten Vergleich der Probestelle oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers (W3) und dem Gewässerabschnitt unterhalb der Kläranlageneinleitung (W4, W5) trotz der deutlich verbesserten Gewässermorphologie (Habitatindex 2,1 an W4) eine erneute tendenzielle Abnahme des $SPEAR_{pesticide}$ Index und damit der als sensitiv eingestuften Taxa zu beobachten (Abbildung 78 C). Hierunter fallen insbesondere die Bachflohkrebse, einige Köcherflie-

genarten sowie die in Typ 5-Gewässern typischerweise anzutreffenden Eintagsfliegen *Serratella ignita* und *Baetis rhodani*. Im Ergebnis kann daher ein negativer Effekt auf die Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos durch die Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers, der einen potenziell positiven Effekten einer verbesserten Gewässermorphologie überlagert, daher nicht ausgeschlossen werden.

Die Untersuchungen im Haarbach aus dem Jahr 2012 zeigen für die beiden Probestellen H1 und H2 ein recht einheitliches Bild. Wie auch schon in der Wurm wird die Gewässerstruktur unterhalb der Einleitung der Kläranlage Eilendorf im Habitatindex deutlich besser bewertet als oberhalb an H1 (Abbildung 78 C). Dies führt allerdings auch hier nicht zu einem positiven Effekt auf die Lebensgemeinschaft. Der Fauna Index sowie der %-Anteil der EPT-Taxa liegen deutlich zu niedrig und werden mit schlecht bewertet (Abbildung 78 A, B). Auch der SPEAR$_{pesticide}$ indiziert das Fehlen sensitiver Arten und eine Schadstoffbelastung für beide Probestellen (Abbildung 78 C). Insgesamt weist die Lebensgemeinschaft des Makrozoobenthos im Haarbach damit sowohl oberhalb als auch unterhalb der Kläranlage Eilendorf deutliche Defizite auf, die auf gewässermorphologische als auch stoffliche Beeinträchtigungen zurückgeführt werden können.

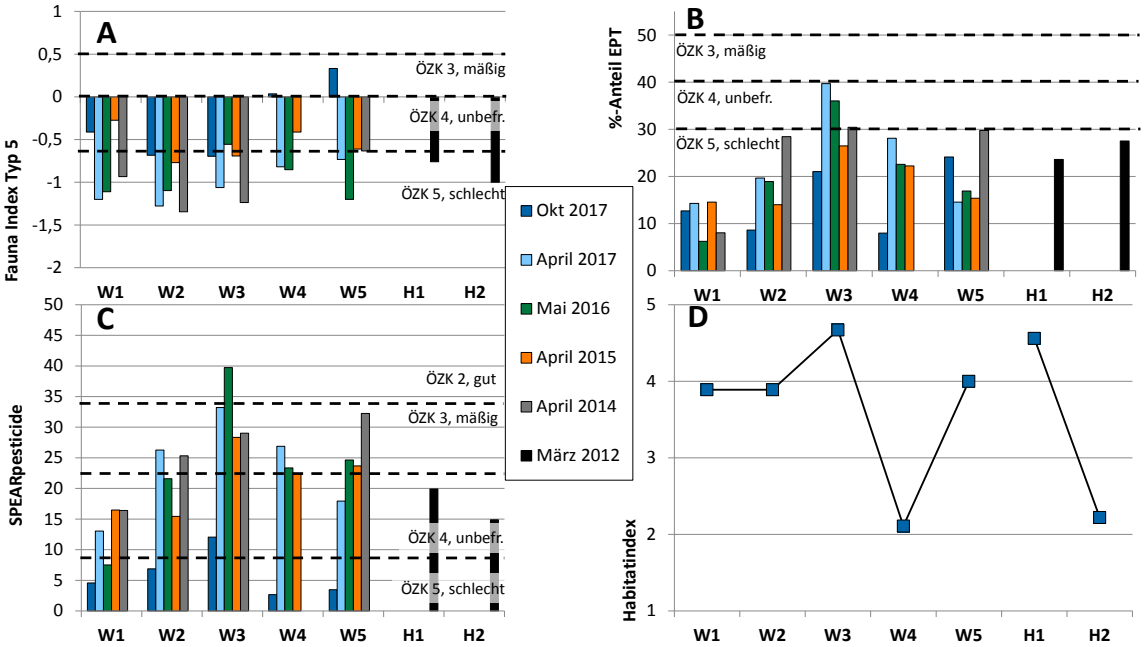

Abbildung 78: Ergebnisse des Fauna Index für den Gewässertyp 5 (A) und des %-Anteil EPT-Taxa (B) mit Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse nach Perlodes (ÖZK), des SPEARpesticide (C) mit Einstufung in die SPEAR Bewertungskategorien und des Habitatindex (D). Blau: Untersuchungen im Projekt DemO$_3$AC, alle anderen Farben: Daten Jantsch (2016) und WVER)

5.3.5.2

Makrophyten

Die Zusammensetzung der Makrophytengesellschaft eines Gewässerabschnittes erlaubt es, Aussagen hinsichtlich seiner trophischen und strukturellen Beeinträchtigung zu treffen.

Im Bereich oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers (W1–W3) wurden in beiden untersuchten Jahren wenig bis keine Makrophyten vorgefunden, während sowohl die Artenzahl als auch die Gesamtdeckung an den Probestellen W4 und W5 deutlich zunahm (Tabelle 41). Makrophytenfreie oder -arme Bäche und kleineren Flüsse, die voll beschattet sind, entsprechen dem sehr guten ökologischen Zustand, sofern weder strukturelle noch stoffliche Belastungen vorliegen. Im untersuchten Abschnitt der Wurm mit reduzierter Beschattung wird der Bereich der Probestellen W1–W3 jedoch als Verödungszone in Folge hydrodynamischer Degradation oder stofflicher Belastung gewertet. An W1 wurden entweder keine (2017) oder ausschließlich Potamalisierungs- und Eutrophierungszeiger (2016) vorgefunden. Dies resultiert für beide Jahre in einer schlechten Bewertung (Tabelle 41). Im Bereich der Probestelle W2 kam lediglich *Myriophyllum spicatum* in geringer Deckung vor. Dies entspricht in der Auswertung mit MaBS dem Myriophylliden-Typ von Bächen im Mittelgebirge und wird, da Störzeiger fehlen, dem sehr guten ökologischen Zustand zugeordnet. Da es sich aber auch hier um einen Abschnitt mit reduzierter Beschattung handelt, weist das Fehlen weiterer Arten auf hydrodynamische und stoffliche Beeinträchtigungen hin und führt zu einer abweichenden Einstufung in die ÖZK 4 (unbefriedigend). Gleiches gilt für die Probestelle W3 im Jahr 2017. Bei der Untersuchung im Jahr 2016 wurde neben *Myriophyllum spicatum* der Eutrophierungszeiger *Leptodictyum riparium* codominat vorgefunden, was zu einer mäßigen Bewertung führt.

Unterhalb der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers wurde in beiden Jahren eine deutliche Zunahme der Makrophyten im Vergleich zu den Untersuchungsstellen flussaufwärts, oberhalb der Kläranlageneinleitung, beobachtet. Neben *Myriophyllum spicatum* handelt es sich hierbei überwiegend um Moose, von denen der Eutrophierungszeiger *Leptodictyum riparium* stets dominant auftrat. Die Makrophytenbesiedlung der Probestellen W4 und W5 wird in der Auswertung mit MaBS insgesamt in den mäßigen (2016) bis unbefriedigenden (2017) ökologischen Zustand eingestuft.

Tabelle 41: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Makrophyten (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse mäßig = gelb, unbefriedigend = orange, schlecht = rot)

Biologische Bewertungseinheit	Jahr	Ergebnis für Probestelle (Skaliert 0–1)				
		W1	W2	W3	W4	W5
EQR Makrophyten (MaBS, % Deckungsgrad)	2017	0[2]	n. b.	n. b.	0,5	0,5
	2016	0,2[1]	n. b.	0,65	0,65	0,65
Gesamtdeckung [%]	2017	0	5	1	19,5	26
	2016	10	4	2	23	17
Anzahl	2017	0	1	1	6	3
	2016	3	1	2	11	5

1 = Bewertung nicht gesichert; 2 = Einstufung aufgrund Abwesenheit von Makrophyten; n. b. = nicht berechnet, Einstufung aufgrund Makrophytenverödung

5.3.5.3 Diatomeen

Die Diatomeengesellschaften der Wurm weisen im gesamten Untersuchungsgebiet eine Dominanz ubiquitär verbreiteter sowie relativ eutrophierungstoleranter Arten auf. Eine Zusammenfassung der Zustandsbewertungen für die untersuchten Gewässerabschnitte gemäß verschiedener Bewertungsansätze ist in Tabelle 42 dargestellt. Der Saprobienindex nach Rott et al. (1997) führt meist zu einer Einordnung in die Güteklasse II (gut); lediglich die Probestelle W5 wird bei der Untersuchung 2017 in die Güteklasse II-III (mäßig) eingeordnet. Der Trophieindex nach Rott et al. (1999) bewertet alle Probestellen im Jahr 2017 als eutroph-polytroph. Im Jahr davor wurde im Bereich oberhalb der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers nur ein eutropher Zustand festgestellt, der sich nach der Einleitung jedoch verschlechtert. Die Anteile verschmutzungstoleranter Taxa sowie von Hypertrophiezeigern liegen an den Probestellen W1 bis W3 überwiegend zwischen 11 % und 15 % (deutlich belastet). Im weiteren Streckenverlauf unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers steigt ihr Anteil weiter an und weist auf eine meist starke Belastung hin.

Zusammengefasst ist festzuhalten, dass die Mehrzahl der durchgeführten Analysen einen negativen Gütegradienten zwischen den Probestellen W1 bis W5 indiziert. Dies wird vor allem an den Anteilen verschmutzungstoleranter Taxa deutlich. Unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers (W4, W5) ist der Schwellenwert von 20 % verschmutzungstoleranter Arten für die Indikation signifikant wirksamer organischer Belastung deutlich überschritten. Dieser Abschnitt scheint besonders belastet zu sein, wobei auch bei den weiter oberhalb gelegenen Probestellen W1 bis W3 von deutlichen Belastungen der Wurm ausgegangen werden kann. Eine Beeinträchtigung der Diatomeenge-

sellschaften durch die Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers ist demnach wahrscheinlich. Ob es sich hierbei jedoch um Auswirkungen einer erhöhten Spurenstoffbelastung handelt kann nicht festgestellt werden.

Tabelle 42: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Diatomeen (Einstufung in die Ökologische Zustandsklasse gut = grün, mäßig = gelb, unbefriedigend = orange).

Biologische Bewertungseinheit	Jahr	Ergebnis für Probestelle (Skaliert 0–1)				
		W1	W2	W3	W4	W5
Taxazahl	2017	37	46	59	47	49
	2016	45	59	51	48	43
ÖZK (PHYLIB)	2017	mäßig	unbefriedigend	mäßig	unbefriedigend	unbefriedigend
	2016	mäßig	mäßig	unbefriedigend	unbefriedigend	mäßig
Trophieindex nach Rott et al. (1999)	2017	eutroph-polytroph	eutroph-polytroph	eutroph-polytroph	eutroph-polytroph	eutroph-polytroph
	2016	eutroph	eutroph	eutroph	eutroph-polytroph	eutroph-polytroph
Saprobienindex nach Rott et al. (1999)	2017	1,86	1,87	1,94	2,08	2,03
	2016	1,88	2,00	1,89	2,06	2,25
%-Anteil verschmutzungstoleranter Arten	2017	10,9	11,2	5,4	16,2	39,1
	2016	12,1	13,0	14,9	34,2	31,2

5.3.5.4

Phytobenthos ohne Diatomeen (PoD)

Bei der Untersuchung des Phytobenthos ohne Diatomeen wurden insgesamt 23 verschiedene Arten nachgewiesen. Diese konnten alle den Bewertungskategorien B (Arten mit weiter Verbreitung, wenig sensibel) und C (Störzeiger, durch Eutrophierung gefördert, mäßiger bis unbefriedigender saprobieller Zustand) zugeordnet werden. In beiden Jahren wurde die fädige Alge *Cladophora glomerata* (Kategorie C) dominant an allen Untersuchungsabschnitten gefunden. Die weitere Artenzusammensetzung unterscheidet sich deutlich oberhalb und unterhalb der Kläranlage Aachen-Soers wobei an W4 und W5 eine höhere Taxazahl (9–11) und eine höhere Diversität als an W1–W3 festgestellt werden kann (5–9 Taxa) (Tabelle 43). Die abschließende Bewertung der Ar-

tengemeinschaften nach Phylib konnte für alle Proben gesichert durchgeführt werden. Hieraus resultiert für die gesamte untersuchte Gewässerstrecke eine Einstufung in die Klassen 3 und 4.

Tabelle 43: Zusammenfassung der Ergebnisse für das Phytobenthos ohne Diatomeen (PoD) (Einstufung in die Bewertungsklasse mäßig = gelb, unbefriedigend = orange).

Biologische Bewertungseinheit	Jahr	Ergebnis für Probestelle (Skaliert 0–1)				
		W1	W2	W3	W4	W5
Bewertungsindex Phytobenthos (Phylib)	2017	0,40	0,37	0,30	0,26	0,53
	2016	0,26	0,25	0,36	0,39	0,54
Anzahl eingestufte Taxa	2017	7	4	6	5	8
	2016	5	3	5	9	9
Diversität (Shannon Wiener)	2017	0,93	0,77	0,75	0,92	0,98
	2016	0,74	0,69	0,88	0,99	0,95

5.4 Ozonung im Pilotmaßstab

5.4.1 Grundlagen und Vorversuche

Die im Labor durchgeführten Zehrungsversuche geben Aufschluss über die für den Ozonzerfall benötigte Zeit in verschiedenen Abwässern. Dieser ist für jede Kläranlage und jedes Abwasser individuell. Daher zählen diese Versuche zu den grundlegenden Untersuchungen, die zur Dimensionierung einer Anlage notwendig sind. Die Geschwindigkeit des Ozonzerfalls im Wasser ist generell von verschiedenen Parametern abhängig. Dazu zählen im Abwasser hauptsächlich die Ozonstartkonzentration, die Abwasserqualität, die Temperatur und der pH-Wert. (Buffle et al. 2006; Nöthe et al. 2009).

Erwartungsgemäß zeigt die Auswertung der für die Kläranlage Aachen-Soers durchgeführten Zehrungsversuche, dass die Konzentration des gelösten Ozons in der Abwasserprobe mit zunehmender Reaktionszeit abnimmt. Bei zu Beginn des Versuchs hohen Ozonkonzentrationen ist gelöstes Ozon in der Probe länger nachweisbar als bei niedrigen Ozonausgangskonzentrationen. In Abbildung 79 ist das Ozonzehrungsprofil des Ablaufs der Nachklärung für die Probe vom 22.09.2016 für drei verschiedene Ozondosen dargestellt. Für eine Ozondosis von 2,6 mg/l kann Ozon bereits nach 15 Sekunden nicht mehr nachgewiesen werden. Liegen die Ausgangskonzentrationen zu Beginn jedoch bei 8,2 mg_{O3}/l, ist Ozon auch nach 10 Minuten noch in einer geringen Konzentration in der Probe nachweisbar.

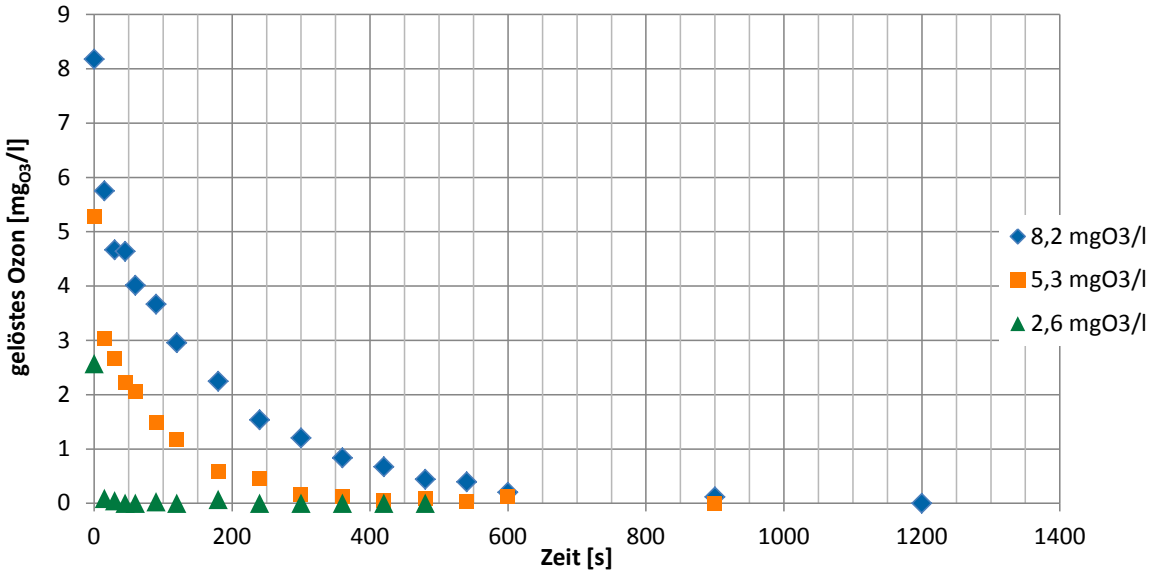

Abbildung 79: Ozonzehrungsprofil des Abwassers aus der Nachklärung der Kläranlage Aachen-Soers vom 22.09.2015 (c_{DOC} = 5,9 mg/l; pH = 6,96)

Neben der Ozon-Anfangskonzentration ist auch die Kenntnis über die Abwasserzusammensetzung, insbesondere der organische, gelöste Kohlenstoff (Buffle et al. 2006), bei der Aufnahme des Zehrungsprofils relevant. Die Aufnahme von Zehrungsprofilen an unterschiedlichen Tagen zeigte, dass Abwasserproben mit einer hohen Hintergrundbelastung, verglichen anhand des DOC oder des CSB, zudosiertes Ozon tendenziell schneller zehren als Abwasserproben mit einer geringen Hintergrundbelastung.

Anhand der Zehrungsprofile werden nach Nöthe et al. (2009) für die Ozonzehrung Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten im Zeitraum zwischen 30 s und 240 s ermittelt. Der Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_{obs} wird die Annahme zugrunde gelegt, dass die Ozonzehrung entsprechend einer Reaktion pseudo 1. Ordnung abläuft. Die Geschwindigkeit des Ozonabbaus wird durch Formel 5 beschrieben. Die Ozonkonzentration $[O_3]$ zum Zeitpunkt t ergibt sich nach Integration von Formel 5 somit aus Formel 6.

Formel 5

$$-\frac{d[O_3]}{dt} = k_{obs} \cdot [O_3]$$

Formel 6

$$[O_3]_t = [O_3]_0 \cdot e^{-k_{obs} \cdot t}$$

Die Reaktionsgeschwindigkeiten nehmen mit höheren eingetragenen Ozondosen ab. Der Grund dafür ist, dass die im Abwasser befindlichen Inhaltsstoffe mit dem eingetragenen Ozon reagieren. Zunächst findet eine Reaktion der sehr gut und somit auch schnell mit Ozon reagierenden Sub-

stanzen mit dem gelösten Ozon statt. Sollte weiterhin Ozon in der Lösung vorliegen, reagieren anschließend auch die moderat durch Ozon oxidierbaren Abwasserinhaltsstoffe.

Für die Kläranlage Aachen-Soers wurden zwischen Juli und November 2015 an elf Tagen für verschiedene Ozondosen Zehrungsprofile des Abwassers aus dem Ablauf der Nachklärung aufgenommen. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Ozonzehrung wurden für alle untersuchten Abwässer und eingetragenen Ozondosen berechnet, an denen gelöstes Ozon ausreichend lange im Abwasser nachgewiesen werden konnte.

Beispielhaft sind Ozonprofile vom 07.08.2015 zur Ermittlung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten 1. Ordnung k_{obs} in Abbildung 80 dargestellt. Die ermittelten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_{obs} sind im Anhang für jeden Tag aufgelistet. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten ergeben sich aus den Steigungen der aufgetragenen Graphen. Für die Anfangskonzentration von 2 mg_{O3}/l wurde die Reaktionsgeschwindigkeit nur für den Zeitraum von 30 s bis 120 s erstellt, da anschließend kein gelöstes Ozon mehr in der Lösung vorlag.

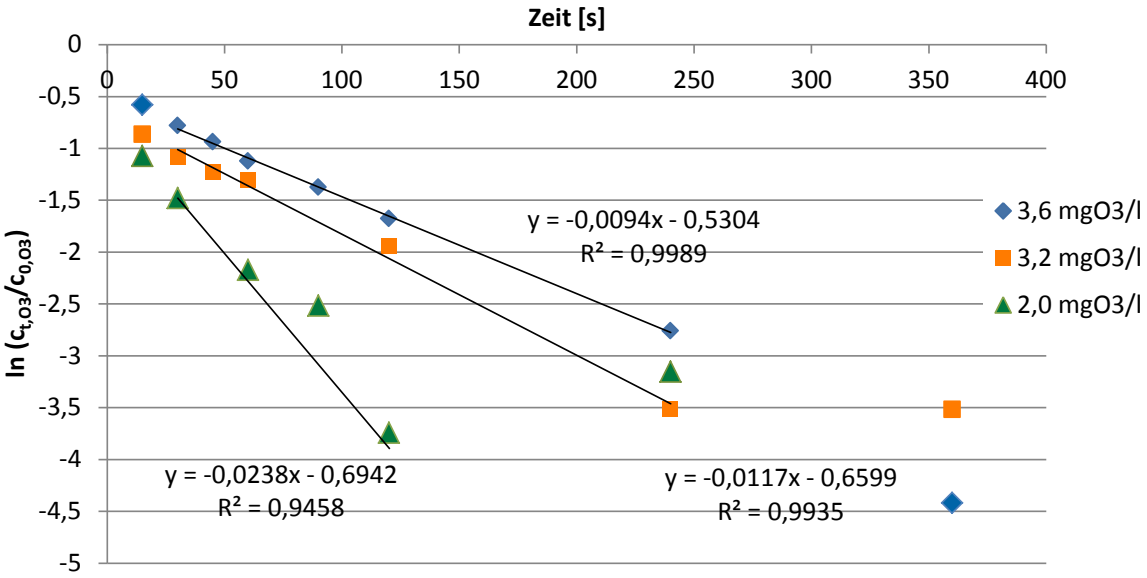

Abbildung 80: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für die Ozonzehrung im Ablauf der Nachklärung der Kläranlage Aachen-Soers vom 07.08.2016

Mit Hilfe des Bezugs der Ozondosis auf die Konzentration des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) wird ein besserer Vergleich verschiedener Abwässer möglich (Buffle et al. 2006). Daher wird die spezifische Ozondosis bei der Auswertung der Zehrungsprofile betrachtet, um die unterschiedlichen Abwassermatrizes zu berücksichtigen. Die spezifische Ozondosis [mg_{O3}/mg_{DOC}] wird mittels der in der Abwasserprobe gemessenen DOC-Konzentration sowie der eingetragenen Ozondosis berechnet. Dabei kommt zum Tragen, dass die Zugabe der Ozonstammlösung zu einer Verdünnung der Abwasserprobe führt, die ebenfalls in der Berechnung der spezifischen Ozondosis beachtet wurde. Eine Auftragung der errechneten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten gegenüber der spezifischen Ozondosis zeigt einen deutlichen Zusammenhang dieser Parameter,

dargestellt in Abbildung 81. Der Zusammenhang zwischen spezifischer Ozondosis und Reaktionsgeschwindigkeitskonstante lässt sich wieder über die zu oxidierenden Substanzen erklären. Bei geringen spezifischen Ozondosierungen zehren gut oxidierbare Substanzen schnell das hinzudosierte Ozon. Bei höheren spezifischen Ozondosen werden dagegen auch die moderat reagierenden Substanzen oxidiert, weshalb die Reaktion und damit der Ozonabbau langsamer sind.

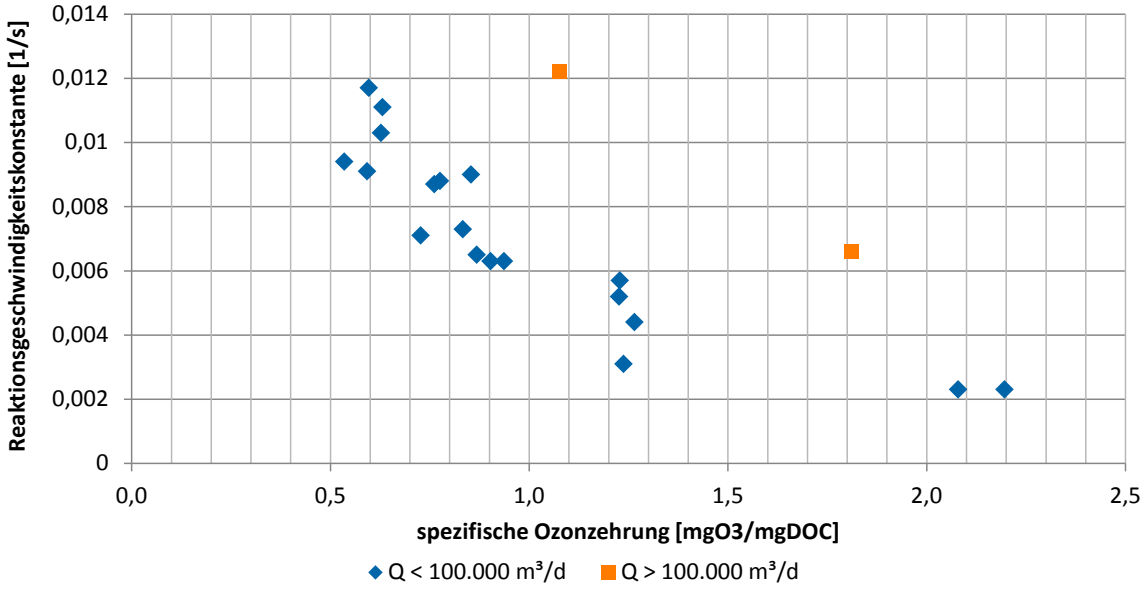

Abbildung 81: Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis

Auffällig sind die ermittelten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten vom 22.09.2015, weshalb sie speziell markiert sind. Der Zulaufvolumenstrom zur Kläranlage Aachen-Soers lag an diesem Tag mit ca. 155.000 m³/d vergleichsweise hoch. An den anderen Probenahmetagen betrug der Zulauf zur Kläranlage Q_d=60.000 m³/d bis 100.000 m³/d. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten, welche aufgrund zu niedriger Gelöst-Ozonkonzentrationen nur für die Zeit 30–120 s bzw. 30–180 s (< 240 s) ermittelt werden konnten, sind nicht in der Abbildung aufgetragen.

Die im Abwasser enthaltenen organischen Verbindungen zehren Ozon, unmittelbar nachdem dieses in das Abwasser eingetragen wird. Wert et al. (2009) sprechen bei diesem Phänomen vom „Instantaneous Ozone Demand“ (IOD), also dem unmittelbarem Ozonbedarf. Der IOD ist als die Ozonmenge definiert, die während der ersten 30 Sekunden gezehrt wird. Im Abwasser der Kläranlage Aachen-Soers liegt der IOD in Abhängigkeit der Ozondosis und der Abwasserprobe bei 0,9 mg/l bis 3,6 mg/l, was ca. 18 % bis 100 % der zugegebenen Ozondosis entspricht.

Spurenstoffelimination

Vor den Pilotuntersuchungen wurden Versuche zur Spurenstoffelimination im Labormaßstab durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass bereits bei einer sehr geringen spezifischen Ozonzehrung von 0,2 g_{O3}/g_{DOC} Diclofenac und Carbamazepin bis unter die Bestimmungsgrenze eliminiert werden. Auch für Sulfamethoxazol werden ab einer spezifischen Ozondosis von 0,4 g_{O3}/g_{DOC} Eliminationen von > 80 % beobachtet. Metoprolol konnte Metoprolol ebenfalls mit 0,4 g_{O3}/g_{DOC} bereits zu über 90 % eliminiert werden. Lediglich für Benzotriazol sind Ozondosen von mehr als 0,4 g_{O3}/g_{DOC} erforderlich, um eine Elimination von 90 % zu erreichen.

Tagesgang

Ein weiterer Bestandteil der Voruntersuchung war die Beprobung des Ablaufs der Nachklärung an drei Tagen, um den Nachtzufluss als kritische Belastungssituation zu überprüfen. Zu den untersuchten Parametern zählte die DOC-Konzentration als Maß für die organische Grundbelastung im Abwasser, die Bromid-Konzentration als Edukt für die Bromat-Bildung und die Nitrit-Konzentration als ozonzehrende Verbindung. Die Ergebnisse sind in Abbildung 82 aufgetragen. Zusätzlich zu den genannten Substanzen ist auch der Volumenstrom im Zulauf zur Kläranlage Aachen-Soers aufgetragen, da hierdurch Verdünnungs- bzw. Verdrängungseffekte der genannten Substanzen festgestellt werden können.

Die DOC-Konzentration blieb an zwei der drei untersuchten Tage konstant. Eine leichte Zunahme der DOC-Konzentration über Nacht kann auf die gedämpfte und verzögerte Tagesspitze der hohen DOC-Konzentration über den Tag im Zulauf der Kläranlage zurückgeführt werden. Die Dämpfung wird durch die Rezirkulation und Durchmischung im Belebungsbecken erreicht, wohingegen die Verzögerung durch die Aufenthaltszeit des Abwassers im System zu Stande kommt. Im Regenwetterfall (26.04.2016) nahm die Konzentration des DOC im Ablauf der Nachklärung ab. Dies erfolgt ebenfalls mit einer Verzögerung, sodass in den ersten Stunden mit hohen Volumenströmen noch keine Veränderung der DOC-Konzentration im Ablauf der Nachklärung ersichtlich wird. Das hier beobachtete Niederschlagsereignis vom 26.04.2016 führt dazu, dass die DOC-Konzentration innerhalb des Untersuchungszeitraums von 9 mg/l auf ca. 4 mg/l abgesenkt wurde. Dies ist im Hinblick auf die volumenproportionale Zugabe von Ozon zur Spurenstoffelimination und die Bildung von Transformationsprodukten zu beachten.

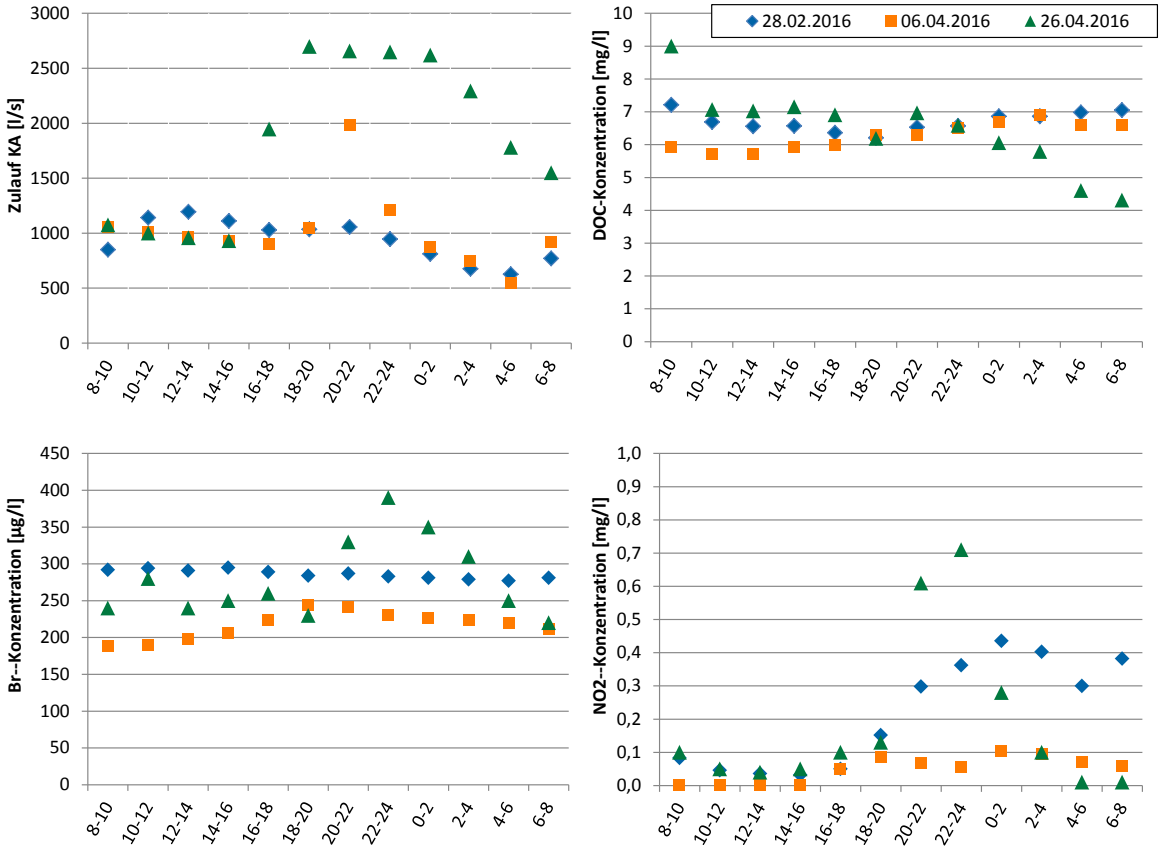

Abbildung 82: Verteilung der Zufluss-Wassermenge, der DOC-Konzentration, der Bromid-Konzentration und der Nitrit-Konzentration in Abhängigkeit der Tageszeit

Die Bromidkonzentration im Ablauf der Nachklärung weist an den beiden Trockenwettertagen, analog zu der DOC-Konzentration, einen quasi konstanten Tageswert auf. Lediglich am 26.04.2016, dem Regenwettertag, kann ein kurzzeitiger Anstieg der Bromidkonzentration um insgesamt ca. 40 % beobachtet werden. Zeitgleich steigt auch die Nitritkonzentration an. Im Anschluss an diesen Anstieg sanken die Konzentrationen beider Substanzen jedoch wieder auf die Ausgangskonzentration ab. Für Nitrit wird generell in den Nachtstunden ein Anstieg der Konzentration im Ablauf der Nachklärung beobachtet, wodurch eine höhere Ozonzehrung initiiert wird. Der Nachtzufluss scheint somit nicht der für die Transformationsbildung kritische Zufluss zu sein. Dahingegen ist besonderes Augenmerk auf das Abwasser zu legen, welches der Ozonung nach einem intensiven Niederschlagsereignis zufließt.

5.4.2 Spurenstoffelimination

Die Ergebnisse der Untersuchungen an der Pilotanlage zeigen, dass mit Hilfe der Ozonung alle im Zulauf der Pilotanlage untersuchten Spurenstoffe zuverlässig reduziert werden können. Bei der Vorstellung der Ergebnisse wird zwischen den statischen Versuchen und den dynamischen Versuchen unterschieden. Die statischen Untersuchungen wurden durchgeführt, um die Einflüsse ein-

zelner Parameter auf die Spurenstoffelimination zu eruieren. Hierzu wurden die Ozondosis und die hydraulische Aufenthaltszeit fest eingestellt. Die dynamischen Untersuchungen sollen, durch einen volumenproportionales Betrieb der Pilotanlage, eine realistische Abbildung der späteren großtechnischen Anlage ermöglichen.

Statische Versuchsdurchführung

5.4.1.1 Die Analyse der Proben ergab, dass die Abwasserqualität im Zulauf zur Pilotanlage in Bezug auf die Standardparameter für die unterschiedlichen Versuchstage keine großen Schwankungen aufwies. Der DOC der Zulaufproben lag generell zwischen 6 mg/l und 7 mg/l, wobei Abweichungen an einzelnen Tagen Messungen im Bereich 4 mg/l bis 7,6 mg/l verzeichnet wurden. Für den Parameter AFS lagen an allen Tagen Werte unter 6 mg/l vor. Nitrit und Ammonium wurden im Zulauf zur Ozonung in sehr geringen Konzentrationen von max. 0,076 mg/l für Nitrit und 0,2 mg/l für Ammonium nachgewiesen oder lagen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,001 mg/l für NO_2^-. Dies lässt auf eine sehr geringe Zehrung des Ozons durch die Abwassermatrix erwarten. Die Konzentrationen der Standardparameter für die einzelnen Untersuchungstage im Zulauf und im Ablauf der Pilotanlage sind der Abbildung 83 zu entnehmen.

Die Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf der Ozonanlage sind für die im Abwasser gemessenen Substanzen in Abbildung 83 dargestellt. Die Bestimmungsgrenze für diese Substanzen lag jeweils bei 10 ng/l.

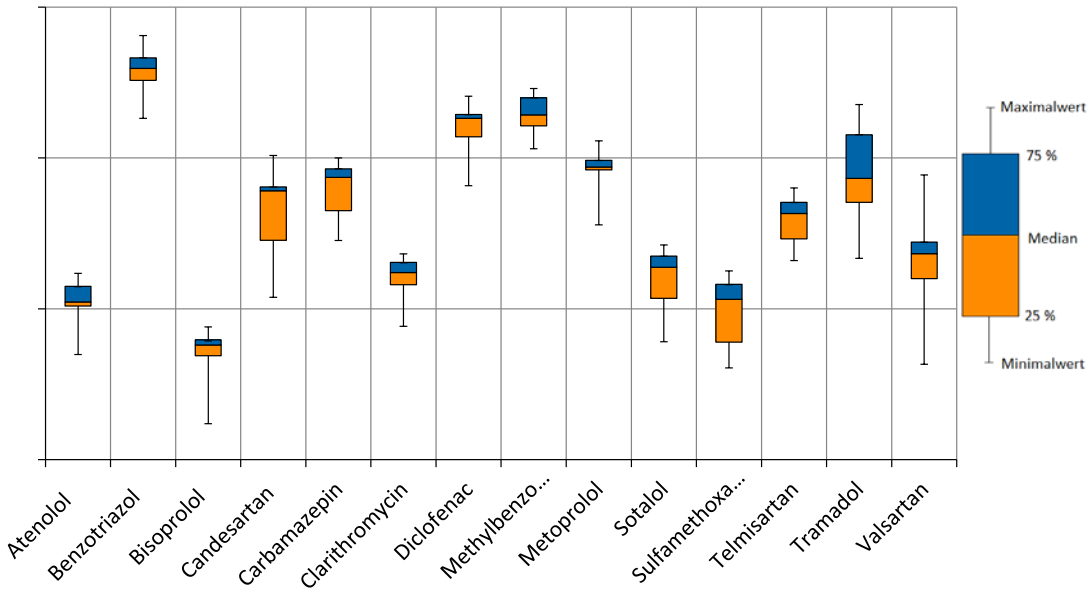

Abbildung 83: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf zur Pilotanlage während der statischen Versuche (n = 19)

Der mittlere Eliminationsgrad der untersuchten Spurenstoffe in der Pilotanlage ist für die verschiedenen Einstellungen in Tabelle 44 zusammengefasst. Kann eine Substanz im Ablauf der Ozonung nicht mehr nachgewiesen werden, wird die Bestimmungsgrenze als Wert für die Ablaufkon-

zentration angesetzt und hiermit die Elimination berechnet. Diese Elimination wird dann als Mindestelimination bezeichnet und als solche gekennzeichnet. Teilweise ergeben sich durch diese Berechnung Eliminationsgrade, die an einzelnen Tagen unter 50 % liegen, z. B. am 20.11.2015 für Bisoprolol, obwohl die Substanz nicht mehr im Ablauf nachgewiesen werden konnte.

Tabelle 44: Arithmetische Mittelwerte und Standardabweichung der Ergebnisse zur Spurenstoffelimination [%] in der Pilotanlage

Ozondosis	2 mg/l (n = 4)	3 mg/l (n = 5)	4 mg/l (n = 3)	5 mg/l (n = 3)	6 mg/l (n = 3)
Atenolol	69 ±13	87* ± 6	91* ± 1	87* ± 4	88* ± 7
Benzotriazol	40 ± 13	84* ± 12	81 ± 2	94 ± 1	100* ± 0
Bisoprolol	64 ±11	71* ± 18	82* ± 3	82* ± 1	82* ± 2
Candesartan	61 ± 9	86* ± 8	89 ± 1	97* ± 3	99* ± 0
Carbamazepin	98* ± 1	97* ± 1	99* ± 0	99* ± 0	99* ± 0
Clarithromycin	94* ± 3	92* ± 3	97* ± 2	95* ± 5	95* ± 1
Diclofenac	99* ± 0	99* ± 0	99* ± 0	99* ± 0	99* ± 1
Methylbenzotriazol	62 ± 18	97* ± 2	98 ± 0	99 ± 0	99* ± 0
Metoprolol	70 ± 14	97* ± 3	98 ± 0	99* ± 0	99* ± 0
Sotalol	93* ± 3	90* ± 4	96* ± 0	90* ± 3	95* ± 1
Sulfamethoxazol	72* ± 11	81* ± 4	92* ± 1	93* ± 1	93* ± 2
Telmisartan	69 ± 12	94* ± 2	95 ± 1	98* ± 1	98* ± 1
Tramadol	86 ± 9	96* ± 2	98 ± 0	99* ± 1	99* ± 0
Valsartan	59 ± 10	82* ± 6	80* ± 11	78 ± 3	95* ± 1

*Für mindestens einen Versuchstag wurde eine Elimination bis unter die Bestimmungsgrenze gemessen, weshalb hier die Mindestelimination angegeben ist.

Generell sind für alle Substanzen ab einer Ozondosis von 3 mg$_{O3}$/l mittlere Eliminationen von größer als 70 % zu beobachten. Einige Substanzen, wie beispielsweise Diclofenac, Carbamazepin oder Clarithromycin, werden bereits mit geringen Ozondosen von 2 mg$_{O3}$/l bis unter die Bestimmungsgrenze eliminiert. Diclofenac und Carbamazepin sind beides Substanzen mit hohen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten k_{O3}, weshalb sie als sehr gut durch Ozon reduzierbar eingestuft werden (vgl. Kap. 5.4.1, Lee et al. 2013).

Die Höhe der Elimination, die durch die Ozonung für die einzelnen Spurenstoffe erreicht werden kann, ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Hierzu zählen unter anderem die verfahrenstechnischen Einstellungen wie Ozondosis und Kontaktzeit. Des Weiteren hat auch die Qualität bzw. die Eigenschaften des zu behandelnden Abwassers, wie z. B. die Spurenstoffkonzentration, die organische Hintergrundmatrix oder weitere Abwasserparameter, einen Einfluss auf die Eliminationsleistung. Daher wird im Folgenden anhand der durchgeführten Untersuchungen der Einfluss dieser Faktoren für die Ozonung des Abwassers auf der Kläranlage Aachen-Soers abgeschätzt.

Ozondosis

Die Elimination der Spurenstoffe hängt vorrangig von der Ozondosis ab. Mit zunehmender Ozondosis nimmt auch die Elimination der Spurenstoffe zu (Abegglen et al. 2009a; Bahr et al. 2007; Lee et al. 2013). Eindeutige Zusammenhänge lassen sich insbesondere für moderat bis gut zu entfernende Substanzen, wie Benzotriazol, Candesartan, Methylbenzotriazol, Telmisartan und Metoprolol, erkennen. In Abbildung 84 ist die Elimination ausgewählter Spurenstoffe für Ozondosen von 2 mg_{O3}/l bis 6 mg_{O3}/l und einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min, entsprechend $Q_{Abwasser}$ = 6,15 m³/h, dargestellt. Benzotriazol und Candesartan, als Vertreter der moderat entfernbaren Stoffe, werden mit steigender Ozondosis zunehmend eliminiert. Sehr gut eliminierbare Substanzen, wie Carbamazepin, Diclofenac, Clarithromycin etc., werden bereits durch eine Ozondosis von 2 mg_{O3}/l bis unter die Bestimmungsgrenze eliminiert. Demzufolge findet bei höheren Ozonkonzentrationen auch keine Verbesserung der Elimination statt. Lediglich für den Stoff Valsartan konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der eingetragenen Ozondosis und der Elimination festgestellt werden. Die Tendenz, dass mit der Erhöhung der Ozonkonzentration auch eine Verbesserung der Spurenstoffelimination einhergeht, ist prinzipiell jedoch auch für Valsartan erkennbar.

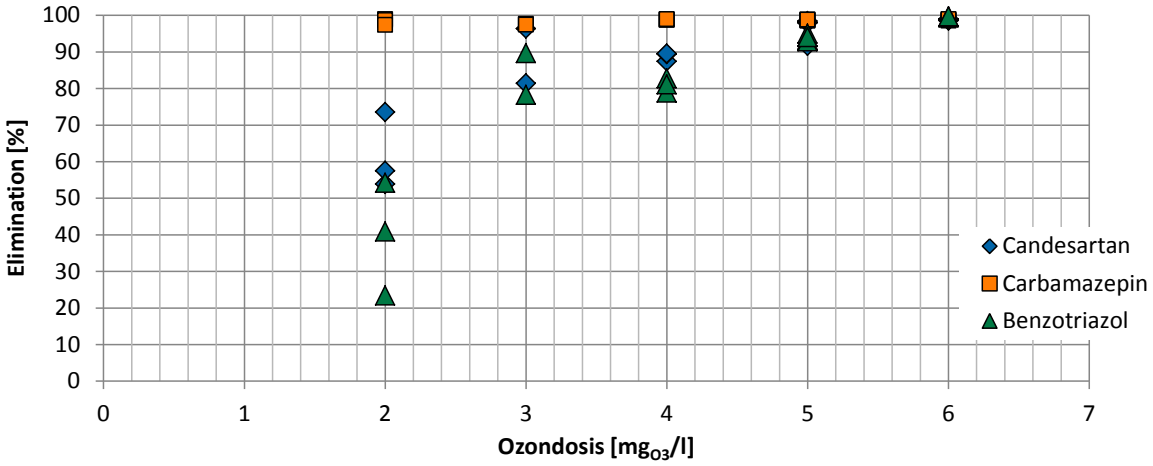

Abbildung 84: Elimination der Spurenstoffe Candesartan, Carbamazepin und Benzotriazol für unterschiedliche Ozondosen bei einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min

Die Unterschiede in der Eliminationsleistung je Substanz für verschiedene Tage und Abwässer nehmen mit zunehmender Ozondosis ab. Dies wird damit begründet, dass mit zunehmender Ozondosis fast alle Substanzen bis unter die Nachweisgrenze eliminiert werden und deshalb generell mit den zuvor gezeigten hohen Zulaufkonzentrationen Eliminationsraten von > 99 % resultieren. Für geringere Ozondosen ist der Einfluss der Abwassermatrix dagegen stärker ausgeprägt. Eine hohe Konzentration ozonzehrender Substanzen im Abwasser führt bei einer geringen Ozondosis dazu, dass nicht genügend Ozon für die Elimination der Spurenstoffe zur Verfügung steht (Antoniou et al. 2013). Für eine Ozondosis, die deutlich höher als der IOD liegt und somit Ozon gelöst im Abwasser vorliegt, ist der Einfluss der Abwasserqualität auf die Elimination geringer, da für alle Reaktionen genügend Ozon zur Verfügung steht.

Um verschiedene Untersuchungstage besser miteinander vergleichen zu können, wird die eingesetzte Ozondosis auf die DOC-Konzentration der einzelnen Abwässer bezogen; entsprechend ergibt sich die spezifische Ozondosis [mg_{O3}/mg_{DOC}]. Die spezifische Ozondosis berücksichtigt die im Abwasser vorhandenen organischen Verbindungen, welche ebenfalls mit dem Ozon reagieren. Diese Konkurrenzreaktionen führen dazu, dass weniger Ozon für die Elimination der Spurenstoffe zur Verfügung steht (Altmann et al. 2014). Die Elimination der bereits zuvor dargestellten Spurenstoffe in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis ist in Abbildung 85 aufgeführt. Hier kann ein deutlicher Zusammenhang zwischen den spezifischen Ozondosen und der Spurenstoffelimination gezeigt werden.

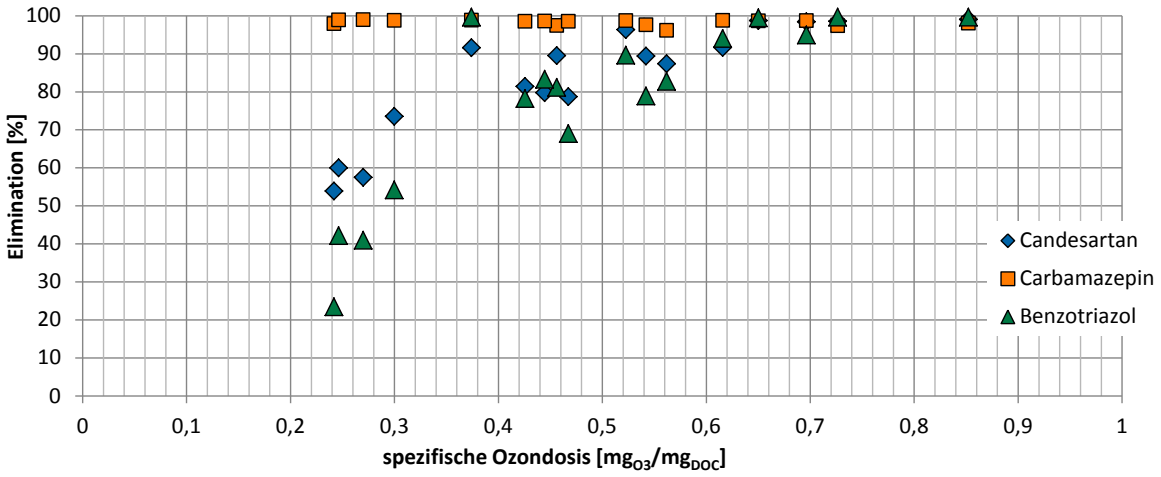

Abbildung 85: Elimination der Spurenstoffe Candesartan, Carbamazepin und Benzotriazol für unterschiedliche spezifische Ozondosierungen bei einer hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min

Bei Betrachtung aller untersuchter Spurenstoffe zeigt sich, dass eine Elimination von mindestens 80 % für alle Substanzen mit einer spezifischen Ozondosis von 0,4 mg$_{O3}$/mg$_{DOC}$ bis 0,6 mg$_{O3}$/mg$_{DOC}$ erreicht wird.

Hydraulische Aufenthaltszeit

Die hydraulische Aufenthaltszeit in der Pilotanlage wurde über die Förderleistung der Pumpe zur Ozonanlage eingestellt. An vier Tagen mit hohem Mischwasseraufkommen – Indikator hierfür war der Zulauf zur Kläranlage von über 1.200 m³/d – wurde der Zulauf zur Pilotanlage von 6,15 m³/h auf 9,9 m³/h erhöht. Dadurch verringerte sich die Aufenthaltszeit in der Pilotanlage von 20 min auf 13 min. Die Aufenthaltszeit im begasten Reaktor wurde durch diese Maßnahme von ca. 6 min auf ca. 4 min verringert.

Die Untersuchungen zeigen, dass durch die Änderung der Aufenthaltszeit für die untersuchten Versuchseinstellungen keine signifikanten Änderungen bezüglich der Elimination der einzelnen Spurenstoffe auftreten. In Abbildung 86 ist die mittlere Elimination der einzelnen Spurenstoffe für unterschiedliche Ozondosen und Aufenthaltszeiten dargestellt. Größere Unterschiede in der Elimination in Abhängigkeit der Zeit lassen sich z. B. für Bisoprolol dadurch erklären, dass generell eine Elimination bis unter die Nachweisgrenze stattfand und dadurch teilweise nur geringe Eliminationsgrade errechnet wurden.

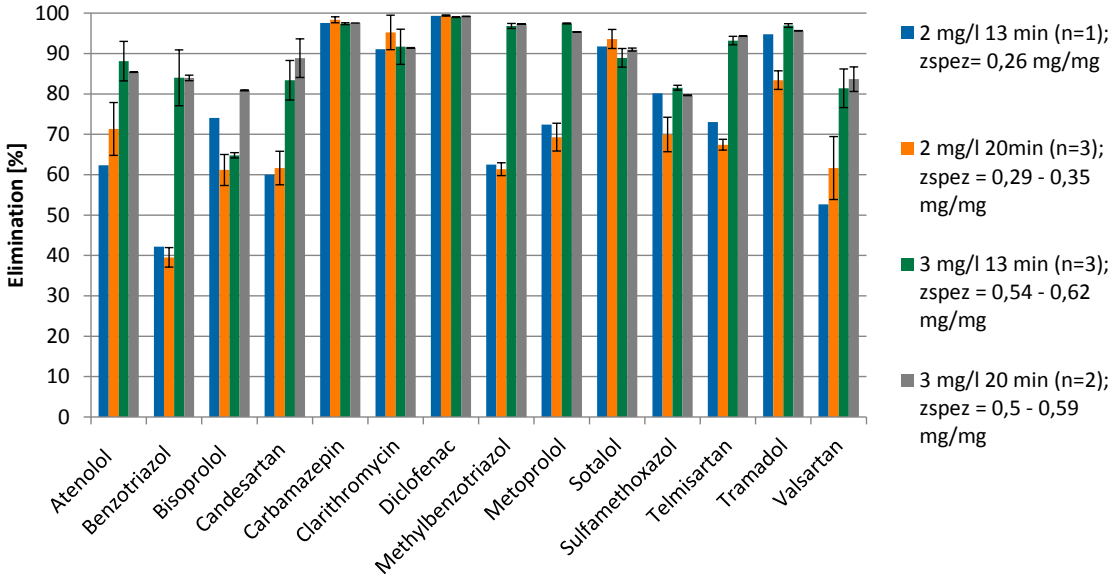

Abbildung 86: Mittlere Spurenstoffelimination (arithmetischer Mittelwert) für unterschiedliche applizierte Ozondosen und unterschiedliche hydraulische Aufenthaltszeiten.

Bei Betrachtung der Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis ist ebenfalls kein Einfluss durch die Verringerung der hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min auf 13 min erkennbar, vgl. Abbildung 87 für Candesartan und Benzotriazol.

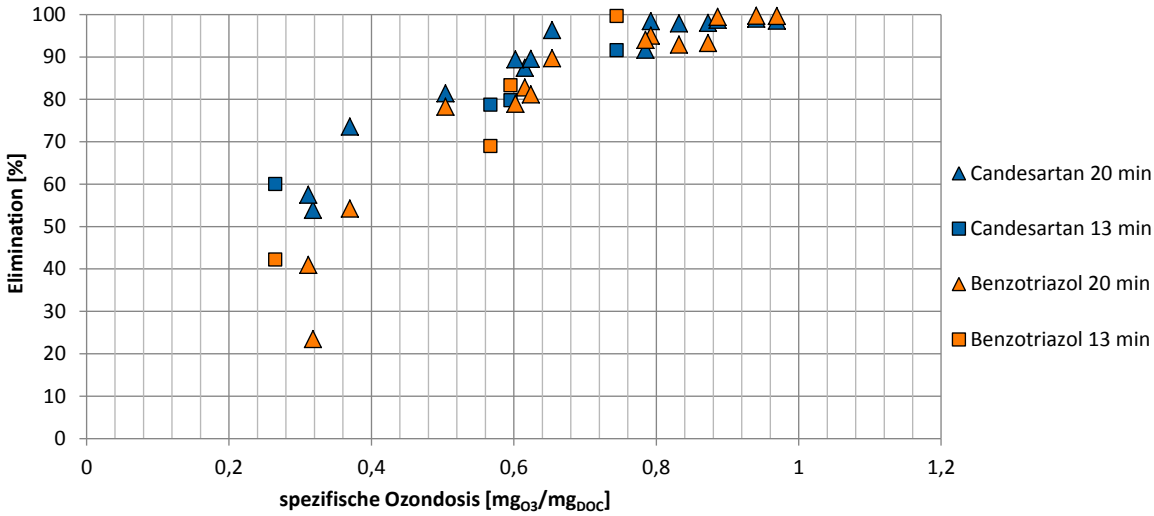

Abbildung 87: Elimination von Benzotriazol und Candesartan in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis für unterschiedliche hydraulische Aufenthaltszeiten

Aus den vorgestellten Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass eine Verkürzung der hydraulischen Aufenthaltszeit von 20 min auf 13 min für die untersuchten Ozondosen und Spurenstoffe in der Pilotanlage keine Verschlechterung des Eliminationserfolgs zur Folge hat. Die Ozonkonzentration im Ablauf der Pilotanlage, gemessen mit einem Schnelltest der Firma Hach lag für beide Auf-

enthaltszeiten, mit drei Ausnahmen, unter 0,15 mg/l. Ein Zusammenhang zwischen Aufenthaltszeit und Ozonkonzentration im Ablauf wurde nicht gefunden.

Abwasserqualität

Die Wirksamkeit der Ozonung ist von den Eigenschaften des untersuchten Abwassers abhängig. Dazu zählen unter anderem der CSB sowie der DOC als Maß für die organische Belastung, die Temperatur und der pH-Wert. Weitere bekannte Einflussgrößen auf die erzielbare Spurenstoffelimination sind z. B. die Nitritkonzentration, die AFS-Konzentration und der Carbonatgehalt eines Abwassers (Antoniou et al. 2013; Paraskeva und Graham 2002). Diese Parameter sowie weitere Standardparameter (vgl. Tabelle 6) wurden für jede Probe im Labor untersucht.

Die Stickstoffparameter Nitrit und Ammonium, sowie der Parameter AFS lagen an den verschiedenen Tagen mit einer weitgehend konstanten Konzentration oder nicht im Abwasser vor. Ein Einfluss dieser Parameter auf die Spurenstoffelimination ist daher nicht zu ermitteln. Über die Säurekapazität ($KS_{4,3}$) können Rückschlüsse auf den Carbonatgehalt eines Abwassers gezogen werden. Carbonate wirken als Scavenger bzw. Radikalfänger. Das Vorkommen von Carbonaten im Abwasser führt durch das Abfangen der Hydroxylradikale zu einer Verhinderung der indirekten Reaktion von Spurenstoffen mit Hydroxylradikalen. Durch hohe Carbonatkonzentrationen im Abwasser stehen weniger Hydroxylradikale für die Reaktion mit Spurenstoffen zur Verfügung. Die berechnete Carbonatkonzentration der Kläranlage Aachen-Soers liegt bei durchschnittlich 140 mg/l. Ein Einfluss der Carbonatkonzentration auf die Spurenstoffelimination konnte jedoch für diese Untersuchungen nicht nachgewiesen werden.

Prinzipiell werden die in diesem Projekt untersuchten Spurenstoffe mit vergleichsweise geringen Ozondosen eliminiert. Eine mögliche Erklärung für die gute Elimination der Spurenstoffe in Aachen sind die sehr geringen Konzentrationen an Nitrit und Ammonium, ein mit durchschnittlich 18 mg/l geringer CSB sowie eine geringe Carbonat-Konzentration (z. B. verglichen mit den Kläranlagenabläufen in Antoniou et al. (2013) (HCO_3^- = 154–256 mg/l; CSB = 29–90 mg/l)).

5.4.2.8

Dynamische Versuchsdurchführung

In einer zweiten Versuchsphase wurde die Pilotanlage volumenproportional zum Zulauf der Kläranlage beschickt. Die Anlage wurde dabei so eingestellt, dass analog zur geplanten großtechnischen Anlage eine hydraulische Aufenthaltszeit von 30 min für $Q_{T,max}$ eingestellt wurde und auch die minimale hydraulische Aufenthaltszeit bei Q_{Max} 13 min betrug. Die Proben wurden automatisch als mengenproportionale 24 h-Mischproben gezogen. In der folgenden Abbildung 88 ist beispielhaft ein online aufgezeichneter Verlauf des Kläranlagenzuflusses, des Zuflusses der Ozonanlage und der Ozonkonzentration im Feed-Gas aufgezeigt.

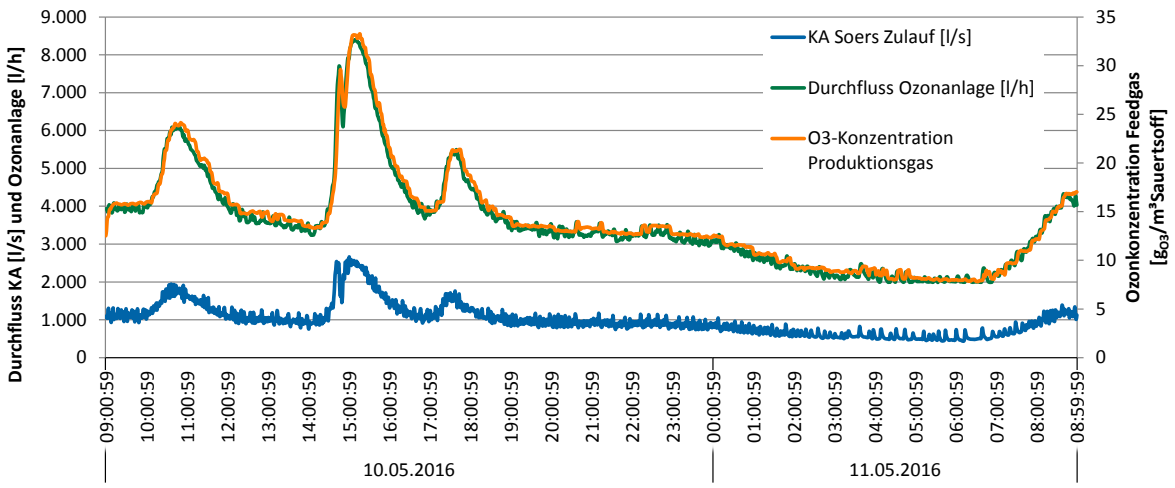

Abbildung 88: Tagesgang der Ozonanlage und des Zulaufvolumenstroms der Kläranlage Aachen-Soers während der volumenproportionalen Versuchseinstellung (beispielhaft für den 10.05.–11.05. 2016; 4 mg_{O3}/l)

Für die dynamischen Untersuchungen wurden sechs Indikatorsubstanzen auf der Kläranlage Aachen-Soers ausgewählt, die im weiteren Verlauf des Projekts als Vertretersubstanzen fungierten. Wichtige Eigenschaften, die zur Wahl der Substanzen als Vertretersubstanzen führten, sind:

- die Substanzen kommen regelmäßig im Ablauf der Nachklärung vor,
- die Kläranlage Aachen-Soers ist der maßgebliche Eintragspfad in die Wurm (Vorfluter),
- die Konzentration der Substanzen ist hoch genug, um die Elimination in der Ozonung abzubilden, und
- die Vergleichbarkeit durch ausreichende Untersuchungen in anderen Projekten ist gegeben.

Aufgrund der geforderten Eigenschaften wurden Benzotriazol, Candesartan, Clarithromycin, Diclofenac, Metoprolol und Tramadol als Indikatorsubstanzen ausgewählt. Die Eingangskonzentrationen der Indikatorsubstanzen während der dynamischen Versuchsreihe sind in Abbildung 89 dargestellt. Der Vergleich der Konzentrationen zu den im Rahmen der statischen Versuche beobachteten Konzentrationen zeigt, dass diese in vergleichbaren Größenordnungen liegen.

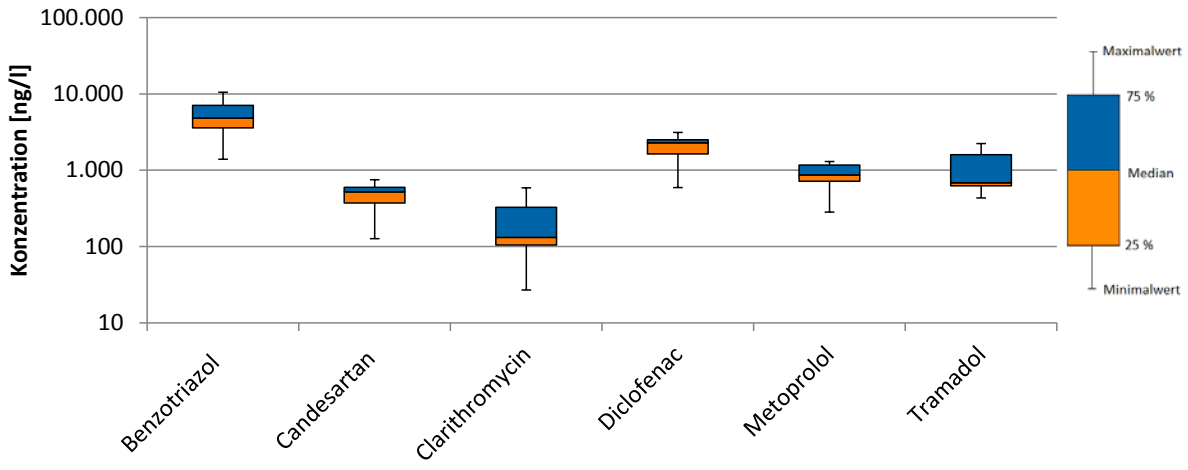

Abbildung 89: Spurenstoffkonzentrationen im Zulauf zur Pilotanlage während der dynamischen Versuche (n = 20)

Die Pilotanlage wurde kontinuierlich und volumenproportional betrieben und Ozondosierungen von 3 mg_{O3}/l bis 6 mg_{O3}/l eingestellt. An ausgewählten Tagen wurden 24 h-Mischproben aus dem Zulauf und dem Ablauf der Ozonanlage entnommen und diese auf die Reduktion der Indikatorparameter untersucht. Die Ergebnisse der Spurenstoffelimination während des beschriebenen Screenings sind in Abbildung 90 dargestellt. Die Elimination der Substanzen Benzotriazol, Candesartan Diclofenac und Metoprolol wurden gegen die eingestellte Ozondosierung aufgetragen. Die Spurenstoffe Tramadol und Clarithromycin sind hier nicht dargestellt, da sie in der Regel, ähnlich wie Diclofenac, bereits für die geringsten eingestellten Ozondosierungen zu mehr als 90 % reduziert wurden. Benzotriazol ist die am schwierigsten zu entfernende Substanz, was bereits in den statischen Versuchen klar wurde und auch in der Literatur (vgl. Jekel et al. 2015) so berichtet wird. Die Ergebnisse zur Reduktion der Spurenstoffe infolge der Ozonung zeigen, dass insbesondere für geringe Ozonkonzentrationen die Spurenstoffeliminationen stark variieren. Für mäßig eliminierbare Substanzen wie Benzotriazol und Candesartan ist dieser Unterschied größer als für besser zur eliminierende Substanzen, wie z. B. Metoprolol. Verglichen mit den statischen Versuchen sind die erreichten Eliminationsgrade für die mäßig zu eliminierenden Substanzen während der dynamischen Versuche geringer. Benzotriazol wurde während der statischen Versuche beispielsweise bereits mit einer Ozondosis von 3 mg_{O3}/l um durchschnittlich 84 % reduziert, wohingegen während der dynamischen Versuche Reduktionen von 47 % bis 82 % erreicht wurden. Auch Metoprolol konnte während der statischen Versuche ab einer Ozonkonzentration von 3 mg_{O3}/l für alle Untersuchungen um > 97 % reduziert werden. Während der dynamischen Versuche weichen die beobachteten Eliminationsgrade dagegen von diesen Werten ab. Eine mögliche Erklärung für die veränderten Eliminationsgrade kann in der Änderung der hydraulischen Bedingungen infolge der dem Tagesgang angepassten Volumenströme zur Pilotanlage liegen. Eine Zunahme des Volumenstroms verändert die hydraulischen Verhältnisse in der Pilotanlage, weshalb es zu Kurzschluss-

strömungen oder Totvolumina kommen kann. Diese sind während fest eingestellter Versuchsbedingungen nicht derart zu erwarten, da hier gleichmäßige Verhältnisse vorliegen.

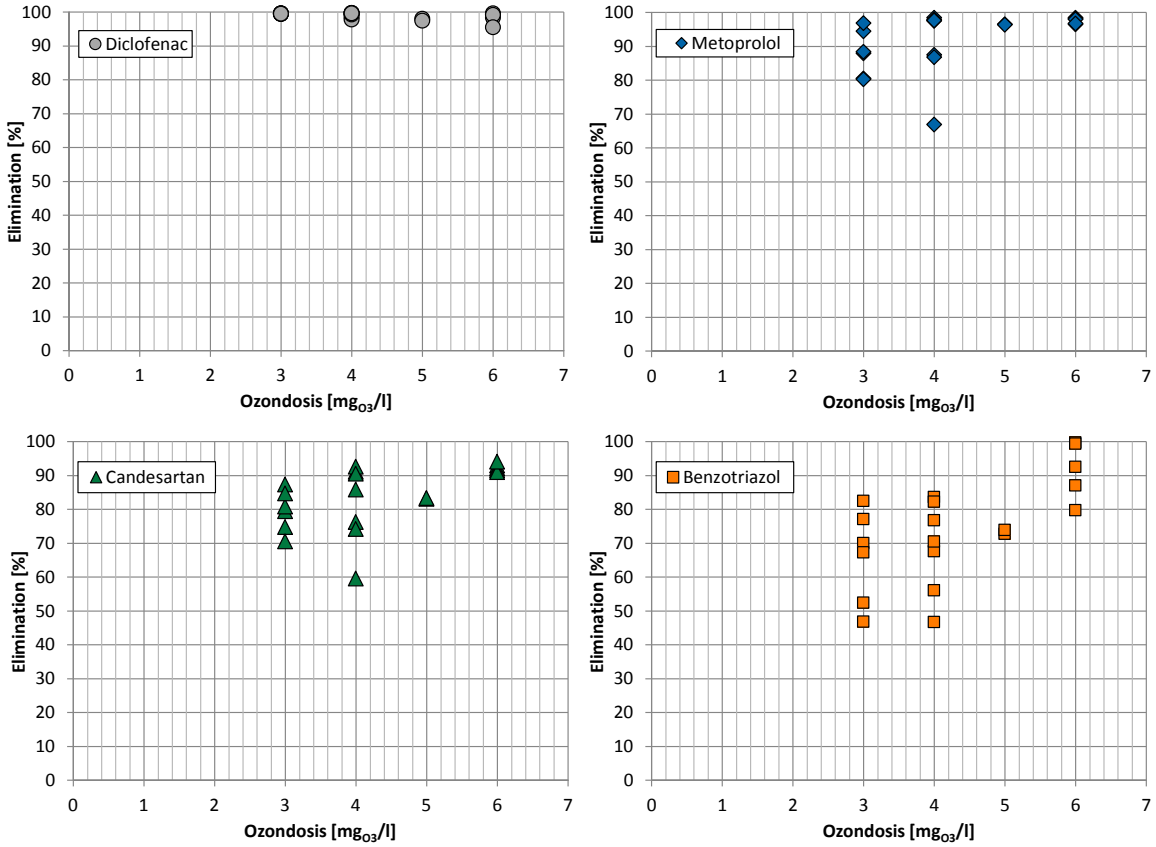

Abbildung 90: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche

Analog zu den Versuchen im statischen Betrieb und um eine Übertragbarkeit und Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse mit anderen Projekten sicherzustellen, wird die Spurenstoffelimination auf die spezifische Ozondosis bezogen. In Abbildung 91 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Durch den Bezug der Ozondosis auf die organische Belastung des Abwassers kann ein deutlich besserer Zusammenhang hinsichtlich der Spurenstoffelimination erreicht werden. Auch hier wird eine verminderte Spurenstoffelimination verglichen mit den statischen Versuchen beobachtet. Dies stützt die These, dass diese Verringerung in der Effizienz keine Folge einer höheren Hintergrundbelastung des Abwassers ist, sondern mit den geänderten hydraulischen Bedingungen zusammenhängt. Eine Abhängigkeit der Spurenstoffelimination von der hydraulischen Aufenthaltszeit konnte jedoch auch während dieser Untersuchungsphase nicht gefunden werden.

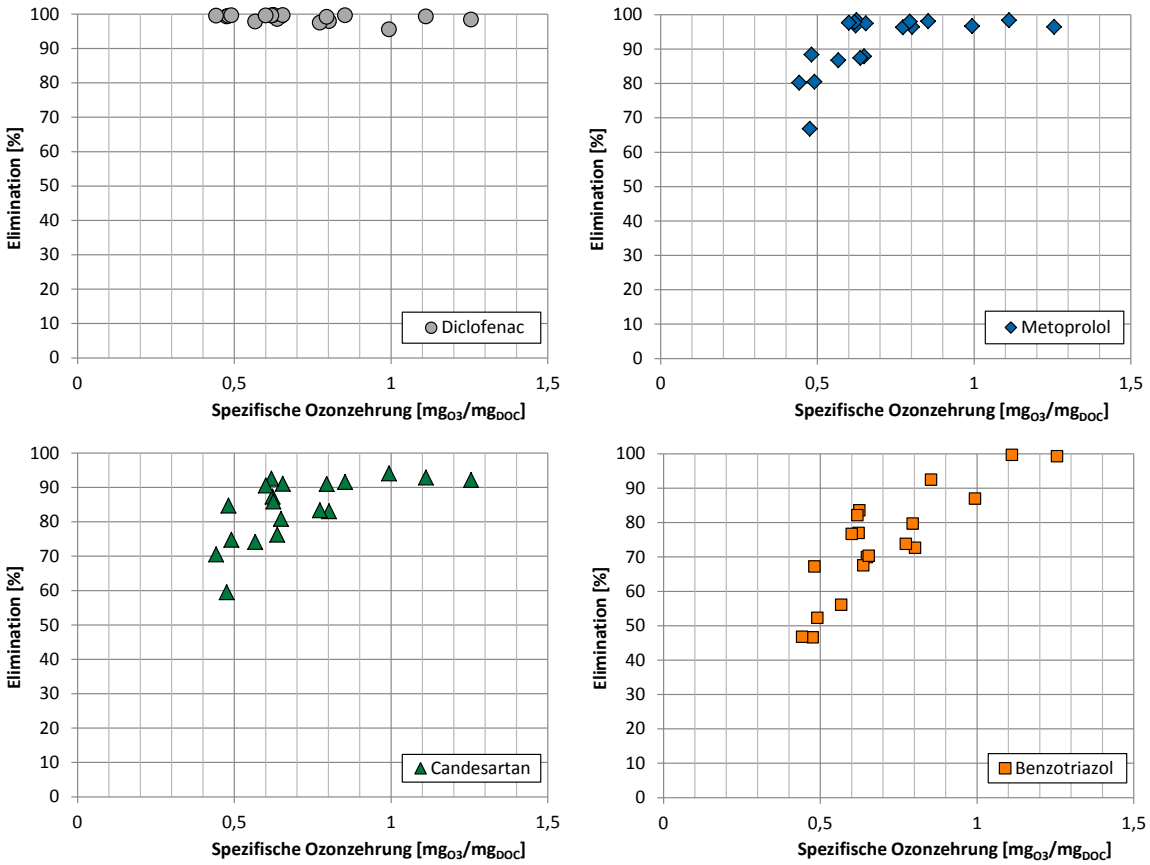

Abbildung 91: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Spurenstoffelimination mittels Ozonung auf der Kläranlage Aachen-Soers sind insgesamt mit denen anderer Projekte vergleichbar. Für eine gute Reduktion der Spurenstoffe wird gemäß diesen durchgeführten Untersuchungen eine Ozondosis von 3 mg_{O3}/l bis 4 mg_{O3}/l bzw. eine spezifische Ozondosis von 0,5 g_{O3}/g_{DOC} bis 0,7 g_{O3}/g_{DOC} empfohlen.

5.4.3 Steuer- und Regelkonzepte

Die Online-Messungen während der Abwasserozonung sollen eine bedarfsgerechte Ozondosierung unterstützen. Für den Betrieb einer Ozonung werden online messbare Größen gesucht, die eine Überdosierung von Ozon vermeiden sollen und so sowohl Kosten als auch die Bildung unerwünschter Nebenprodukte vermindern. Bei der volumenproportionalen Ozondosierung findet keine Anpassung des eingetragenen Ozons an die Belastungssituation des Abwassers statt. Dadurch kann es leicht zu einer Überdosierung von Ozon kommen, wenn z. B. im Regenwetterfall eine Verdünnung des Abwassers bei hohen Volumenströmen vorliegt. Es existiert zwar die Möglichkeit der Programmierung einer Regenwetterdämpfung, jedoch wird hierbei nur die Ozonkonzentration heruntergedrosselt, sobald der Abwasservolumenstrom einen definierten Wert, z. B. $Q_{T,max}$ überschreitet. Es findet jedoch keine bedarfsgerechte Ozondosierung statt. Als Bezugspa-

rameter zur Dosierung von Ozon bzw. als Regelparameter zur Kontrolle des Erfolgs der Spurenstoffelimination sind beispielsweise der DOC, der SAK_{254} oder der ΔSAK_{254} bekannt (Altmann et al. 2014; ARGE 2014; Lee et al. 2013). Weitere Parameter zur Überwachung der Ozonung bzw. zur Steuerung der Ozondosis sind beispielsweise die Ozon-Off-Gas-Konzentration oder die Ozonkonzentration im Abwasser. Die Ozonkonzentration im Ablauf der Ozonanlage eignet sich nur bedingt für die Regelung einer Ozonanlage, da in der Regel kein Ozon im Ablauf der Anlage vorhanden ist. Die übrigen Parameter werden im weiteren Verlauf näher betrachtet und auf ihre Eignung als Steuerungs- bzw. Regelungsparameter überprüft.

Die Ergebnisse der volumenproportionalen Ozondosierung sowie die Auswertung der Daten hinsichtlich einer Korrelation zwischen der Spurenstoffelimination sowie der spezifischen Ozondosis wurde bereits in Kapitel 5.4.2 gezeigt. Die Ozondosis zeigt keinen eindeutigen funktionalen Zusammenhang zur Spurenstoffelimination auf, da die Ergebnisse stark variieren. Der Zusammenhang zwischen der spezifischen Ozondosis und der Spurenstoffelimination ist dabei deutlich stärker ausgeprägt. Jedoch ist zu beachten, dass für diese frachtproportionale Dosierung eine online-Messung des DOC benötigt wird, welche möglichst zeitnah exakte Werte liefert. Generell können analytische Methoden hierfür angewendet werden, welche vergleichsweise zeitaufwändig sind und nicht unmittelbar ein Ergebnis liefern. Alternativ wird der DOC über online-Sonden photometrisch bestimmt. Dies impliziert eine Berechnung des DOC aus den gemessenen Adsorptionskoeffizienten mit verschiedenen Wellenlängen und ist in der Regel vom Hersteller programmiert.

Eine weitere Möglichkeit, um die Belastung des Abwassers in die Ozondosierung einzubeziehen, ist die Ozondosis direkt auf dem spektralen Adsorptionskoeffizienten zu beziehen. Allgemein hat sich für Regelungen im Bereich der Abwasserreinigung der SAK bei 254 nm bewährt. In Abbildung 92 sind der Zusammenhang der DOC-Konzentration im Abwasser (links) sowie die Spurenstoffkonzentration in Abhängigkeit der SAK_{254}-spezifischen Ozondosierung (rechts) dargestellt.

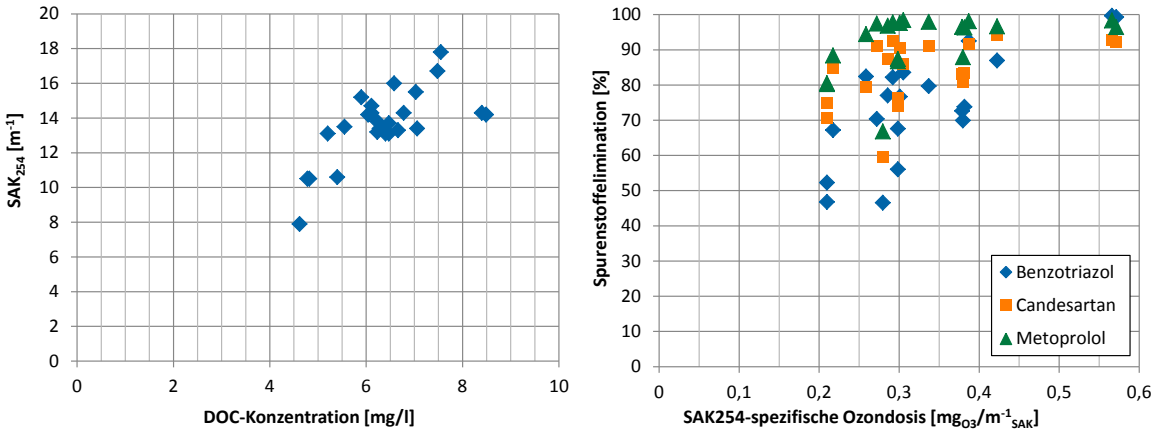

Abbildung 92: Links: Korrelation zwischen der DOC-Konzentration der Abwasserproben und dem SAK$_{254}$. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der SAK$_{254}$-spezifischen Ozondosierung während der dynamischen Ozonversuche.

Zwischen dem im Labor gemessenen SAK$_{254}$ und der DOC-Konzentration ist ein deutlicher Zusammenhang festzustellen. Mit steigender DOC-Konzentration nimmt auch der SAK$_{254}$ zu. Allerdings ist die Korrelation zwischen der SAK-spezifischen Ozondosierung und der Spurenstoffelimination für die drei dargestellten Spurenstoffe geringer als für die übliche auf den DOC bezogene spezifische Ozondosierung. Daher ist eine SAK-spezifische Ozondosierung für die Steuerung dieser Ozonanlage eher nicht geeignet.

Im Bereich der Spurenstoffelimination wurde in einigen Forschungsvorhaben der Zusammenhang zwischen einer prozentualen Abnahme des SAK$_{254}$ infolge der Ozonung und der Spurenstoffelimination beschrieben. Dieser Zusammenhang kann im besten Fall sogar für eine bedarfsgerechte Regelung der Ozonung genutzt werden. (Altmann et al. 2014; ARGE 2014; Fleiner et al. 2015). Die in diesem Projekt enthaltenen Ergebnisse bestätigen, dargestellt in Abbildung 93, dass ebenfalls eine gute Korrelation zwischen der prozentualen SAK$_{254}$-Abnahme und der Reduktion der Spurenstoffe vorliegt. In der linken Grafik ist ein klarer Zusammenhang zwischen der spezifischen Ozondosis und dem Delta SAK$_{254}$ (ΔSAK$_{254}$) dargestellt. Rechts ist die Reduktion dreier Spurenstoffe gegen den ΔSAK$_{254}$ dargestellt. Hierbei sind sehr gute Korrelationen zu erkennen, weshalb diese Größe für die bedarfsgerechte Ozondosierung zur Regelung in Betracht gezogen werden kann. Die erhobenen Ergebnisse stimmen mit Angaben aus der Literatur überein, die ebenfalls eine Abhängigkeit der Spurenstoffelimination von der spezifischen Ozonzehrung und von der Absorbanzabnahme dokumentieren (Altmann et al. 2014; Antoniou et al. 2013; Nanaboina und Korshin 2010).

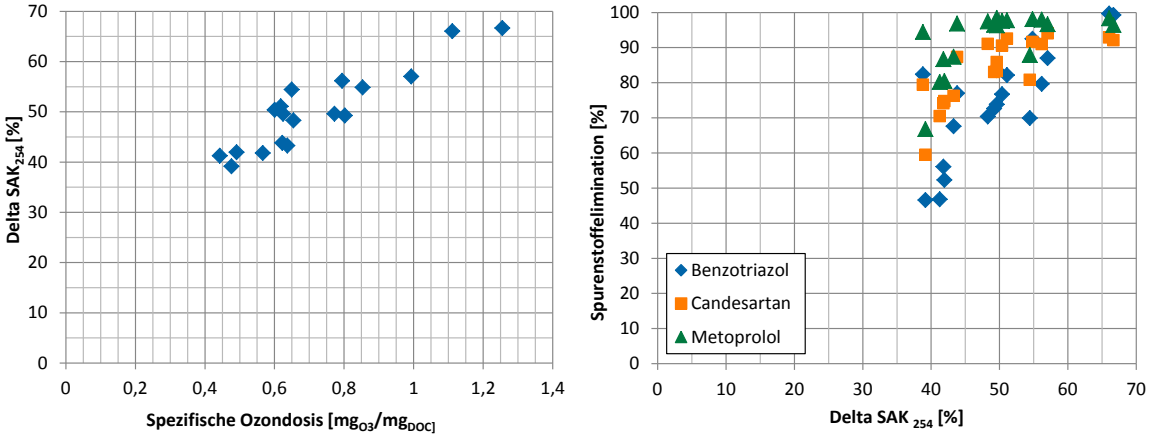

Abbildung 93: Links: Korrelation zwischen der spezifischen Ozondosierung und dem daraus resultierendem ΔSAK$_{254}$. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit des ΔSAK$_{254}$ während der dynamischen Ozonversuche.

Einschränkungen der ΔSAK$_{254}$-Regelung ergeben sich daraus, dass die eingesetzten online-Messsonden die Messergebnisse genau genug angeben müssen. Da der SAK$_{254}$ beispielsweise im Aachener Abwasser in der Regel Werte zwischen 10 m^{-1} und 15 m^{-1} annimmt, führt bereits eine Ungenauigkeit der Sonden von ± 1 m^{-1} im Zulauf und im Ablauf zu einer Abweichung von ca. 10 % bis 20 %. Eine Abweichung dieser Größenordnung hätte entsprechend der Abbildung 93 starke Auswirkungen auf die eingesetzte Ozondosis und damit auf die erreichte Spurenstoffelimination. Da die Messungen der Sonden stark schmutzempfindlich sind, muss eine regelmäßige Reinigung gewährleistet werden. Als weitere Limitierung des Verfahrens ist zu beachten, dass die Regelstrecke durch die Aufenthaltszeit im Reaktor bis zu 40 Minuten betragen kann. Entsprechend werden kurzfristige Anpassungen der Ozondosis durch diese Regelung nicht umgehend erfasst.

Ein weiterer Parameter, der vergleichsweise schnell auf sich ändernde Randbedingungen reagiert und zuverlässig gemessen wird, ist die Restkonzentration des Ozons in der Abluft (Off-Gas). Der Zusammenhang zwischen der spezifischen Ozondosis und der resultierenden Ozonkonzentration im Off-Gas ist links in Abbildung 94 dargestellt. Das Ergebnis zeigt, dass die Ozonkonzentration im Off-Gas mit zunehmenden spezifischen Ozondosen ebenfalls ansteigt. Daraus kann geschlossen werden, dass die Ozonkonzentration im Off-Gas als Kontrollparameter geeignet ist, um anzuzeigen, ob eine hohe oder eine geringe spezifische Ozondosis appliziert wurde. Im rechten Teil der Abbildung ist die Abhängigkeit der Spurenstoffkonzentration von der Ozonkonzentration im Off-Gas dargestellt. Es ist ein deutlicher Zusammenhang erkennbar. Vergleichsweise schwierig sind jedoch die geringen Off-Gas-Konzentrationen, die zu einer deutlichen Änderung der Spurenstoffelimination führen. So wird beispielsweise für eine Ozonkonzentration im Off-Gas von 0,1 mg/l die Konzentrationen von Benzotriazol und Metoprolol um ca. 50 % bzw. 80 % reduziert. Für eine Ozonkonzentration im Off-Gas von 0,2 mg/l liegen die entsprechenden Eliminationsraten bereits bei ca. 70 % bzw. > 90 %. Diese starke Änderung bei vergleichsweise kleinen Schwankungen der Ozonkonzentration ist für eine potenzielle Regelung zu beachten.

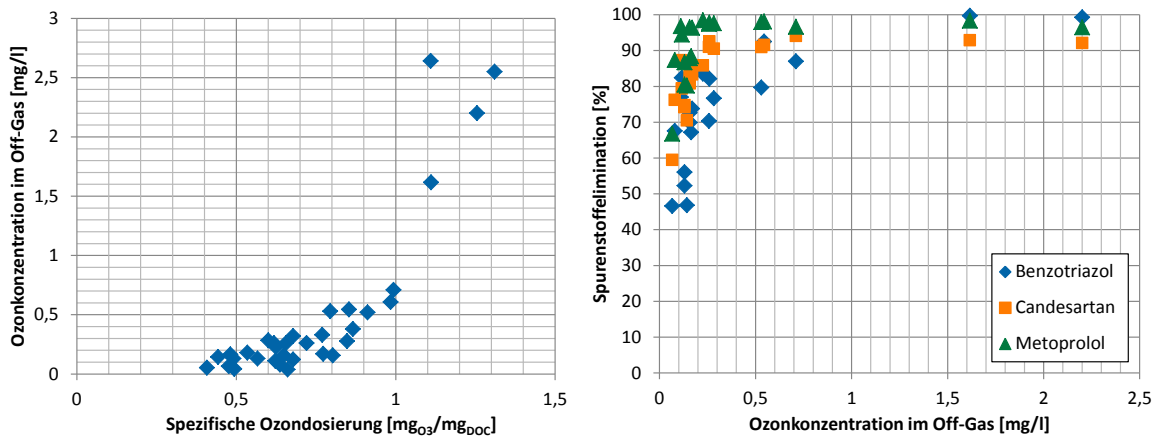

Abbildung 94: Links: Korrelation zwischen der spezifischen Ozondosierung und der daraus resultierenden Ozon-Konzentration im Off-Gas. Rechts: Spurenstoffelimination in Abhängigkeit der Ozonkonzentration im Off-Gas während der dynamischen Ozonversuche

Generell konnte ein Zusammenhang zwischen der Ozonkonzentration in der Abluft sowie der prozentualen SAK$_{254}$-Abnahme und der Elimination der Spurenstoffe festgestellt werden. Insgesamt stellen die volumenproportionale Steuerung sowie die Delta-SAK-basierte Regelung die vielversprechendsten Verfahren dar und werden somit in der großtechnischen Kläranlage Aachen-Soers getestet.

5.4.4 Transformationsproduktbildung

Im Rahmen der Untersuchungen wurden als mögliche Transformationsprodukte der Ozonung 8 Nitrosamine (N-Nitrosodimethylamin, N-Nitrosodibutylamin, N-Nitrosodiethylamin, N-Nitrosodipropylamin, N-Nitrosoethylmethylamin, N-Nitrosomorpholin, N-Nitrosopiperidin, N-Nitrosopyrrolidin) und Bromat untersucht. Nitrosamine wurden im Ablauf der Pilotanlage nicht gefunden, deshalb wird im Nachfolgenden ausschließlich Bromat betrachtet.

Im Abwasser befindliches Bromid kann während der Ozonung zu Bromat reagieren. Bromat ist potenziell kanzerogen und daher in der Trinkwasserverordnung mit einem Grenzwert von 10 µg/l reglementiert. Im Rahmen dieses Projekts wurde ein Schwerpunkt auf die Untersuchung der Einflussfaktoren auf die Bromatbildung gelegt und darüber hinaus Optionen untersucht, die eine Bromatbildung vermeiden. Hierzu wurden sowohl im Labor als auch an der Pilotanlage während der gesamten Versuchszeit mit Ozon behandelte Proben genommen und auf die gebildete Bromatkonzentration untersucht. Die Beprobung der Pilotanlage umfasste sowohl Stichproben als auch 24 h-Mischproben für Ozondosierungen von 1 mg$_{O3}$/l bis 8 mg$_{O3}$/l. Entsprechend der erhaltenen Ergebnisse zur Spurenstoffelimination wird eine Ozondosis von ca. 4 mg$_{O3}$/l als ausreichend angesehen. Die darüberhinausgehenden Dosierungen wurden explizit zum Zweck der Bromatproduktion eingestellt, damit eine Beobachtung und Bewertung der Einflussfaktoren der Bromatbildung erfolgen kann.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Bromatbildung sind in Abbildung 95 dargestellt. Es ist eine Abhängigkeit der gebildeten Bromatkonzentration von der Ozondosis erkennbar. Dennoch ist die Schwankungsbreite der gebildeten Bromatkonzentration für die gleiche Ozondosis groß.

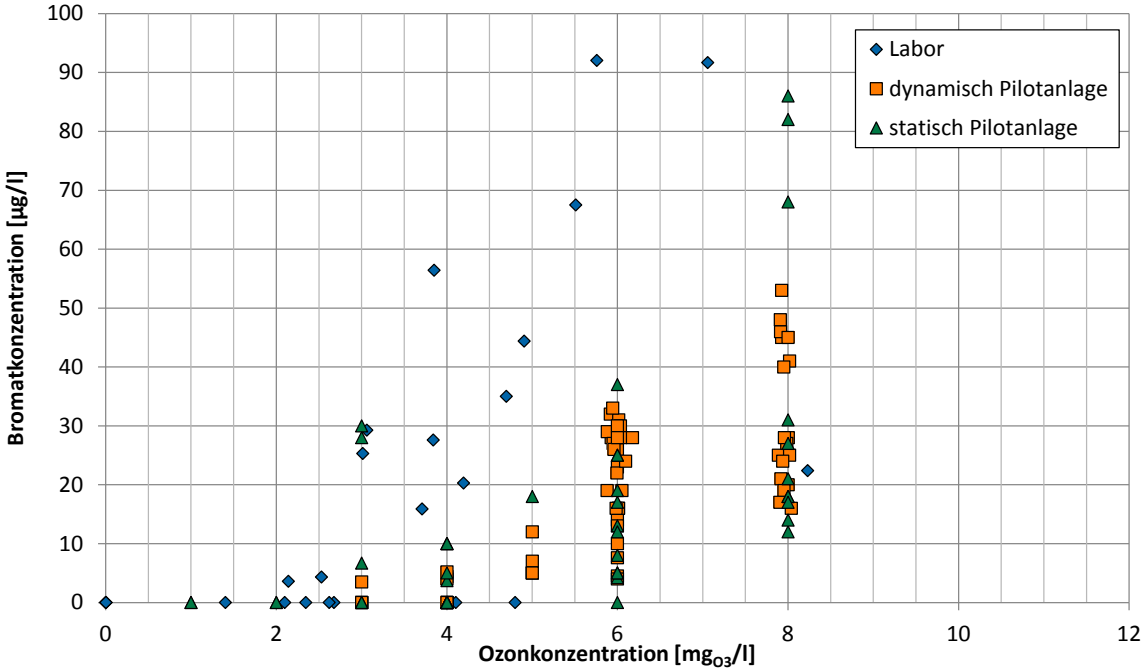

Abbildung 95: Bromatbildung infolge der Ozonung in Abhängigkeit der Ozondosis im Vergleich für die Pilotanlage und Laborversuche.

Des Weiteren fällt auf, dass die im Labor ermittelten Bromatkonzentrationen deutlich über den in der Pilotanlage gemessenen Werten liegen. Eine Ursache hierfür scheint das Versuchsdesign zu sein, welches im Labormaßstab optimale Bedingungen für die Bromatbildung bietet. Die Abwasserprobe wird mit einer Stammlösung vermischt und anschließend bis zur Analyse in einem verschlossenen Gefäß aufbewahrt. Dadurch kann das gesamte Ozon mit den Abwasserinhaltsstoffen reagieren und es gast nicht aus. Darüber hinaus findet keine Durchmischung des Abwassers mit frischem, noch nicht mit Ozon behandeltem Abwasser statt, welches dazu führen würde, dass gelöstes Ozon schneller gezehrt wird. Dies ist jedoch in der Pilotanlage der Fall, da diese kontinuierlich mit teilweise wechselnden Strömungsverhältnissen durchströmt wird.

Die hohe Variabilität der Bromatkonzentration im Anschluss an die Ozonung lässt auch hier den Schluss zu, dass über die Ozondosis hinausgehend weitere Parameter einen Einfluss auf die Bromatbildung haben. Der Zusammenhang zwischen Bromatkonzentration und Ozondosis wurde bereits z. B. von Bahr et al. (2007) beschrieben. Es ist jedoch kein eindeutiger funktioneller Zusammenhang zwischen der Ozondosierung und der Bromatbildung zu erkennen, da die Bildung von Bromat eine komplexe Reaktion ist, die durch zahlreiche Randbedingungen beeinflusst wird. Zu den Randbedingungen zählen zum einen die Abwasserzusammensetzung, wie der DOC, die Bromidkonzentration, der pH-Wert, die Carbonathärte, etc. und zum anderen die

verfahrenstechnischen Gegebenheiten, wie die Ozondosis und die Reaktionszeit (Bouland et al. 2004; Jarvis et al. 2007). Für eine Überwachung der Bromatbildung im Betrieb ist es von Interesse, analog wie in Kapitel 5.4.2 für die Spurenstoffelimination dargestellt, online messbare Parameter zu erhalten, die für die Steuerung bzw. Regelung der Bromatbildung genutzt werden können. Daher wurde die Korrelation der gebildeten Bromatkonzentration während der dynamischen Versuche mit verschiedenen Parametern untersucht, um einen Einfluss dieser Parameter auf die Bromatbildung festzustellen. In Abbildung 96 wurde die Bromatkonzentration gegen die Ozondosis, die spezifische Ozondosis, die Ozonkonzentration im Off-Gas sowie die Ozonkonzentration im Feed-Gas aufgetragen. Eine online-Erfassung der Abwasserinhaltsstoffe ist, z. B. für den DOC mit einem vergleichsweise hohen Wartungsaufwand verbunden. Die Ozonkonzentrationen im Off-Gas können dagegen schnell und zuverlässig online erfasst werden. Die Ozonkonzentration im Feed-Gas hängt, anders als beispielsweise die Ozondosis, sowohl von der Ozondosis als auch von der Reaktionszeit ab, da hier ein fester Feed-Gasvolumenstrom von 1 m³/h angesetzt wurde und die Ozonkonzentration im Gasvolumenstrom von der SPS (speicherprogrammbasierte Steuerung) entsprechend Formel 7 berechnet wurde.

Formel 7

$$\mathbf{D \cdot Q_{Gas,Zu} \cdot Q_{Abw,Zu} = c_{O3,Feed}}$$

Mit: D = Ozondosis [g/m³]

$Q_{Gas,Zu}$ = Volumenstrom Feedgas [m³/h]; (hier immer 1 m³/h)

$Q_{Abw,Zu}$ = Volumenstrom Abwasser [m³/h]

$C_{O3,Feed}$ = Ozonkonzentration im Feedgas [g/m³]

Die Konzentration des Ozons im Off-Gas zeigt dagegen an, wie viel Ozon nicht im Abwasser gelöst werden konnte, was auf eine zu kurze Kontaktzeit des Abwassers mit dem Ozongas oder eine Überdosierung zurückzuführen ist.

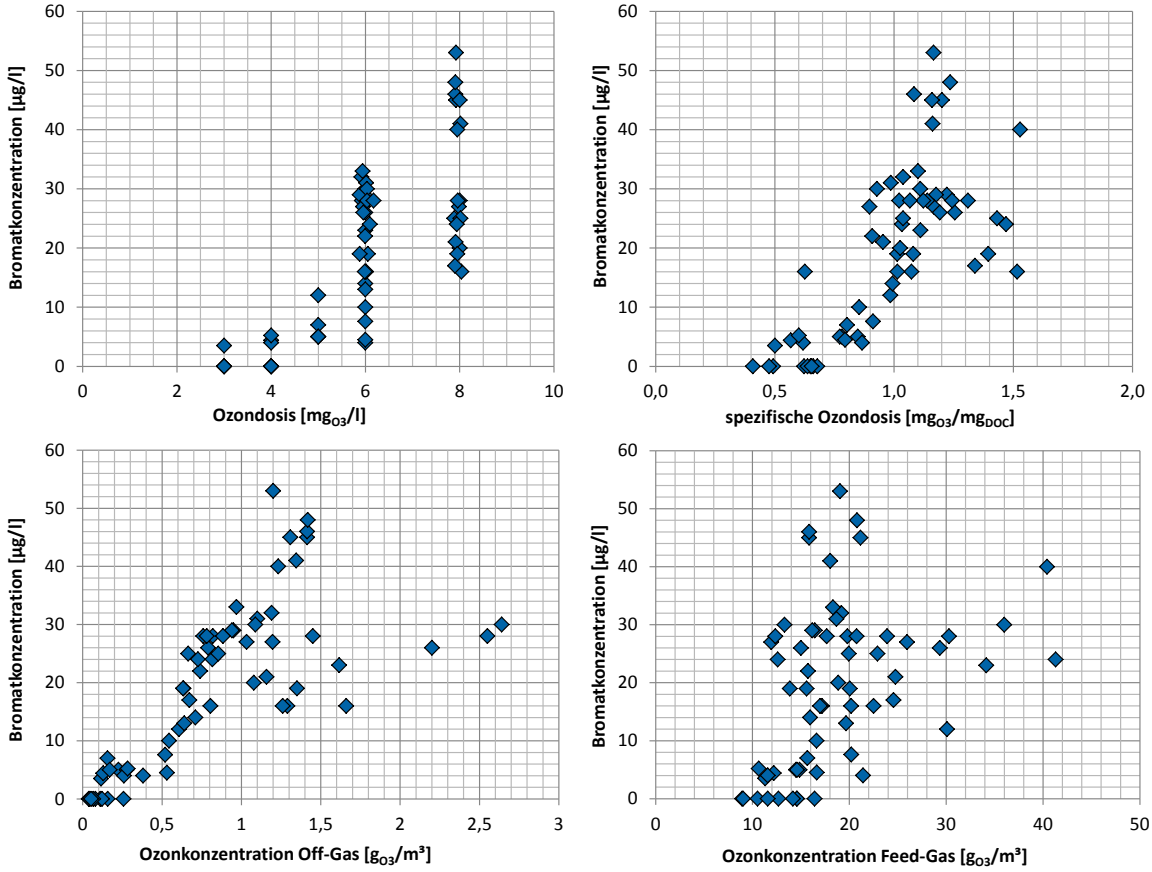

Abbildung 96: Bromatkonzentration im Ablauf der Pilotanlage in Abhängigkeit unterschiedlicher Betriebsparameter.

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl für die spezifische Ozondosis als auch für die Ozonkonzentration im Off-Gas ein Zusammenhang zur Bromatkonzentration im Ablauf existiert. Die Bromatkonzentration nimmt mit zunehmender spezifischer Ozondosis zu. Das bedeutet, dass bei gleicher Ozondosis in einem gering mit organischer Substanz belasteten Abwasser eine höhere Bromatbildung zu erwarten ist als in einem stark belasteten Abwasser, in welchem das Ozon durch verschiedene Konkurrenzreaktionen gezehrt wird. In einem stark zehrenden Abwasser liegt Ozon dagegen potenziell weniger lange gelöst vor. Entsprechend sind Reaktionen zwischen Ozon und Bromid seltener. Hohe Ozonkonzentrationen in der Abluft zeigen ebenfalls eine Überdosierung an. Entsprechend kann auch dieser Parameter als Vorsorge-Schwellenwert oder Korrekturfaktor genutzt werden, der in die Steuerung oder Regelung einprogrammiert werden kann und so einer Bromatbildung entgegengewirkt. Bis zu einer Ozonkonzentration im Off-Gas von 0,5 g_{O3}/m^3 liegen die gemessenen Bromatwerte sicher unter 10 µg/l. In Kapitel 5.4.2 wurde gezeigt, dass die untersuchten Spurenstoffe bereits bei niedrigeren Ozonkonzentrationen im Mittel über 80 % eliminiert wurden.

Zur Überprüfung der Bromatbildung im laufenden Betrieb wurde eine hohe Ozondosis von 6 mg_{O3}/l eingestellt und die Pilotanlage volumenproportional betrieben sowie zeitproportionale

4 h-Mischproben genommen. In Abbildung 97 sind die Ergebnisse dieses dreitägigen Monitorings grafisch dargestellt. Der Zufluss zur Ozonanlage lag in diesem Zeitraum relativ gleichmäßig bei 2.000 l/h bis 3.800 l/h. Die bezüglich der Abwasserqualität gemessenen Parameter DOC (MW: 5,9 mg/l), Ammonium-N (immer < BG), Nitrit-N (MW: 0,015 mg/l), CSB (MW: 17,7 mg/l) und pH-Wert (MW: 7) zeigten ebenfalls, abgesehen von der ersten Probe, keine großen Ausreißer. Die spezifische Ozondosis lag in diesem Zeitraum in der ersten Probe bei 0,6 mg_{O3}/mg_{DOC} und für den übrigen Zeitraum zwischen 0,9 mg_{O3}/mg_{DOC} und 1,2 mg_{O3}/mg_{DOC} und die Ozonkonzentration in der Abluft variierte von bei 0,6 g_{O3}/m^3 bis 1,5 g_{O3}/m^3 (erste Probe 1,7 g_{O3}/m^3), und somit deutlich über dem zuvor als möglicher Schwellenwert identifizierten Konzentration von 0,5 g_{O3}/m^3.

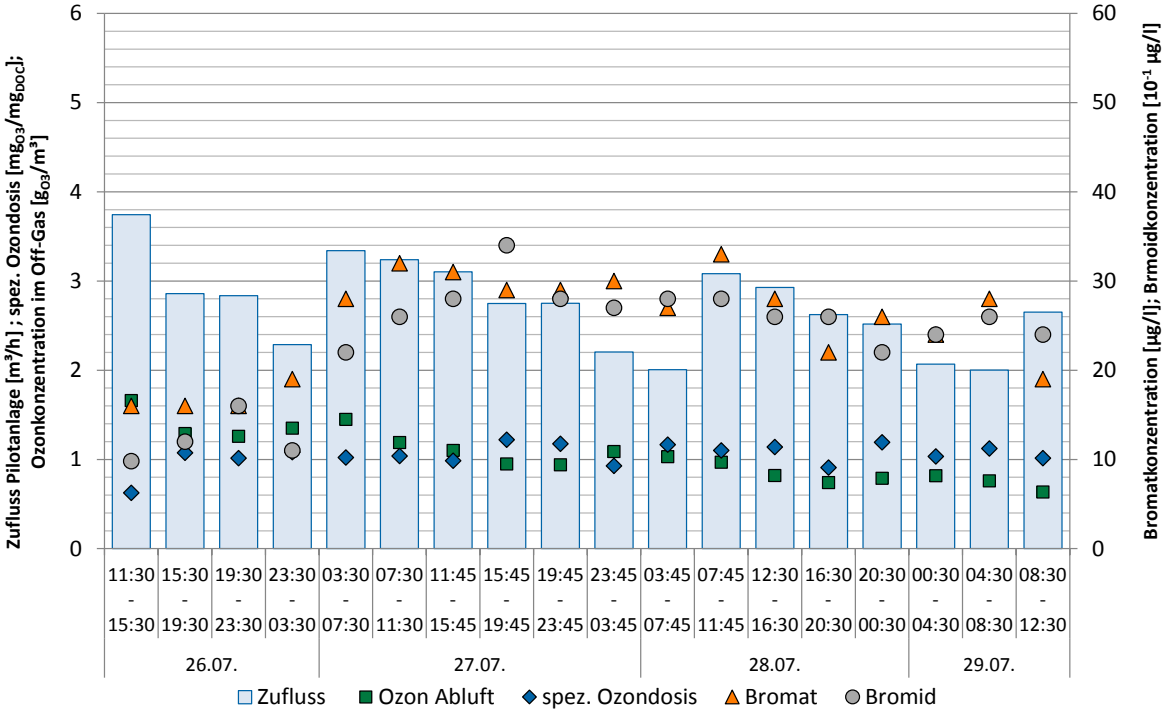

Abbildung 97: Dreitägiges Monitoring der Bromatbildung an der Pilotanlage für eine Ozondosis von 6 mg_{O3}/l

Die Bromatkonzentrationen wurden in den verschiedenen Proben mit 16 µg/l bis 33 µg/l gemessen. Für diesen Zeitraum fiel der Zusammenhang zwischen der Bromatbildung und der im Abwasser vorhandenen Bromidkonzentration besonders stark auf. Mit zunehmender Bromidkonzentration stieg auch die gebildete Bromatkonzentration stark an. Für die spezifische Ozondosis und die Ozonkonzentration in der Abluft lagen nur geringe Variationen vor, weshalb der Einfluss dieser Parameter hier als untergeordnet anzusehen ist. In einer zweiten Versuchsphase mit einer Ozonkonzentration von 8 mg_{O3}/l konnte der Einfluss dieser Parameter dagegen zeitweise stärker beobachtet werden.

Generell spielt die im Abwasser vorliegende Bromidkonzentration eine entscheidende Rolle für die Bromatbildung. Daher wurde in einem weiteren Schritt die prozentuale Bildung der molaren

Bromatkonzentration [mol$_{BrO3-}$/l] ausgehend von der im Wasser vorliegenden molaren Bromidkonzentration [mol$_{Br-}$/l] untersucht. In Abbildung 98 ist die Abhängigkeit der Bromatausbeute [%] von der Ozonkonzentration im Off-Gas bzw. der spezifischen Ozondosis aufgetragen. Es zeigt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Parametern. Dadurch lässt sich schlussfolgern, dass die im Wasser verfügbare Ozonkonzentration und die für eine Reaktion zur Verfügung stehende Bromidkonzentration den entscheidenden Einfluss auf die Bromatbildung hat. Parameter wie die Ozonkonzentration in der Abluft oder die spezifische Ozondosis gegeben im Ozonprozess einen Hinweis, ob und wie viel Ozon gelöst im Abwasser im Reaktor vorliegt.

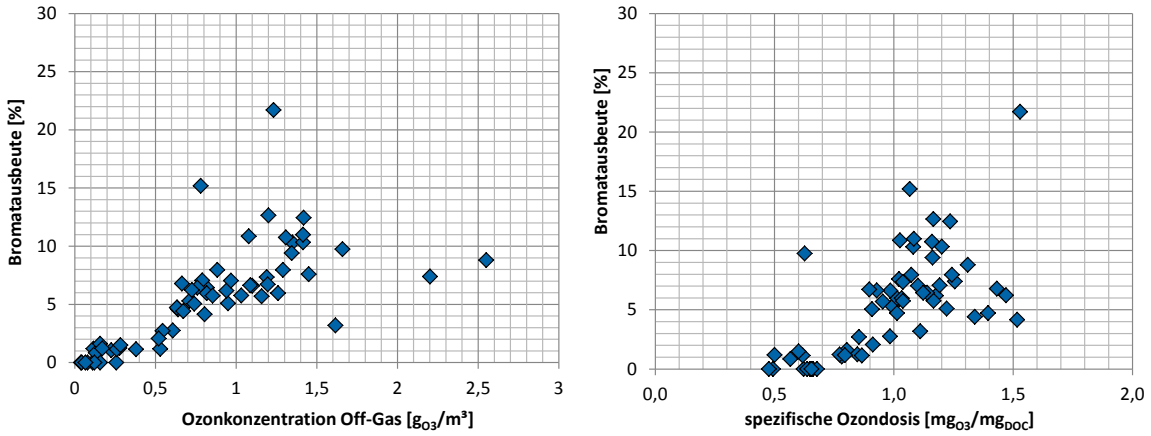

Abbildung 98: Bromatausbeute während der Ozonung in Abhängigkeit unterschiedlicher Betriebsparameter

Neben einer Beschränkung der Bromatbildung durch eine gezielte Betriebsweise der Ozonung sind auch weitere Verfahren bekannt, die während oder im Anschluss an die Ozonung eingesetzt werden können. Im Rahmen dieses Projekts wurden die Verfahren der Ammoniumzudosierung und der Eisen(II)sulfat-Dosierung im Labor betrachtet.

Die Zugabe von Ammoniumsalzen (hier: Ammoniumchlorid und Ammoniumsulfat) ergab keine Hinweise auf eine Reduktion der Bromatbildung. Es wurde an acht Tagen je eine Abwasserprobe auf fünf Proben aufgeteilt und vier verschiedene Ammoniumkonzentrationen an vier Tagen durch die Zugabe von Ammoniumchlorid bzw. an vier Tagen durch die Zugabe von Ammoniumsulfat eingestellt. Anschließend wurde zu allen Proben (inkl. der Originalprobe ohne Ammoniumzugabe) der gleiche Teil frisch hergestellte Ozonstammlösung dosiert und die Proben verschlossen. In der Literatur, vgl. Bahr et al. (2007), wird beschrieben, dass die Ammoniumdosierung zu einer konstanten Abnahme der Bromatkonzentration führt, bis ein Schwellenwert erreicht ist, nach dem keine weitere Erhöhung der Abnahme erfolgt. Im Rahmen der in diesem Projekt durchgeführten Versuche wurde jedoch keine Abnahme der Bromatkonzentration infolge einer Ammoniumdosierung registriert. Die gebildeten Bromatkonzentrationen variierten stattdessen stark und zeigten während aller Untersuchungsreihen keine Tendenz der Abnahme. Der Einsatz dieses Verfahrens ist für kommunale Kläranlagen mit dem Ziel einer Ozonung zur weitergehenden Reinigung jedoch

generell nicht geeignet, da eine Ammoniumzugabe im Anschluss an die biologische Reinigung für die Einhaltung der Überwachungswerte nach Abwasserverordnung hinderlich ist. Dies gilt insbesondere für Kläranlage Aachen-Soers mit einem Überwachungswert von 1 mg$_{NH4-N}$/l im Ablauf.

Als weitere Möglichkeit einer Kontrollmaßnahme der Bromatkonzentration im Ablauf einer Ozonanlage wurde die Dosierung von Eisensulfat untersucht. Diese Maßnahme wurde bereits für die Reduktion von Bromat in Trinkwasser untersucht (Dong et al. 2009; Gunten 2003; Siddiqui und Amy 1995). Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der durchgeführten Versuche ist in Abbildung 99 dargestellt.

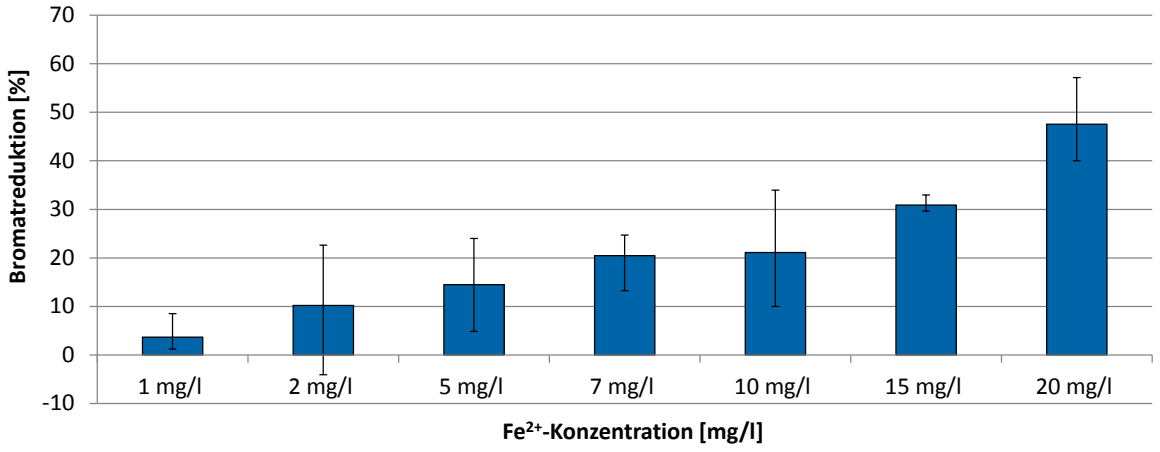

Abbildung 99: Reduktion der Bromatkonzentration in Abwasser durch die Dosierung von Eisen(II)sulfat. (5, 10, 20 mg/l: n = 6; 1, 2, 7, 15 mg/l; n = 3) Mittelwerte; Whisker geben das Minimum und Maximum an.

Im Abwasser zeigte sich, dass mit einer Eisen(II)-Dosierung von 20 mg/l die Bromatkonzentration um ca. 50 % reduziert werden kann. Auch geringere Dosierungen im Bereich 5–10 mgFe$_{2+}$/l führten bereits zu einer mittleren Reduktion der Bromatkonzentration von 15 % bis 20 %. Im großtechnischen Maßstab kann eine Dosierung von Eisen(II)-Sulfat in einem nachgeschalteten Filter erfolgen und vergleichsweise einfach umgesetzt werden.

5.4.5 Reduzierung der Keimbelastung und Antibiotikaresistenzen infolge Ozonung

Da Ozon neben organischen Verbindungen auch Keime angreift, kommt es im Rahmen der Ozonung zur Keimreduzierung. Diese wurde explizit in DemO$_3$AC untersucht. Im Bereich der Trinkwasseraufbereitung ist die Ozonung ein etabliertes Verfahren. Erste Versuche an der Pilotanlage in Regensdorf zeigen, dass die Konzentration an *E. coli* durch die Behandlung von biologisch gereinigtem Abwasser mit einer spezifischen Ozondosis von 0,36 g$_{O3}$/g$_{DOC}$ um 1,5 log-Stufen reduziert werden konnte. Höhere eingesetzte spezifische Ozondosen führten prinzipiell zu höheren Reduktionen der Keimkonzentrationen (Abegglen und Siegrist 2012). Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Bahr et al. (2007) und Schaar et al. (2013) berichtet.

Die großtechnische Ozonanlage auf der Kläranlage Aachen-Soers wird mit dem Ziel der Spurenstoffelimination errichtet. Hierzu sind in der Regel andere Randbedingungen, wie z. B. eine geringere Ozondosis, zu beachten als für die Keimreduktion. Daher wurden zur Überprüfung des Erfolgs der Keimreduktion zwei verschiedene Einstellungen, die erstens für eine Keimreduktion (6 mg $_{O3}$/l) und zweitens für eine Spurenstoffelimination (4 mg$_{O3}$/l) geeignet sind, im Hinblick auf die Keimreduktion jeweils fünf Mal beprobt. Die Anlage wurde volumenproportional zum Zulauf der Kläranlage beschickt, sodass im Regenwetterfall kurze Reaktionszeiten und im Trockenwetterfall lange Aufenthaltszeiten im Ozonreaktor vorlagen. Untersucht wurden der Zulauf der Pilotanlage (ZO3), der Ablauf der Pilotanlage (AO3) und der Ablauf der Modell-Nitrifikation (AMNK).

Innerhalb der ersten fünf Probenahmetage (21.06.–26.07.2016) mit einer Ozondosis von 6 mg/l konnte für *E. coli* während der ersten beiden Versuchstage eine vollständige Keimreduktion im Ablauf O3 (AO3) erreicht werden. Die weiteren Versuchstage 3–5 ergaben hier nur eine unvollständige Keimreduktion durch die Ozonung. Die Ergebnisse sind in Abbildung 100 dargestellt. Im Ablauf Nachnitrifikation (AMNK) wurde für Tag 1 eine Wiederverkeimung durch eine Keimzahlzunahme von 0 auf ca. 10^2 Keime/100 ml im AMNK innerhalb des Prozesses beobachtet (Abbildung 100 links). Für Enterokokken konnte an den Versuchstagen 1-4 eine vollständige Keimreduktion erreicht werden; an Tag 5 fand hingegen wieder eine unvollständige Keimreduktion statt. Auch hier zeigte sich in den Tagen 3 und 4 eine Wiederverkeimung innerhalb des Prozesses durch eine Keimzahlzunahme von 0 (Ablauf O3) auf bis zu ca. 10^2 Keime/100 ml (Ablauf MNK) (Abbildung 100 rechts).

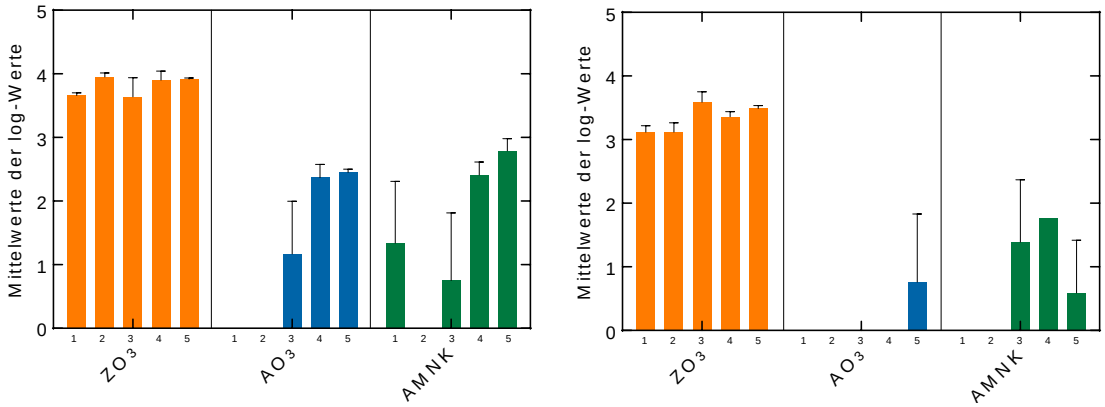

Abbildung 100: Keimzahlbestimmung Test 1–5 bei einer Ozondosis von 6 mg/l für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der Log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen inkl. Standardabweichung.

Während der Versuchstage 1 und 2 herrschte Regenwetter, weshalb die Anlage mit hohen Volumenströmen beschickt wurde und daraus resultierend die hinzugefügte Ozonfracht deutlich höher war als im Vergleich zu den Tagen 3-5. Durch die Verdünnung des Ablaufs der Nachklärung konnte für die ersten beiden Versuchstage auch eine höhere spezifische Ozondosis, von > 1,1 g_{O3}/g_{DOC} beobachtet werden, wohingegen diese an den Versuchstagen 3–5 zwischen

0,8 g_{O3}/g_{DOC} und 1 g_{O3}/g_{DOC} lag. Die Verdünnung des Abwassers infolge des Regens in Kombination mit der reduzierten Aufenthaltszeit im Ozonreaktor führte dazu, dass auch im Ablauf der Pilotanlage an den Tagen 1 und 2 gelöstes Ozon detektiert wurde; an den darauffolgenden Versuchstagen war dies nicht der Fall. Es ist davon auszugehen, dass das für die Organismen zur Verfügung stehende gelöste Ozon an den Tagen 1 und 2 durch diese Gegebenheiten im gesamten Reaktor höher lag und deshalb eine vollständige Keimreduktion von *E. coli* erfolgen konnte. An Tag 5 wurden Schlammflocken im AO3 detektiert. Dies könnte einen Hinweis auf eine mögliche Biofilmbildung innerhalb des Systems geben und die unvollständige Keimreduktion, sowie die Wiederverkeimung im AMNK unterstützt haben.

An den weiteren fünf Versuchstagen (Tage 6–10) mit einer Ozondosis von 4 mg_{O3}/l wurde für *E. coli* nur an Tag 6 eine vollständige Keimreduktion beobachtet. An den Tagen 7–10 hingegen wurde eine unvollständige Keimreduktion durch Verringerung der Keimzahlen vorgefunden. An Tag 6 zeigte sich hier im AMNK eine Wiederverkeimung von 0 (AO3) auf ca. 10^3 Keime/100 ml (AMNK) (Abbildung 101).

Für Enterokokken wurde an den Tagen 6, 7, 8 und 10 eine vollständige und an Tag 9 nur eine unvollständige Reduktion der Keime im AO3 detektiert. An Tag 6 und 8 wurde eine Wiederverkeimung von 0 im AO3 auf ca. $2x10^3$ Keime/100 ml im AMNK festgestellt, an Tag 9 eine deutliche Zunahme der Keimzahl auch im Vergleich zum ZO3 (Abbildung 101). Diese stark schwankenden Werte der Wiederverkeimung nach AMNK wurden nicht erwartet und bedürfen weiterer Abklärung. Der hohe Wert von Tag 9 könnte ggf. auf eine nicht repräsentative Probe durch Biofilmfragmente hindeuten. Das Ergebnis einer ausbleibenden Wiederverkeimung (z. B. für Enterokokken an Tag 7 und 10) erscheint im Vergleich zu den restlichen Ergebnissen unerwartet.

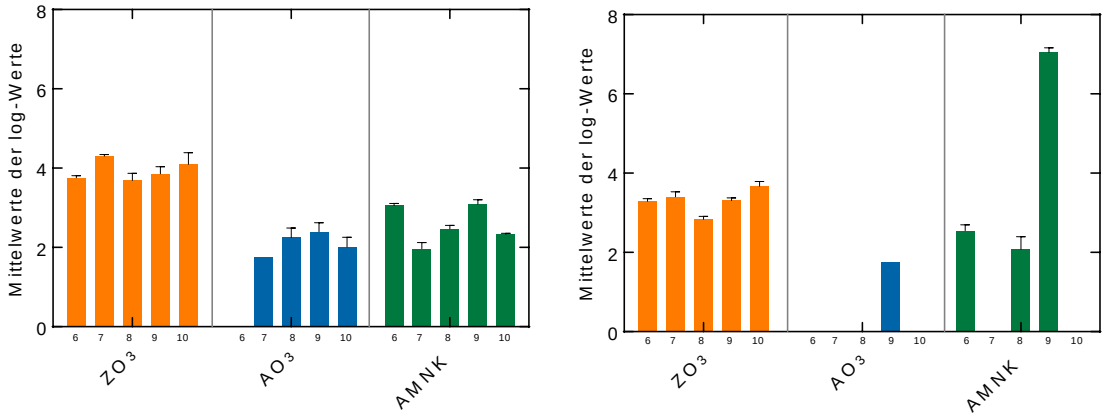

Abbildung 101: Keimzahlbestimmung Test 6–10 bei einer Ozondosis von 4 mg/l für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der Log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen.

Die Proben wurden zum Zweck der Untersuchung einer Wiederverkeimung über 24 Stunden gelagert und erneut untersucht. Innerhalb der Lagerungsversuche zeigte sich, außer an Tag 7 für die

Enterokokken (Abbildung 102), keine signifikante Erhöhung der Keimzahlen nach 24 Stunden im Vergleich zu den direkt gemessen Proben (Abbildung 101).

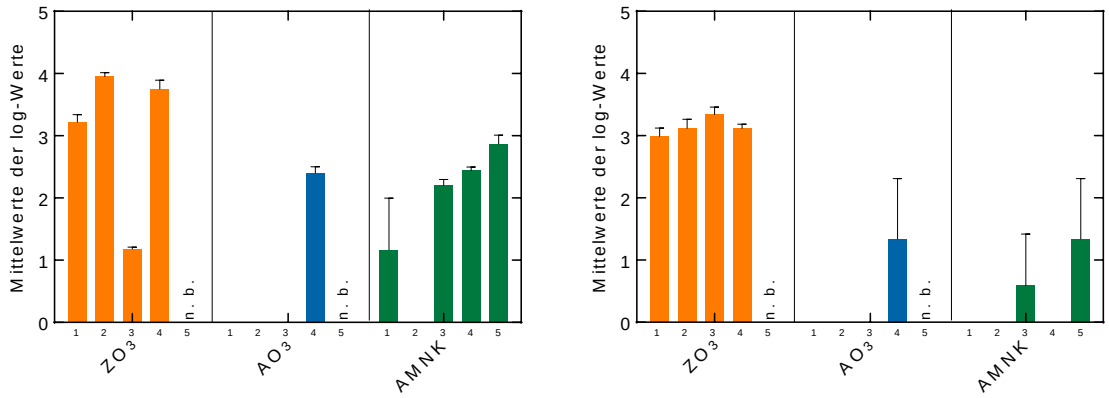

Abbildung 102: Keimzahlbestimmung nach 24 h, Test 1–5 bei 6 mg/l Ozon für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen. (n. b. = nicht bestimmt)

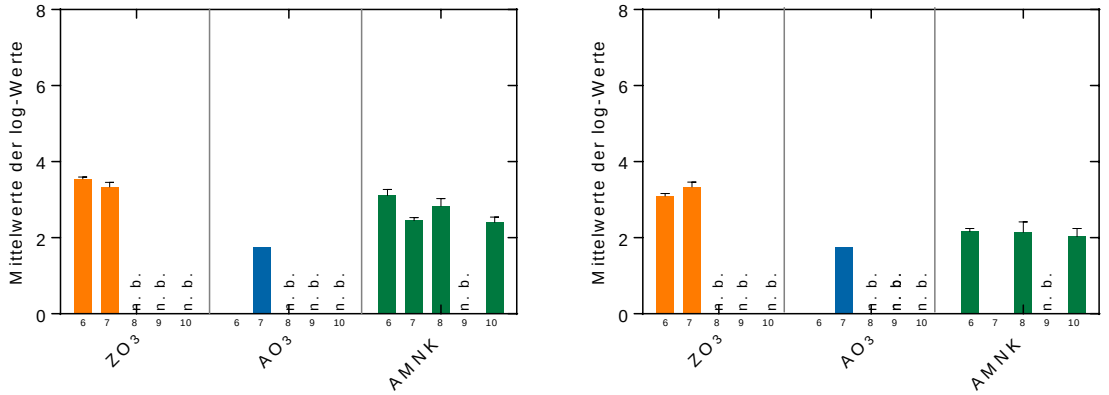

Abbildung 103: Keimzahlbestimmung nach 24 h Test 6–10 bei 4 mg/l Ozon für *E. coli* (links) und Enterokokken (rechts). Mittelwerte der log-Werte der Keime/100 ml der verschiedenen Probenahmestellen. (n. b. = nicht bestimmt)

Statistisch wurde die Keimreduktion durch die Ozonung validiert: die paarweisen Vergleiche zur Überprüfung der Signifikanz der Datenpaare des ZO3 mit AO3 und des ZO3 mit AMNK ergaben in beiden Fällen eine signifikant verringerte Keimzahl gegenüber dem Zulauf sowohl von *E. coli* als auch von den Enterokokken, dargestellt in Tabelle 45.

Tabelle 45: Univariate statistische Auswertung der Keimzahlen von *E. coli* und Enterokokken für die Probestellen Zulauf Ozonung, Ablauf Ozonung und Ablauf Mininitrifikation (Datensatz „Pilotanlage“) (-: nicht signifikant, +: signifikant; ↑: signifikant erhöht im Ablauf; ↓: signifikant verringert im Ablauf; p: Wahrscheinlichkeit).

Mikroorganismen	paarweiser Test Ablauf O3 vs. Zulauf O3		paarweiser Test Ablauf MNK vs. Zulauf O3	
	Sign.	Methode, p-Wert	Sign.	Methode, p-Wert
E. coli	+ ↓	U-Test, p<0,001	+ ↓	U-Test, p<0,001
Enterokokken	+ ↓	U-Test, p<0,001	+ ↓	U-Test, p=0,003

Die für *E. coli* detektierten Resistenzen sind in Abbildung 104 als Mittelwerte aus drei Replikaten inkl. Standardabweichung (Fehlerbalken) dargestellt. Dabei zeigen die Versuchstage 1 bis 5 die Ergebnisse bei der Einstellung von 4 mg_{O3}/l und 6 bis 10 die Ergebnisse mit einer Ozondosierung von 6 mg_{O3}/l. Die Resultate zeigten für Gentamycin geringe Antibiotikaresistenzen mit bis zu 15 % resistenter Keime normiert auf eine Kontrolle (100 %) ohne Zugabe von Antibiotikum. Für Sulfamethoxazol/Trimethoprim wurden im ZO3 Resistenzen von bis zu ca. 35 % detektiert, welche im Ablauf der Ozonung (AO3) auf ca. 5–10 % absanken. Im AMNK zeigte sich mit der Wiederverkeimung auch einen erneuten Anstieg der Resistenzen. Für Ampicillin wurden im Zulauf O3 Resistenzen von bis zu ca. 50 % detektiert, welche im Ablauf der Ozonung auf Resistenzwerte zwischen ca. 10–20 % absanken. Innerhalb der Untersuchungen an den Tagen 5 und 9 konnte auch hier eine Erhöhung der Resistenzen im Ablauf MNK gezeigt werden. Die erneute Detektion der Antibiotikaresistenzen nach 24 Stunden Lagerung bei 15 °C (Ablauf MNK 24 h) zeigte bei keinem der getesteten Antibiotika eine signifikante Veränderung zum Ablauf MNK zu den direkt gemessenen Proben vom Ablauf der Modell-Nitrifikation (Abbildung 104). Innerhalb der Detektion der Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* wurde zunächst bei Enterokokken und Staphylokokken auch das Antibiotikum Clarithromycin verwendet. Dieses wurde jedoch aufgrund der fehlenden Wirksamkeit gegenüber *E. coli* in der weiteren Projektphase 1b durch Cefotaxim ersetzt.

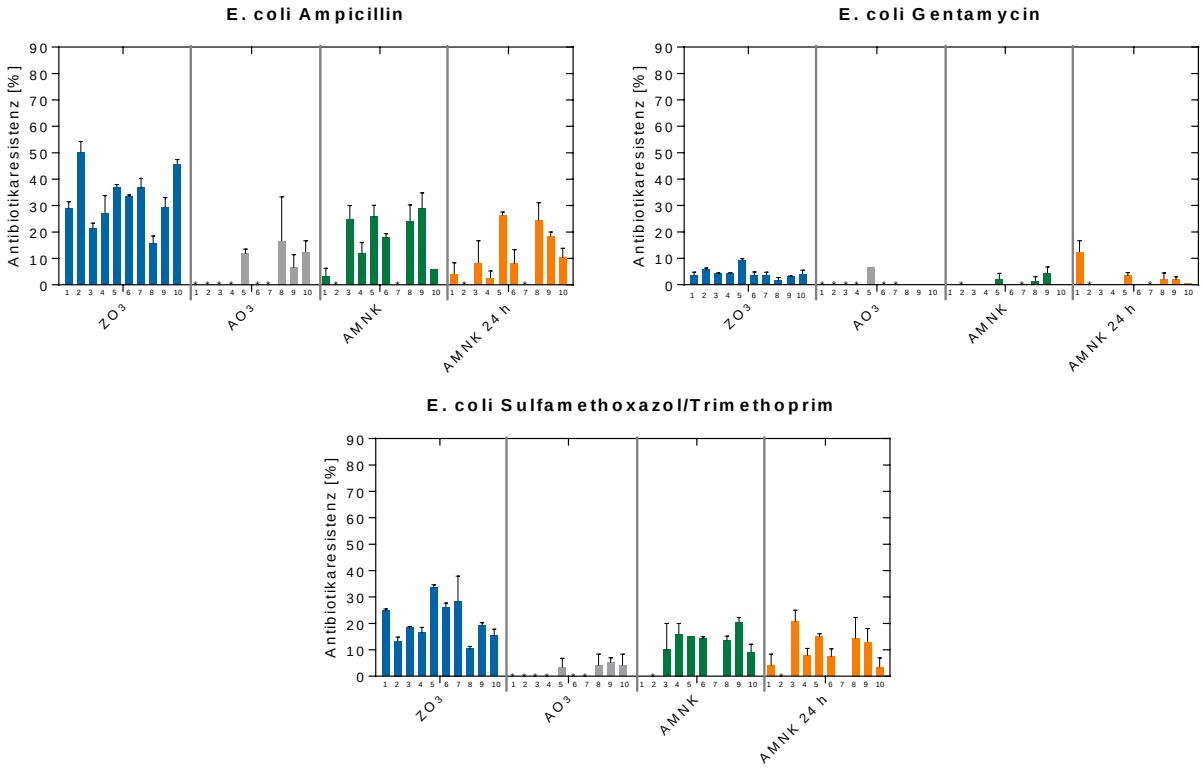

Abbildung 104: Antibiotikaresistenzen *E. coli*. Antibiotikaresistenzen [%] für Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ampicillin und Clarithromycin an den verschiedenen Probenahmestellen ZO3, AO3, AMNK und AMNK 24 h (Lagerungsversuch). * = Kolonien der Kontrollplatte unterhalb Grenzwert.

Analog sind die für Enterokokken detektierten Resistenzen in Abbildung 105 als Mittelwerte aus drei Replikaten inkl. Standardabweichung (Fehlerbalken) dargestellt. Auch hier zeigen die Versuchstage 1 bis 5 die Ergebnisse bei einer Dosierung von 4 mg_{O3}/l und die Tage 6 bis 10 die Ergebnisse bei einer Ozondosierung von 6 mg_{O3}/l. Bei den Enterokokken wurden für Gentamycin Resistenzen von bis zu ca. 60 % im Zulauf der Ozonung festgestellt. An Tag 7 konnte eine vollständige Reduzierung und an den Versuchstagen 8 und 9 eine Verringerung der resistenten Organismen gezeigt werden. Der Anteil der resistenten Organismen stieg an Tag 9 nach dem Ablauf MNK von ca. 20 % auf ca. 45 % an (Abbildung 105). Die detektierten Vancomycinresistenzen lagen im Zulauf O3 bei ca. 2–20 %. An den Tagen 8 und 9 wurde eine deutliche Abnahme der resistenten Organismen durch die Ozonung gemessen. An Tag 9 fand eine minimale Erhöhung der resistenten Organismen im Ablauf MNK statt. Die Ampicillin Resistenzen lagen im Zulauf O3 bei ca. 1–20 %. An Versuchstag 8 wurde die Zahl der resistenten Keime durch die Ozonung vollständig eliminiert und zeigte eine leichte Wiederverkeimung im Ablauf MNK. Die Clarithromycin-Resistenzen lagen im Zulauf zwischen ca. 15 % und 40 %. An Tag 8 zeigte sich eine Reduzierung der resistenten Keime durch die Ozonung ohne Wiederverkeimung im Ablauf MNK. An Tag 9 stieg die Anzahl der resis-

tenten Keime nach der Ozonung von ca. 22 % im Zulauf O_3 auf ca. 30 % im Ablauf O_3 an. Auch hier zeigte sich kein weiterer Anstieg der Keimzahl im Ablauf MNK. Die erneute Detektion der Antibiotikaresistenzen nach 24 Stunden Lagerung bei 15 °C (Ablauf MNK 24 h) zeigte auch bei Enterokokken bei keinem der getesteten Antibiotika eine signifikante Veränderung zum direkt analysierten Ablauf MNK (Abbildung 105).

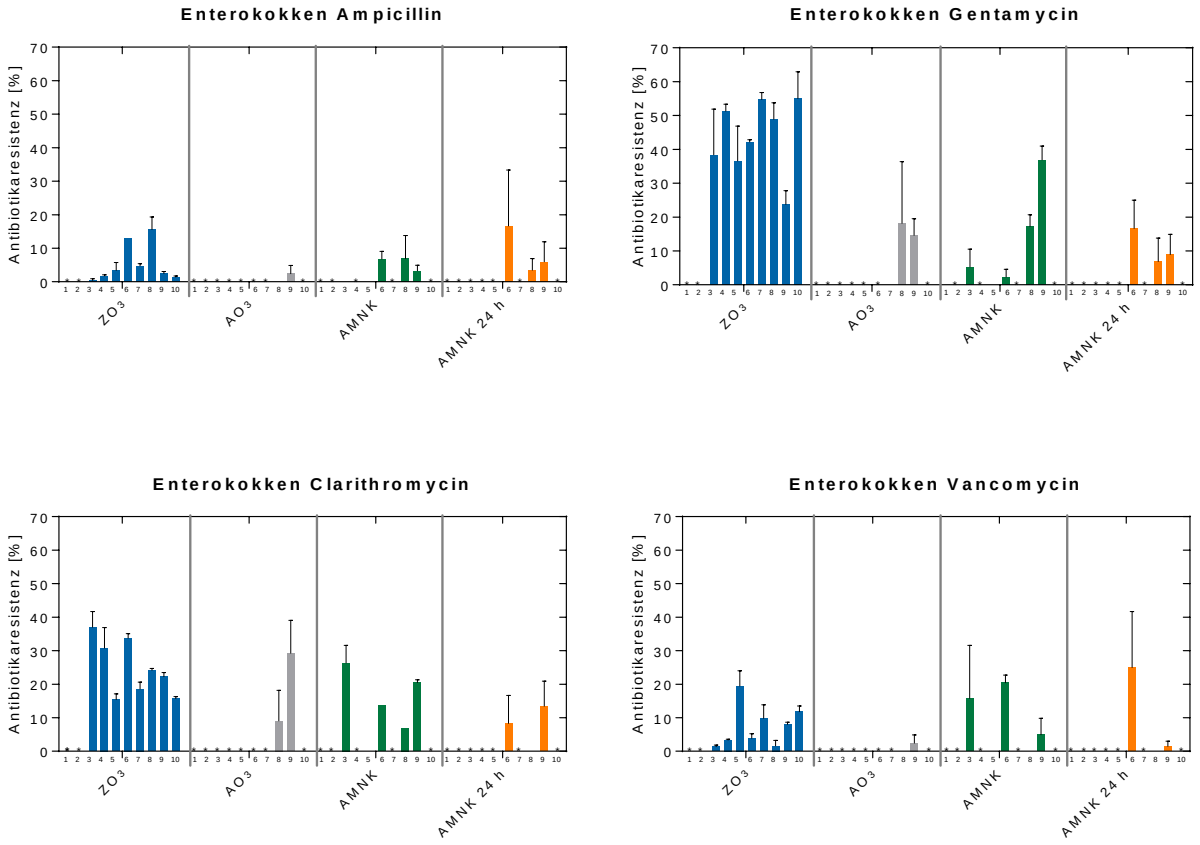

Abbildung 105: Antibiotikaresistenzen Enterokokken. Antibiotikaresistenzen [%] für Gentamycin, Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ampicillin und Clarithromycin an den verschiedenen Probenahmestellen ZO3, AO3, AMNK und AMNK 24 h (Lagerungsversuch). * = Kolonien der Kontrollplatte unterhalb Grenzwert.

Für Staphylokokken (hier nicht dargestellt) zeigte sich an keinem Versuchstag, außer an Tag 7 im Ablauf MNK nach 24 Stunden Lagerung, eine Antibiotikaresistenz.

Innerhalb der Keimzahlbestimmungen zeigt sich somit eine deutlich höhere Leistung in Bezug auf die Keimreduzierung der Pilotanlage bei einer Konzentration von 6 mg_{O3}/l Ozon im Vergleich zu der Konzentration von 4 mg_{O3}/l. Bei der Keimzahlbestimmung der Enterokokken wurde in beiden Fällen eine stärkere Keimreduktion im Vergleich zu *E. coli* festgestellt. Dies deutet darauf hin, dass Enterokokken empfindlicher gegenüber Ozon reagieren als der Organismus *E. coli*. Während der Bestimmung der Antibiotikaresistenzen wurde bei *E. coli* und den Enterokokken eine Reduktion der resistenten Keime nach der Ozonung (AO3) detektiert. Diese Abnahme korreliert mit der Verminderung der Keimzahlen der Organismen nach der Ozonung. Für *E. coli* wurde innerhalb des

Prozesses ein relativer Anstieg der resistenten Keime im AMNK für die Antibiotika Sulfamethoxazol/Trimethoprim, Ampicillin und Clarithromycin gefunden. Für die Enterokokken konnte ebenfalls eine Zunahme der Resistenzen innerhalb des Prozesses für die Antibiotika Gentamycin, Vancomycin und Clarithromycin festgestellt werden. Staphylokokken zeigten weder im Zulauf, noch im Ablauf der Ozonung oder im AMNK nennenswerte Resistenzen.

Eine Lagerung der Proben über 24 Stunden bei 15 °C zeigte keine weitere Erhöhung der Keimzahlen oder Antibiotikaresistenzen. Die Lagerung über 24 Stunden dient zur Einschätzung der Auswirkung einer nachgeschalteten biologischen Reinigungsstufe und die gewählte Temperatur entspricht realistischen Bedingungen der Kläranlage bzw. auch des Gewässers.

Wie hoch die Reduktion der Bakterienkonzentration für eine feste Ozondosis ausfällt, variiert an den verschiedenen Tagen stark. In Abbildung 106 A) ist die verbleibende Konzentration an *E. coli*, als Beispielorganismus in Abhängigkeit der spezifischen Ozonzehrung, aufgetragen.

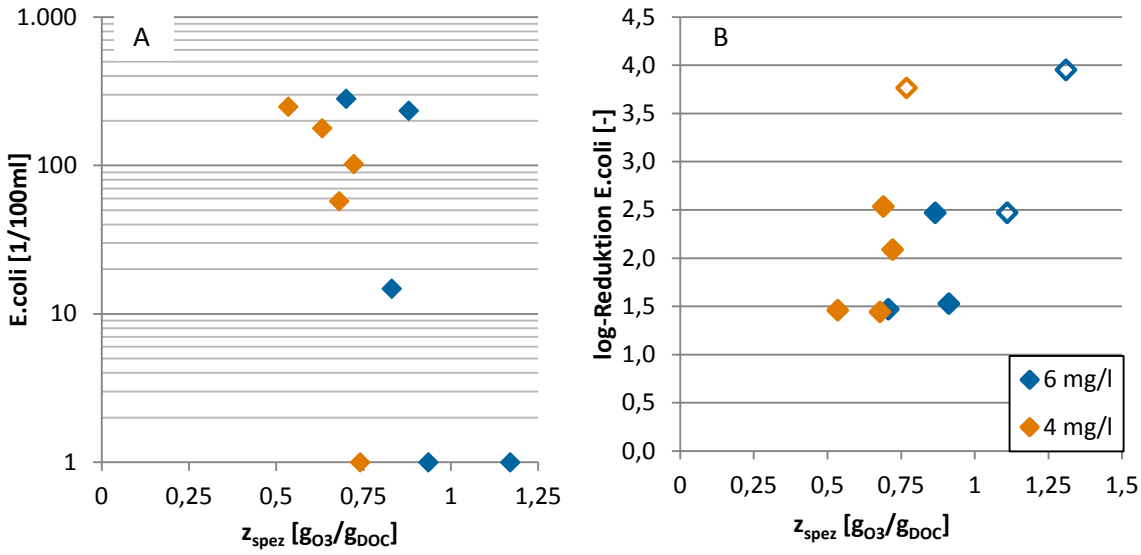

Abbildung 106: A) Konzentration von *E. coli* im Ablauf der Pilotanlage und B) log-Reduktion für *E. coli* in Abhängigkeit der spezifischen Ozondosis (ausgefüllte Rauten = konkrete Elimination, nicht ausgefüllte Rauten = Mindestelimination, die Konzentration nach der Ozonung liegt < BG)

Es fällt auf, dass mit zunehmender spezifischer Ozonzehrung eine geringere verbleibende Bakterienkonzentration zu erwarten ist, ein eindeutiger Zusammenhang liegt jedoch nicht vor. Die Reduktion von *E. coli*, berechnet in log-Stufen, nimmt tendenziell mit zunehmender spezifischer Ozonzehrung zu (Abbildung 106 B)), ein eindeutiger funktionaler Zusammenhang liegt jedoch, im Gegensatz zur Spurenstoffelimination, nicht vor. Eine Auswertung der Daten zur Reduktion von Enterokokken und Antibiotikaresistenzen ergibt ein vergleichbares Bild wie für *E. coli*.

Generell zeigen die Ergebnisse, dass eine Abnahme der Mikroorganismen infolge der Ozonung erreicht wird. Des Weiteren kann auch für die antibiotikaresistenten Mikroorganismen, sowohl absolut als auch relativ, eine Reduktion infolge der Ozonung beobachtet werden. Eine eindeutlige

Aussage darüber, wie hoch die Keimreduktion während der Ozonung für bestimmte Ozondosierungen ist, kann jedoch nicht getroffen werden. Hierzu variieren die vorgefundenen Reduktionsgrade zu stark. Insgesamt konnte jedoch an allen Tagen eine Reduktion der Keimbelastung um mindestens 1,5 log-Stufen gefunden werden.

Ein zusammenfassender Vergleich der Eliminationsleistung der Kläranlage Aachen-Soers und der Pilotanlage zur Ozonung von Abwasser zeigt, dass die die Pilotanlage über die bereits ca. 99,99 % eliminierten Keime hinaus (Zulauf bis Ablauf Kläranlage) einen wesentlichen Beitrag zur weitergehenden Keimreduktion von mindestens 1,5 log-Stufen leistet und diesbezüglich von der großtechnischen Ozonanlage eine deutliche Verbesserung der Ablaufqualität erwartet werden kann. Der Einfluss der biologischen Nachbehandlung wird großtechnisch ebenfalls in Phase 2 untersucht. Darüber hinaus konnte bei der Kläranlage Aachen-Soers kein signifikanter Zusammenhang der Daten in Bezug auf die Elimination antibiotikaresistenter Keime festgestellt werden. Die Pilotanlage hingegen ist in der Lage, auch antibiotikaresistente Keime zu reduzieren.

5.4.6 Ökotoxizität und mechanismusspezifische Toxizität

Die Ozonung ist ein chemisches Verfahren, bei dem Substanzen durch Oxidation umgesetzt werden. Aus der Reaktion von Wasserinhaltsstoffen mit Ozon entstehen Reaktionsprodukte (Transformationsprodukte), die in ihrer Vielzahl nicht bekannt sind. Insgesamt kommt es bei der Ozonung zu einer Zunahme des assimilierbaren organischen Kohlenstoffs, weshalb von einer besseren biologischen Verfügbarkeit der entstandenen Transformationsprodukte ausgegangen wird (Hollender et al. 2009; Zimmermann et al. 2011b). Zur Reduktion dieser entstandenen Transformationsprodukte wird i. d. R. eine biologische Behandlung nachgeschaltet, um evtl. entstandene toxische Nebenprodukte abzubauen (Stalter et al. 2010). Der großtechnischen Anlage auf der Kläranlage Aachen-Soers wird zu diesem Zweck eine Klarwassernitrifikation mit Linpor-Würfeln und eine Sandfiltration nachgeschaltet. Während der Pilotversuche wurde eine Klarwassernitrifikation nachgeschaltet, um den Effekt einer biologischen Stufe auf die Abwasserinhaltsstoffe und die Toxizität des Abwassers zu untersuchen. Darüber hinaus war ein Ziel der Untersuchungen, zu evaluieren, ob eine mögliche Toxizität des Abwassers durch die Ozonung ab- oder zunimmt und durch welche eingesetzten Testsysteme diese abgebildet werden kann. Dazu wurden die in Tabelle 46 aufgelisteten Einstellungen mit einer Vielzahl an ökotoxikologischen und zelltoxikologischen Testsystemen untersucht.

Tabelle 46: Analyseumfang und Ozondosis [mg/l] für die ökotoxikologische Beprobung an der Pilotanlage.

Ozondosis [mg/l]	Anzahl der Versuchs-durchführungen	Beprobung Nach-nitrifikation	Analyse Spuren-stoffelimination	Analyse Toxizität (alle Tests)
4	3	ja	ja	ja
6	5	Ja	ja	ja

Die Ergebnisse der ökotoxikologischen Untersuchungen des akuten und chronischen Daphnien-Toxizitätstests, des chronischen Leuchtbakterientests, des Algen- und Lemna-Wachstumshemmtests sowie des Daphnien-Immobilisationstests sind in Tabelle 47 dargestellt. Für alle Probenahmestellen und eingesetzte Ozondosen konnte weder eine akute, noch eine chronische Toxizität auf Leuchtbakterien ermittelt werden. Auch im Algen-Wachstumshemmtest zeigte sich zu keiner Zeit eine toxische Wirkung. Im Daphnien-Immobilisationstest konnte lediglich bei einer Probenahme im Ablauf MNK der Pilotanlage eine leichte Erhöhung der Immobilität detektiert werden (G_D2, alle anderen Proben lagen bei G_D1).

Tabelle 47: Zusammenfassende Ergebnisse der akuten und chronischen Toxizitätstests zur Bewertung der Ozonung (Pilotanlage) für alle Probenahmetage

Probe-benah nahme me-stelle	Akuter Leucht-bakterientest	Chronischer Leuchtbakteri-entest	Algen – Wachs-tums-hemmtest	Daphnien – Immobilisati-ons-test	Lemna – Wachstums-hemmtest* Frondzahl/-fläche
ZO3	G_L1	$G_{LW}1$	G_A1	G_D1	G_W1–4/ G_W1–4
AO3	G_L1	$G_{LW}1$	G_A1	G_D1	G_W1–>4/ G_W1–4
AMNK	G_L1	$G_{LW}1$	G_A1	G_D1 & G_D2	G_W1–4/ G_W1–>4

Der Modellorganismus *Lemna minor* reagiert zum Teil sehr sensitiv auf die Abwasserproben, wobei der Endpunkt der Frondfläche deutlich sensitiver als die Frondzahl ist. Aus diesem Grund wird im Folgenden die Frondfläche weitergehend betrachtet. Im Zulauf der Pilotanlage lag die Hemmung der Wasserlinsen bei maximal 47,58 % bei Verdünnungsstufe 1 (90 % Abwasser enthalten). Bei acht Beprobungen reagierte der Organismus viermal mit einer deutlichen Hemmung der Frondfläche (G_W2–4). Beim AO3 zeigte sich in drei von sieben Beprobungen eine erhöhte Toxizität von G_W2–3. Hier lag die höchste Hemmung der G_W1 Stufe bei 23,67 %. Für die Stelle AMNK wurde an vier Zeitpunkten eine G-Stufe von G_W2 detektiert. An einem Tag lag der Wert sogar bei > 4 (höhere Verdünnungen wurden nicht getestet), wobei hier auch der Zulauf mit einer G-Stufe von 4 auffiel.

Im Vergleich der Stellen AO3 und AMNK ist anzumerken, dass sich die Toxizität auf Wasserlinsen insgesamt dreimal verschlechterte. Hervorzuheben ist jedoch, dass die Hemmung durch das Ozon

in der Pilotanlage (Vergleich ZO3 und AO3) verringert wird und die Ozonung somit einen positiven Effekt auf die Wasserlinsen hat.

In Bezug auf den Fischembryo-Toxizitätstest konnte während der Untersuchungen an der Pilotanlage in keiner der Proben ein embryotoxisches oder teratogenes Potenzial (FET; nativ und Extrakt) festgestellt werden.

Zur Untersuchung des östrogenen Potenzials wurden auch hier die beiden rezeptorvermittelten Testsysteme mit nativen (ERα Calux® Assay) und aufkonzentrierten Proben (L-YES Assay und ERα Calux® Assay) durchgeführt. Zur Analyse der partikulär gebundenen Stoffe wurden zudem die Filterrückstände, die zuvor beim Aufkonzentrierungsprozess zur Filtration der Proben erhalten wurden, im ERα Calux® Assay untersucht. Sowohl die nativen Proben (enthalten ebenfalls Partikel) als auch die Filterrückstände (nur Partikel) zeigten im ERα CALUX® Assay keine östrogenen Effekte. Im Gegensatz dazu konnte allerdings in allen aufkonzentrierten Proben des Zulaufs zur Pilotanlage in beiden Testsystemen ein östrogenes Potenzial nachgewiesen werden, vgl. Tabelle 48 und Tabelle 49. Dabei lagen die EEQ-Werte, gemessen im ERα Calux® Assay, zwischen 0,25 ng E2/l und 7,33 ng E2/l. Im L-YES Assay dagegen wurden EEQ-Werte zwischen 5,1 ng E2/l und 12,2 ng E2/l erhalten. Während dieses Potenzial im L-YES Assay bereits an der Probenahmestelle AO3 vollständig eliminiert wurde und auch am Ablauf der Modell-Nitrifikation nicht mehr nachweis war, wurde das östrogene Potenzial im ERα Calux® Assay zwar in allen Fällen reduziert, jedoch nicht immer vollständig eliminiert (AO3 PN3: 0,2 ng E2/l, AMNK PN4: 0,1 ng E2/l und AMNK PN5: 0,1 ng E2/l).

Tabelle 48: Zusammenfassung der Ergebnisse des ERα CALUX® Assay mit Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Höchste eingesetzte Konzentration 2,5 REF. Grün: kein Effekt. Orange: positiver Effekt, Weiß: fehlende Probe. (Angaben in ng EEQ/l)

Messkampagne/ Probenahmestelle	1	2	3	4	5	6	7	8
ZO3 Pilotanlage	0,53	-0,48	0,73	0,56	-0,63	-0,25	-0,33	-0,42
AO3 Pilotanlage			0,16					
AMNK Pilotanlage				0,11	0,12			

Das höchste östrogene Potenzial im ERα CALUX® Assay war bei den Messkampagnen 3, 4 und 5 nachweisbar (0,6-0,7 ng E2/l). Tabelle 48 zeigt, dass dies ebenfalls die Proben sind, die keine vollständige Entfernung des östrogenen Potenzials im AO3 und AMNK anzeigten. Das Abwasser wurde bei diesen Probenahmen, bei welchen es sich um Trockenwetterproben handelte, mit einer Ozondosis von 6 mg_{O3}/l behandelt. Die gleiche Dosierung wurde zwar ebenfalls an den Versuchstagen 1 und 2 gewählt, allerdings lagen hier deutlich höhere Zulaufvolumina und eine verdünnte Abwassermatrix vor. Während des Betriebs der Anlage mit 4 mg_{O3}/l konnte kein östrogenes Potenzial mehr im Ablauf der Ozonung oder der Modell-Nitrifikation nachgewiesen werden. Insge-

samt zeigte sich, dass das östrogene Potenzial bei einer Behandlung des Abwassers mit einer Ozondosis von 4 mg$_{O3}$/l in beiden Testsystemen zu 100 % eliminert werden kann. Lediglich die östrogenen Effekte, die bei einer Ozondosis von 6 mg$_{O3}$/l erhalten wurden, konnten am Ablauf der Modell-Nitrifikation nicht vollstädig eliminert werden.

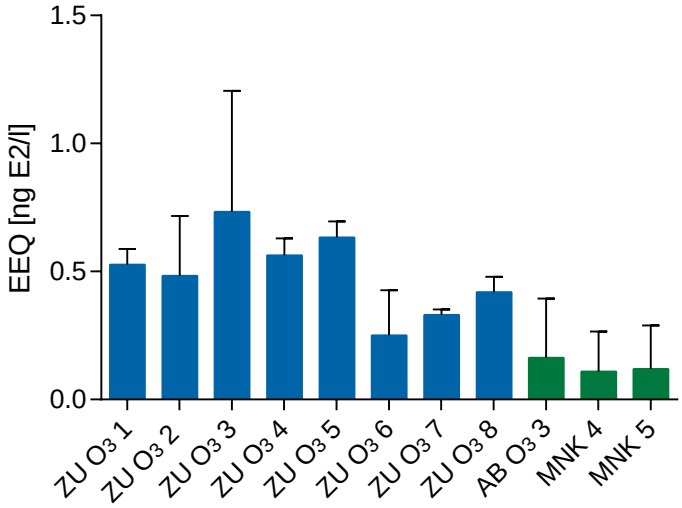

Abbildung 107: Ergebnisse des ERα CALUX® Assay. Mittelwert aus 3 unabhängigen Replikaten.

Im L-YES Test konnte lediglich in den Zuläufen der Pilotanlage ein östrogenes Potenzial nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 49, PN 3,4,6,8). Dieser Effekt war allerdings erst in deutlich höheren Konzentrationen (4,4-13,3 ng E2/l) zu finden als im ERα CALUX® Assay. Dieses Potenzial wurde sowohl im Ablauf der Ozonung als auch im Ablauf der Model-Klarwassernitrifikation nicht mehr nachgewiesen, was auf eine effiziente Reduktion der östrogen aktiven Substanzen schließen lässt. Die Ergebnisse sowohl des L-YES Assays als auch des ERα Calux® Assays stimmen mit der Studie von Maletz et al. (2013) überein, in welcher die östrogen-wirkenden Substanzen und damit das östrogene Potenzial erfolgreich durch eine Ozonung eliminiert werden konnten. Die Diskrepanz der Ergebnisse zwischen dem L-YES Assay und dem ERα CALUX® Assay könnte auf die unterschiedliche Empfindlichkeit der Testsysteme zurückgeführt werden: der ERα CALUX® Assay ist deutlich sensitiver in der Detektion von östrogen-aktiven Substanzen als der L-YES Assay (Nachweisgrenze < 1 ng/l). Dies verdeutlicht erneut die Notwendigkeit der Anwendung verschiedener Testsysteme, um eine umfassende Analyse potentieller Effekte von Abwasserproben zu erlangen.

Aus der Literatur ist bekannt, dass Sandfilter als biologische Nachbehandlungsstufe der Ozonung zu einer weiteren Reduzierung des östrogenen Potenzials führen können (Stalter et al. 2010). Ein solcher Sandfilter ist der großtechnischen Ozonungsanlage nachgeschaltet und wird in Phase 2 auf seine Wirksamkeit untersucht.

Tabelle 49: Zusammenfassung der Ergebnisse des L-YES Assay mit Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Höchste eingesetzte Konzentration 16,7 REF. Grün: kein Effekt. Orange: positiver Effekt. Weiß: fehlende Probe. (Angaben in ng EEQ/l)

Messkampagne/ Probenahmestelle	1	2	3	4	5	6	7	8
ZO3 Pilotanlage			5,1	-12,2		-8,7		7,1
AO3 Pilotanlage								
AMNK Pilotanlage								

Der H295R-Steroidgenese Assay wurde (als nicht-rezeptorvermittelter Test) bei den Abwasserproben der Pilotanlage eingesetzt, die positive Effekte bei dem rezeptorvermittelten ERα CALUX® Assay anzeigten.

In Abbildung 108 sind deutliche Effekte auf die Hormonproduktion von Östradiol, Testosteron und Progesteron über alle Messpunkte erkennbar. Dabei ist zu fast allen Messzeitpunkten eine Hemmung der Östradiolproduktion zu erkennen. Ausnahmen waren hier die Zuläufe zur Pilotanlage der Probenahmen 3 und 7. Bei den Untersuchungen der Abläufe der Modell-Mininitrifikation konnte bei der Probenahme 4 kein Einfluss auf die Östradiolproduktion festgestellt werden, während bei der 5. Probenahme ebenfalls eine Hemmung der Östradiolkonzentration feststellbar war. Die Steroidgenese von Testosteron zeigte über alle Messkampagnen eine minimale Steigerung der Konzentration. Die Synthese von Progesteron zeigt ebenfalls eine Steigerung der Hormonkonzentration. Ausnahmen waren hier lediglich die Zulaufproben der Messkampagnen 2, 7 und 8. An den Abläufen der Modell-Mininitrifikation konnte dieser Effekt ebenfalls nicht vollständig eliminert werden.

Eine mögliche Erklärung für die Hemmung der Östradiolproduktion bei zeitgleicher minimaler Reduktion der Testosteronkonzentration deutet auf eine Störung der Aromataseaktivität hin. Die Aromatase, auch CYP19 genannt, ist ein Enzym, das die Umwandlung von Testosteron zu Östradiol katalysiert. Kommt es durch bestimmte Substanzen oder Substanzgemische zu einer Hemmung der Aromatase, wird weniger Östradiol gebildet. Zudem deutet hier ebenfalls die gesteigerte Produktion von Progesteron auf eine Störung des Enzyms 3β-HSD hin.

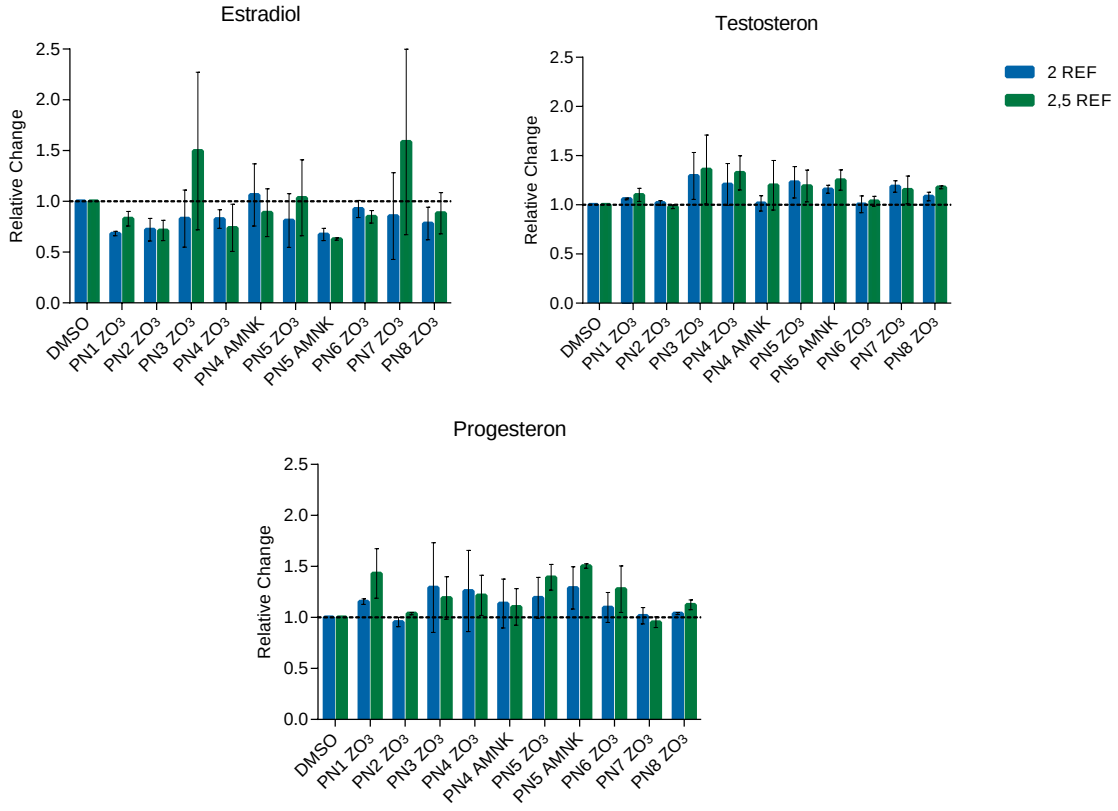

Abbildung 108: Messung der Hormonaktivität von Östradiol, Testosteron und Progesteron im H295R Assay. Mittelwert aus 3 unabhängigen Replikaten.

Die Ergebnisse des H295R Assays zeigen in mehreren Fällen einen Effekt und die Steroidgenese am ZO3 an. Hingegen war auffällig, dass die Untersuchungen an der biologischen Nachbehandlung im Modellmaßstab, die Modell-Nitrifikation, Potenziale aufzeigte. Hier kann es eventuell zu einer Rückbildung oder nicht vollständigen Eliminierung von Substanzen gekommen sein. Es konnten vor allem gestörte Produktionen der Hormone Östradiol und Progesteron nachgewiesen werden. Damit sind die Ergebnisse sehr vergleichbar mit denen, die bereits am Ablauf der Filter der konventionellen Reinigungsstufen beobachtet wurden. Maletz et al. (2013) konnten eine Erhöhung der Hormonproduktion (Östradiol) durch die Behandlung des Abwassers mit Ozon feststellen, was auf eine erhöhte Aromataseaktivität zurückzuführen sein könnte. Da hier jedoch keine Untersuchungen am direkten Ablauf der Ozonung stattgefunden haben, kann hier keine genaue Aussage über die Effekte auf die Steroidgenese durch die Ozonung getroffen werden.

Die Erfassung des mutagenen Potenzials erfolgte mit Hilfe des Ames-Fluktuation Assays. Die Ergebnisse (vgl. Tabelle 50) zeigten vorrangig ein mutagenes Potenzial der Zulaufproben der Pilotanlage im Stamm TA 98 ohne Zugabe von S9-Mix. Hier wurde in fünf der acht Probenahmen eine signifikant erhöhte Anzahl an Revertanten ab einem REF 25 nachgewiesen. Dieses mutagene Potenzial war (bis auf Screening 7) allerdings am Ablauf der Pilotanlage nicht mehr messbar, was auf

eine effiziente Eliminierung der mutagenen Stoffe durch die Ozonung hinweist, die eine Rasterschubmutation auslösen können.

Tabelle 50: Zusammenfassung der Ergebnisse des Ames-Fluktuationstests mit den Wasserextrakten aus der Pilotanlage. Grün: kein Effekt. Orange: signifikant positiver Effekt im Stamm *S. typhimurium* ohne (-S9) bzw. mit (+S9) der metabolischen Aktivierung. Weiß: fehlende Probe.

Messkampagne/ Probenahmestelle	1	2	3	4	5	6	7	8
ZO3 Pilotanlage				ab REF 25 (-S9) REF 50 (+S9)	ab REF 25 (-S9) REF 50 (+S9)-	ab REF 25 (-S9) REF 50 (+S9)-	Ref 50 (-S9)	ab REF 25 (-S9) REF 50 (+S9)-
AO3 Pilotanlage								
AMNK Pilotanlage							ab REF 25 (-S9)	

Neben der Erfassung der mutagenen Effekte durch den Ames-Fluktuation Assay des Abwassers aus der Pilotanlage wurde ebenfalls der Mikrokerntest durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Testsystem zum Nachweis von Chromosomenschäden und Schäden auf den Spindelapparat bei sich teilenden Zellen. Die Einwirkung von gentoxischen und mutagenen Schadstoffen kann dabei zur nicht-korrekten Aufteilung von Chromosomen führen, wodurch DNA-Fragmente nicht in den Zellkern inkorporiert werden können und es so zur Bildung von kleinen Mikrokernen kommt. Die Ergebnisse des Mikrokerntests zeigten in keiner der Zulaufproben ein gentoxisches Potenzial. Lediglich in Messkampagne 6 konnte eine signifikant erhöhte Anzahl an Mikrokernen in der Probe des Ablaufs der Pilotanlage nachgewiesen werden. In diesem einen Fall ist eine Bildung von Transformationsprodukten durch die Ozonung nicht gänzlich auszuschließen, die dann potenziell auf die Chromosomenteilung einwirken. Genau wie bei der Beprobung der Kläranlagen wurden hier allerdings sämtliche Proben an den unterschiedlichen Stellen zeitgleich genommen, wodurch die Verweilzeiten innerhalb der Reinigungsstufen nicht mit berücksichtigt werden konnten. Daher ist auch eine grundsätzlich andere Chemikalienzusammensetzung denkbar, die zu der beobachteten Mikrokernbildung geführt haben kann. Dieses einmalige gentoxische Potenzial an der Probenahmestelle AO3 konnte jedoch nach der Modell-Nitrifikation nicht mehr gemessen werden, was auf eine effiziente Elimination der Transformationsprodukte durch die Nachbehandlung schließen lässt.

Zusammenfassend zeigt sich, dass die Pilotanlage zu einer effizienten Reduzierung des östrogenen Potenzials nach Untersuchungen im ERα CALUX® und im L-YES Assay führt. Am AMNK waren Effekte auf die Steroidgenese nachweisbar, jedoch lässt sich kein Rückschluss auf die Ozonung ziehen, da der AO3 nicht untersucht werden konnte. Aus der Literatur ist bekannt, dass das östrogene Potenzial erfolgreich durch die Ozonung reduziert, aber nicht immer vollständig eliminiert werden konnte (Amler et al. 2017). Zur weiteren Reduktion des verbleibenden östrogenen Potenzials erwies sich eine nachgeschaltete Sandfiltration als geeignete Methode (Stalter et al. 2010).

Auf diese Weise konnte das östrogene Potenzial fast vollständig eliminiert werden (bis zu 98 %). Die Ergebnisse der Mutagenität/Gentoxizität zeigten, dass sowohl beim Ames-Fluktuation Assay als auch beim Mikrokerntest in je einem Fall ein gentoxisches bzw. mutagenes Potenzial am Ablauf der Ozonung bzw. nach der Modell-Nitrifikation nachgewiesen werden konnte. Auch Magdeburg et al. (2014) beobachteten Mutagenität in Abwasserproben nach einer Ozonung. Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigen allerdings keine eindeutige Bildung von Transformationsprodukten. Zudem muss deutlich erwähnt werden, dass das gentoxische und mutagene Potenzial bereits sehr effektiv durch die Pilotanlage eliminiert werden konnte und dass, vor allem im Ames-Fluktuation Assay, das mutagene Potenzial erst ab einer Aufkonzentrierung der Probe von 25 (REF) nachweisbar war, was auf ein generell sehr geringes mutagenes Potenzial hindeutet. Der Einsatz eines Sandfilter erwies sich als effektivste Technologie, um die ozoninduzierte Mutagenität fast vollständig zu eliminieren (Magdeburg et al. 2014). Dieser ist auch als biologische Nachbehandlungsstufe für die großtechnische Demonstrationsanlage verfügbar und wird in Phase 2 untersucht.

6 Zusammenfassung

Im Projekt DemO$_3$AC werden die Auswirkungen einer großtechnischen Ozonanlage zur Behandlung des gesamten Abwassers der Kläranlage Aachen-Soers auf den Vorfluter, die Wurm, untersucht. Dies ist das erste übergeordnete Ziel des Projekts DemO$_3$AC. Dazu wurde in der Phase 1a zunächst der Ist-Zustand, der Status Quo, der Kläranlage und des Vorfluters festgestellt. Die Phase 1b umfasste darüber hinaus Untersuchungen der Kläranlage Eilendorf und ihrem Vorfluter Haarbach. Der Haarbach mündet oberhalb der Kläranlage Aachen-Soers in die Wurm, somit tragen die Kläranlage Eilendorf und der Haarbach zur Vorbelastung der Wurm vor der Einleitung der Kläranlage Aachen-Soers bei.

Die Evaluierung der Auswirkungen wird anhand vergleichender Untersuchungen durchgeführt, die also in Phase 2 (2018–2019), wenn die Ozonungsanlage in Betrieb ist, wiederholt werden.

Untersucht wurden Abwasserparameter zur Charakterisierung der Abwassermatrix, Spurenstoffe, Keimzahlen und Antibiotikaresistenzen, ökotoxikologische Potenziale und die Lebensgemeinschaften im Gewässer.

Darüber hinaus wurde eine Pilotanlage zur Ozonung von Abwasser betrieben, mit der einerseits verfahrenstechnische Grundlagen ermittelt und andererseits Bewertungen im Hinblick auf mikrobiologische und ökotoxikologische Testsysteme durchgeführt wurden. Diese Untersuchungen dienen weiterhin als Grundlage zur Erreichung des zweiten übergeordneten Projektziels: der Optimierung der Ozonung (welche ebenfalls in Phase 2 ermittelt wird).

Als Ergebnis der Ermittlung des Status Quo ist festzuhalten, dass die Kläranlagen Aachen-Soers und Eilendorf, die verfahrenstechnisch ähnlich aufgebaut sind (beide haben als zusätzliche Reinigungsstufe bereits einen Sandfilter), das Abwasser bereits sehr gut reinigen:

Dieses Ergebnis lieferte die Auswertung der Abwasserparameter, wie z. B. CSB, DOC, AFS und Nährstoffverbindungen. Die vorgeschriebenen Überwachungswerte werden zuverlässig eingehalten. Positive Auswirkungen hatte die Kläranlageneinleitung beispielsweise in Bezug auf Feststoffe bzw. Trübung sowie Phosphor. Nitrat war nach Kläranlageneinleitung in der Wurm in höheren Konzentrationen messbar, lag allerdings weiterhin deutlich unterhalb des Überwachungswertes.

In Bezug auf Spurenstoffelimination wurden im Schnitt etwa die Hälfte der gemessenen Konzentrationen eliminiert, was insbesondere auf die biologische Reinigungsstufe zurückzuführen war. Ein gewisser Teil wurde darüber hinaus auch im Sandfilter zurückgehalten. Dennoch stellte insbesondere die Kläranlage Aachen-Soers aufgrund des hohen Anteils der Wasserführung in der Wurm nach Einleitung einen maßgeblichen Eintragspfad für Spurenstoffe in die Wurm dar. Ebenso war die punktuelle Einleitung der Kläranlage Eilendorf im Haarbach sichtbar und auch die Mündung des Haarbachs in die Wurm war anhand der Spurenstoffmessungen erkennbar.

Auf der Kläranlage Aachen-Soers wurden die Fäkalkeime *E. coli* und Enterokokken bereits zu > 99 % eliminiert. Die Kläranlageneinleitung führte, trotz des großen Einflusses auf die Wasserführung, zu keiner Veränderung der Keimzahlen in der Wurm. An dieser Stelle ist demnach in der Wurm kein Abwassereinfluss erkennbar gewesen.

Antibiotikaresistenzen wurden für *E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken gegen einige gängige Antibiotika untersucht, z. B. Clarithromycin und Sulfamethoxazol. Obwohl über die Reinigungsstufen der Kläranlage Keime auch mit antibiotikaresistenten Genen reduziert werden können, führte ein Vergleich des Zu- und Ablaufs im Mittel zu keiner signifikanten Veränderung des prozentualen Anteils der antibiotikaresistenten Keime. Für einzelne Tag war dies zwar messbar, jedoch waren die Schwankungen hoch. Zu betonen ist, dass die Untersuchung der Keimzahl nicht mit der Untersuchung der Antibiotikaresistenzen verknüpft werden kann, da sich die Angabe der Resistenzen auf ein Kontrollmedium bezieht und die Ergebnisse nicht die Resistenzen der im Zusammenhang mit der Keimzahlbestimmung verwendeten Keime gemacht wurde. Weiterhin wurden multiple Resistenzen der bereits antibiotikaresistenten Keime untersucht und die Methodik etabliert. Grundsätzlich waren multiple Resistenzen nachweisbar. Die Daten lassen zum derzeitigen Standpunkt jedoch keine Aussage über den Einfluss der Kläranlage auf multiple Antibiotikaresistenzen zu.

Ökotoxikologisch war der Kläranlagenzulauf in allen Untersuchungen auffällig, jedoch wird das Potenzial aller Testsysteme mindestens deutlich reduziert (z. B. Endokrinität, Mutagenität, Gentoxizität), häufig sogar vollständig eliminiert (z. B. Embryotoxizität/Teratogenität, akute/chronische Toxizität). Da auf die Vorfluter diverse, teilweise sehr diffuse Belastungen wirken und auch Vorbelastungen (z. B. anhand der Sedimentuntersuchungen) merklich messbar waren, fiel der Einfluss der Kläranlageneinleitung auf die Vorfluter nicht immer eindeutig aus. Teilweise führte die Einleitung des gereinigten Abwassers zu einem Verdünnungseffekt, teilweise gab es allerdings Hinweise auf eine Beeinflussung des Gewässers durch den hohen Abwasseranteil (insbesondere im Hinblick auf östrogenes Potenzial anhand von *in situ*, teilweise *in vitro* Untersuchungen). Die Sedimentbelastung fiel im Vergleich zur wässrigen Phase deutlicher aus: hier war neben östrogenem Potenzial auch mutagenes/gentoxisches Potenzial präsenter, jedoch bestand hier nicht die Möglichkeit, der Belastung einer eindeutigen Quelle zuzuordnen.

Aus ökotoxikologischer Sicht hat sich insbesondere die Mischwassereinleitung durch das RÜB Soers als relevant herausgestellt. Hier konnten teratogene, östrogene, mutagene und gentoxische Effekte nachgewiesen werden. Neben einem stofflichen Eintrag kann es darüber hinaus aufgrund der hydraulischen Belastung zu Sedimentaufwirbelungen kommen, wodurch gebundene Schadstoffe erneut remobiliert und so wiederum ein ökotoxikologisches Potenzial auf aquatische Organismen haben können.

Die Gewässerabschnitte in Wurm und Haarbach zeigten auch in Bezug auf die Bewertung der Lebensgemeinschaften starke Defizite auf. Der Zustand war überwiegend schlecht bis unbefriedigend. Ein Einfluss durch die Kläranlageneinleitung war insbesondere an den Diatomeen sichtbar.

Die Untersuchungen der Abwasserozonung im Labor- bzw. Pilotmaßstab zeigen, dass eine vollständige Ozonzehrung des Abwassers bei verschiedenen Ozondosierungen und Zulaufbedingungen nach ca. fünf Minuten erreicht wurde. Für eine durchschnittliche Elimination der Spurenstoffkonzentrationen von ca. 90 % waren Ozondosierungen von 3 mg_{O3}/l bis 4 mg_{O3}/l ausreichend. Als Grundlage für ein Regelungskonzept des Ozoneintrags erwies sich die Abnahme der Absorbanz bei 254 nm (ΔSAK_{254}) aufgrund guter Korrelationen zur Spurenstoffelimination als vielversprechend. Die Grundlagenermittlungen flossen in die Dimensionierung der großtechnischen Ozonanlage ein.

In Bezug auf Transformationsproduktbildung konnten keine Nitrosamine gefunden werden. Das potenziell kanzerogene Transformationsprodukt Bromat wurde intensiv untersucht und wurde nur bei vergleichsweise sehr hohen Ozondosierungen (> 6mg_{O3}/l) gebildet, die in der Praxis zur Spurenstoffelimination nicht angewandt werden.

Darüber hinaus wurde eine indirekte Abschätzung der Transformationsproduktbildung anhand ökotoxikologischer Tests durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Pilotanlage insgesamt zu einer weiteren Verbesserung der Abwasserqualität beitrug und die ökotoxikologischen Potenziale weiter reduziert wurden. Auf Basis der bisherigen Ergebnisse ist die potenziell von Transformationsprodukten ausgehende Ökotoxizität als gering einzustufen.

Weiterhin konnte mittels Ozonung bei Dosierungen von 4 mg_{O3}/l und 6 mg_{O3}/l eine Keimreduzierung von 1,5 bis 2 log-Stufen erreicht werden. Auch der Anteil antibiotikaresistenter Keime reduzierte sich durch die Ozonung.

Anhand der Untersuchungen der Ozonung im Pilotmaßstab lässt sich derzeit abschätzen, dass sich die Qualität des Kläranlagenablaufs nach Inbetriebnahme der großtechnischen Ozonungsanlage im Hinblick auf chemische, mikrobiologische und ökotoxikologische Parameter verbessern wird. Eine mögliche sichtbare Verbesserung der Gewässerqualität ist insbesondere in Bezug auf östrogenes, ggf. auch auf mutagenes Potenzial zu erwarten. Darüber hinaus weisen Angaben aus der Literatur auf eine Verbesserung der Lebensgemeinschaften hin. Diese Bewertung kann jedoch erst im Zuge der Phase 2 erfolgen: entsprechende Untersuchungen und die Auswirkungen dieser Zustandsänderung auf das Gewässer, werden in 2018 und 2019 im Rahmen der Phase 2 des Projekts DemO_3AC durchgeführt.

7 Referenzen

2008/105/EC (2008). *Richtlinie 2008/195/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Umweltqualitätsnormen im Bereich der Wasserpolitik und zur Änderung und anschließenden Aufhebung der Richtlinien des Rates 82/176/EWG, 83/513/EWG, 84/156/EWG, 84/491/EWG und 86/280/EWG sowie zur Änderung der Richtlinie 2000/60/EG: EU-WRRL*.

2015/495/EU (2015). *Commission Implementing Decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council, publications.europa.eu*, Annex.

Abdel-Massih, R. M., Melki, P. N., Afif, C., und Daoud, Z. (2013). "Detection of genotoxicity in hospital wastewater of a developing country using SOS chromotest and Ames fluctuation test." *J Environ Eng Ecol Sci*, 10.7243/2050-1323-2-4, 4.

Abegglen, C., Escher, B., Hollender, J., Koepke, S., Ort, C., Peter, A., Siegrist, H., Gunten, U. von, Zimmermann, S., Koch, M., Niederhauser, P., Schärer, M., Braun, C., Gälli, R., Junghans, M., Brocker, S., Moser, R., und Rensch, D. (2009a). *Ozonung von gereinigtem Abwasser: Schlussbericht Pilotversuch Regensdorf,* Studie der Eawag im Auftrag des Bundesamts für Umwelt BAFU und des AWEL Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft des Kantons Zürich, in enger Zusammenarbeit mit BMG Engineering AG und Hunziker-Betatech AG.

Abegglen, C., Escher, B., Hollender, J., Koepke, S., Ort, C., Peter, A., Siegrist, H., Gunten, U. von, Zimmermann, S., Koch, M., Niederhauser, P., Schärer, M., Braun, C., Gälli, R., Junghans, M., Brocker, S., Moser, R., und Rensch, D. (2009b). *Ozonung von gereinigtem Abwasser. Schlussbericht Pilotversuch Re-gensdorf*.

Abegglen, C., und Siegrist, H. (2012). *Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser: Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen*, Bern (Feb. 18, 2015).

Akiyama, T., und Savin, M. C. (2010). "Populations of antibiotic-resistant coliform bacteria change rapidly in a wastewater effluent dominated stream." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2010.08.055, 6192–6201.

Alexander, J., Knopp, G., Dötsch, A., Wieland, A., und Schwartz, T. (2016). "Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2016.03.154, 103–112.

Altmann, J., Ruhl, A. S., Zietzschmann, F., und Jekel, M. (2014). "Direct comparison of ozonation and adsorption onto powdered activated carbon for micropollutant removal in advanced wastewater treatment." *Water research*, 10.1016/j.watres.2014.02.025, 185–193.

Amler, K., Benišek, M., Bláha, L., Fromm, J., Gallert, C., Giebner, S., and Triebskorn, R., eds. (2017). *Weitergehende Abwasserreinigung: Ein wirksames und bezahlbares Instrument zur Verminderung von Spurenstoffen und Keimen im Wasserkreislauf: Gemeinsamer Schlussbericht der vom*

Bundesministerium für Bildung und Forschung sowie vom Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg geförderten Projekte SchussenAktiv, SchussenAktivplus und SchussenAktivplus+, Ökonsult GbR Stuttgart, Stuttgart.

Amy, G., und Siddiqui, M. (1999). *Strategies to Control Bromate and Bromide*.

An, L., Hu, J., und Yang, M. (2008). "Evaluation of estrogenicity of sewage effluent and reclaimed water using vitellogenin as a biomarker." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1897/07-096.1, 154–158.

Antoniou, M. G., Hey, G., Rodríguez Vega, S., Spiliotopoulou, A., Fick, J., Tysklind, M., la Cour Jansen, Jes, und Andersen, H. R. (2013). "Required ozone doses for removing pharmaceuticals from wastewater effluents." *Science of The Total Environment*, 10.1016/j.scitotenv.2013.03.072, 42–49.

ARGE (2014). *Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben „Elimination von Arzneimittelrückständen in kommunalen Kläranlagen. Abschlussbericht zur Phase 2 der "Arbeitsgemein-schaft Spurenstoffe NRW, Teilprojekt 6" (Arge)“*.

Ashauer, R. (2016). "Post-ozonation in a municipal wastewater treatment plant improves water quality in the receiving stream." *Environmental sciences Europe*, 10.1186/s12302-015-0068-z, 1.

Aymerich, I., Acuña, V., Barceló, D., García, M. J., Petrovic, M., Poch, M., Rodriguez-Mozaz, S., Rodríguez-Roda, I., Sabater, S., Schiller, D. von, und Corominas, L. (2016). "Attenuation of pharmaceuticals and their transformation products in a wastewater treatment plant and its receiving river ecosystem." *Water research*, 10.1016/j.watres.2016.04.022, 126–136.

Bahr, C., Ernst, M., Jekel, M., Heinzmann, B., Luck, F., und Ried, A. (2007). *Pilotuntersuchungen zur kombinierten oxidativ-biologischen Behandlung von Klärwerksabläufen für die Entfernung von organischen Spuren- und Wirkstoffen und zur Desinfektion*, Berlin (Feb. 17, 2015).

Baquero, F., Martínez, J.-L., und Cantón, R. (2008). "Antibiotics and antibiotic resistance in water environments." *Current opinion in biotechnology*, 10.1016/j.copbio.2008.05.006, 260–265.

Barron, M. G., Heintz, R., und Rice, S. D. (2004). "Relative potency of PAHs and heterocycles as aryl hydrocarbon receptor agonists in fish." *Marine environmental research*, 10.1016/j.marenvres.2004.03.001, 95–100.

Batt, A. L., Kim, S., und Aga, D. S. (2007). "Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2007.01.008, 428–435.

Baus, C., Sacher, F., und Brauch, D. (2004). "Oxidation of iodinated X-ray contrast media in water sam-ples – results of laboratory scale experiments." *Tagungsband zur Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft*, Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker(63-66) (af).

Benner, J., Salhi, E., Ternes, T., und Gunten, U. von (2008). "Ozonation of reverse osmosis concentrate: kinetics and efficiency of beta blocker oxidation." *Water research*, 10.1016/j.watres.2008.04.002, 3003–3012.

BGG (2012). "Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. Empfehlung der Kommission für Kranken-haushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) [Hygiene measures for infection or colonization with multidrug-resistant gram-negative bacilli. Commission recommendation for hospital hygiene and infection prevention (KRINKO) at the Robert Koch Institute (RKI)]." *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*, 10.1007/s00103-012-1549-5, 1311–1354.

Billiard, S. M., Meyer, J. N., Wassenberg, D. M., Hodson, P. V., und Di Giulio, R. T. (2008). "Nonadditive effects of PAHs on Early Vertebrate Development: Mechanisms and implications for risk assessment." *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, 10.1093/toxsci/kfm303, 5–23.

Binelli, A., Cogni, D., Parolini, M., Riva, C., und Provini, A. (2009). "In vivo experiments for the evaluation of genotoxic and cytotoxic effects of Triclosan in Zebra mussel hemocytes." *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 10.1016/j.aquatox.2008.11.008, 238–244.

Bischoff, A. (2013). *Desinfektion von behandeltem Abwasser – Vergleich verschiedener Desinfektionsverfahren: Dissertation* (Feb. 18, 2015).

Bjerregaard, L. B., Madsen, A. H., Korsgaard, B., und Bjerregaard, P. (2006). "Gonad histology and vitellogenin concentrations in brown trout (Salmo trutta) from Danish streams impacted by sewage effluent." *Ecotoxicology (London, England)*, 10.1007/s10646-006-0061-9, 315–327.

Bjerregaard, P., Hansen, P. R., Larsen, K. J., Erratico, C., Korsgaard, B., und Holbech, H. (2008). "Vitellogenin as a biomarker for estrogenic effects in brown trout, Salmo trutta: Laboratory and field investigations." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1897/08-148.1., 2387–2396.

Bleisteiner, S. (2013). *Desinfektion von biologisch gereinigtem Abwasser: Merkblatt DWA-M 205*, DWA, Hennef.

Bollmann, U. E., Tang, C., Eriksson, E., Jönsson, K., Vollertsen, J., und Bester, K. (2014). "Biocides in urban wastewater treatment plant influent at dry and wet weather: Concentrations, mass flows and possible sources." *Water research*, 10.1016/j.watres.2014.04.014, 64–74.

Bouland, S., Duguet, J.-P., und Montiel, A. (2004). "Minimizing Bromate Concentration by Controlling the Ozone Reaction Time in a Full-Scale Plant." *Ozone: Science & Engineering*, 10.1080/01919510490482223, 381–388.

Brinkmann, M., Hudjetz, S., Keiter, S., Seiler, T.-B., Wölz, J., Hallare, A. V., Hollert, H., Cofalla, C., Roger, S., Schüttrumpf, H., und Gerbersdorf, S. U. (2010). "Toxizität und Risk Assessment fluvialer Sedimente und Schwebstoffe: Eine kurze Übersicht bisheriger und neuerer Entwicklungen." *Umweltwiss Schadst Forsch*, 10.1007/s12302-010-0159-9, 651–655.

Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M., und Klaminder, J. (2013). "Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations." *Science (New York, N.Y.)*, 10.1126/science.1226850, 814–815.

Brückner, I., Claßen, S., Hammers-Wirtz, M., Hollert, H., Kirchner, K., Klaer, K., Müller, Y., Pinnekamp, J., A.-Rosenbaum, M., Schiwy, S., und Stepkes, H. (2018). "Kläranlagen- und Gewässermonitoring zur Evaluierung der Auswirkungen einer Ozonung auf den Vorfluter – das Projekt DemO3AC." *KW Korrespondenz Wasserwirtschaft*, (11 (1)).

Brückner, I., Kirchner, K., Müller, Y., Schiwy, S., Klaer, K., Dolny, R., Wendt, L., Könemann, S., Pinnekamp, J., Hollert, H., und Rosenbaum, M. A. (2017). "Status Quo Report on wastewater treatment plant, receiving water's biococenosis and quality as basis for evaluation of large-scale ozonation process." *Water Sci Technol*, 10.2166/wst.2017.548, wst2017548.

Buffle, M.-O., Schumacher, J., Salhi, E., Jekel, M., und Gunten, U. von (2006). "Measurement of the initial phase of ozone decomposition in water and wastewater by means of a continuous quench-flow system: Application to disinfection and pharmaceutical oxidation." *Water research*, 10.1016/j.watres.2006.02.026, 1884–1894.

Bundschuh, M., Gessner, M. O., Fink, G., Ternes, T. A., Sögding, C., und Schulz, R. (2011a). "Ecotoxicologial evaluation of wastewater ozonation based on detritus-detritivore interactions." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2010.10.006, 355–361.

Bundschuh, M., Pierstorf, R., Schreiber, W. H., und Schulz, R. (2011b). "Positive effects of wastewater ozonation displayed by in situ bioassays in the receiving stream." *Environmental science & technology*, 10.1021/es104195h, 3774–3780.

Burki, R., Vermeirssen, E. L.M., Körner, O., Joris, C., Burkhardt-Holm, P., und Segner, H. (2006). "ASSESSMENT OF ESTROGENIC EXPOSURE IN BROWN TROUT (SALMO TRUTTA) IN A SWISS MIDLAND RIVER: INTEGRATED ANALYSIS OF PASSIVE SAMPLERS, WILD AND CAGED FISH, AND VITELLOGENIN mRNA AND PROTEIN." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1897/05-545R.1, 2077.

BWK (2001). *Ableitung von immissionsorientierten Anforderungen an Mischund Niederschlagswassereinleitungen unter Berücksichtigung örtlicher Verhältnisse,* BWK-Regelwerk, Merkblatt M3, Düsseldorf.

BWK (2008). *Detaillierte Nachweisführung immissionsorientierter Anforderungen an Misch- und Niederschlagswassereinleitungen gemäß BWK-Merkblatt 3.,* BWK-Regelwerk, Merkblatt M7, Sindelfingen.

Canoco 4 (2002). *Canoco 4,* Cajo J.F. ter Braak, Petr Smilauer, Wageningen [etc.] : Biometris.

Carballa, M., Omil, F., Lema, J. M., Llompart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I., Gómez, M., und Ternes, T. (2004). "Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant." *Water research*, 10.1016/j.watres.2004.03.029, 2918–2926.

Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., und Zuccato, E. (2006). "Removal of Pharmaceuticals in Sewage Treatment Plants in Italy." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es050991m, 357–363.

Clara, M., Kreuzinger, N., Strenn, B., Gans, O., und Kroiss, H. (2005a). "The solids retention time—a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants." *Water research*, 10.1016/j.watres.2004.08.036, 97–106.

Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N., und Kroiss, H. (2005b). "Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants." *Water research*, 10.1016/j.watres.2005.09.015, 4797–4807.

Clara, M., Strenn, B., und Kreuzinger, N. (2004). "Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration." *Water research*, 10.1016/j.watres.2003.10.058, 947–954.

CLSI (2015). "M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement.", Wayne, PA *CLSI document M100-S25*, (35 (3)).

Crigee, R. (1975). "Mechanism of Ozonolysis." *Angewandte Chemie International Edition in English*, (Volume 14, Issue 11), 745–752 (af).

Czekalski, N., Berthold, T., Caucci, S., Egli, A., und Bürgmann, H. (2012). "Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into lake geneva, Switzerland." *Frontiers in microbiology*, 10.3389/fmicb.2012.00106, 106.

da Silva, B. F., Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A. A., Petrovic, M., und Barceló, D. (2011). "Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2011.07.051, 1331–1339.

DIN 38404-3. (2005). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C) - Teil 3: Bestimmung der Absorption im Bereich der UV-Strahlung, Spektraler Absorptionskoeffizient (C 3)." *DIN 38404-3:2005-07*.

DIN 38404-4. (1976). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C); Bestimmung der Temperatur (C 4)." *DIN 38404-4:1976-12*.

DIN 38406-3. (2002). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Kationen (Gruppe E) - Teil 3: Bestimmung von Calcium und Magnesium, komplexometrisches Verfahren (E 3)." *DIN 38406-3:2002-03*.

DIN 38406-5. (1983). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Kationen (Gruppe E); Bestimmung des Ammonium-Stickstoffs (E 5)." *DIN 38406-5:1983-10*.

DIN 38408-3. (2011). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Gasförmige Bestandteile (Gruppe G) - Teil 3: Bestimmung von Ozon (G 3)." *DIN 38408-3:2011-04*.

DIN 38409-2. (1987). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H); Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe und des Glührückstandes (H 2)." *DIN 38409-2:1987-03*.

DIN 38409-6. (1986). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H); Härte eines Wassers (H 6)." *DIN 38409-6:1986-01*.

DIN 38409-7. (2005). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H) - Teil 7: Bestimmung der Säure- und Basekapazität (H 7)." *DIN 38409-7:2005-12*.

DIN 38412-33. (1991). "Titel (Deutsch): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der nicht giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Grünalgen (Scenedesmus-Chlorophyll-Fluoreszenztest) über Verdünnungsstufen (L 33)." *DIN 38412-33:1991-03*.

DIN 38412-37. (1999). "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L) - Teil 37: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasser auf das Wachstum von Bakterien (Photobacterium phosphoreum; Zellvermehrungs-Hemmtest)." *DIN 38412-37:1999-04*.

DIN EN 12260. (2003). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von Stickstoff - Bestimmung von gebundenem Stickstoff (TNb) nach Oxidation zu Stickstoffoxiden." *DIN EN 12260:2003-12*.

DIN EN 13946. (2003). *Water quality - Guidance standard for the routine sampling and pretreatment of benthic diatoms from rivers. - TC 230 WG 2 TG 3, "Macrophytes and algae"*.

DIN EN 14407. (2004). *Water quality - Guidance standard for the identification, enumeration and interpretation of benthic diatom samples from running waters. - TC 230 WG 2 TG 3, MACROPHYTES AND ALGAE*.

DIN EN 1484. (1997). "Wasseranalytik - Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC)." *DIN EN 1484:1997-08*.

DIN EN 26777. (1993). "Wasserbeschaffenheit; Bestimmung von Nitrit; Spektrometrisches Verfahren." *DIN EN 26777:1993-04*.

DIN EN 27888. (1993). "Wasserbeschaffenheit; Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit." *DIN EN 27888:1993-11*.

DIN EN ISO 10304. (2009). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von gelösten Anionen mittels Flüssigkeits-Ionenchromatographie - Teil 1: Bestimmung von Bromid, Chlorid, Fluorid, Nitrat, Nitrit, Phosphat und Sulfat." *DIN EN ISO 10304-1:2009-07*.

DIN EN ISO 10523. (2012). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des pH-Werts." *DIN EN ISO 10523:2012-04*.

DIN EN ISO 10712. (1996). "Wasserbeschaffenheit - Pseudomonas putida Wachstumshemmtest (Pseudomonas-Zellvermehrungshemmtest)." *DIN EN ISO 10712:1996-02*.

DIN EN ISO 11348-1. (2009). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von Vibrio fischeri (Leuchtbakterientest) - Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakterien." *DIN EN ISO 11348-1:2009-05*.

DIN EN ISO 15088. (2009). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (Danio rerio)." *DIN EN ISO 15088:2009-06*.

DIN EN ISO 17353. (2005). "Bestimmung von ausgewählten Organozinnverbindungen - Verfahren mittels Gaschromatographie." *DIN EN ISO 17353:2005-11*.

DIN EN ISO 18856. (2005). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung ausgewählter Phthalate mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie." *DIN EN ISO 18856:2005-11*.

DIN EN ISO 20079. (2006). *Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der toxischen Wirkung von Wasserinhaltsstoffen und Abwasser gegenüber Wasserlinsen (Lemna minor) - Wasserlinsen-Wachstumshemmtest (ISO 20079:2005);*

DIN EN ISO 21427-2. (2009). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Gentoxizität mit dem In-vitro-Mikrokerntest - Teil 2: Verwendung einer nicht-synchronisierten V79-Zellkulturlinie (ISO 21427-2:2006); Deutsche Fassung." *EN ISO 21427-2:2009*.

DIN EN ISO 6341. (2013). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Hemmung der Beweglichkeit von Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) - Akuter Toxizitäts-Test." *DIN EN ISO 6341:2013-01*.

DIN EN ISO 6878. (2004). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von Phosphor - Photometrisches Verfahren mittels Ammoniummolybdat." *DIN EN ISO 6878:2004-09*.

DIN EN ISO 7887. (2012). "Wasserbeschaffenheit - Untersuchung und Bestimmung der Färbung." *DIN EN ISO 7887:2012-04*.

DIN EN ISO 8692. (2012). "Wasserbeschaffenheit - Süßwasseralgen-Wachstumshemmtest mit einzelligen Grünalgen." *EN ISO 8692:2012*.

DIN EN ISO 9308-3. (1998). "Water quality - Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria in surface and waste water - Part 3: Miniaturized method (most probable number) by inoculation in liquid medium." *9308-3*.

DIN ISO 17289. (2014). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des gelösten Sauerstoffs - Optisches Sensorverfahren (ISO 17289:2014)." *DIN ISO 17289:2014-12*.

Dizer, H., Wittekindt, E., Fischer, B., und Hansen, P.-D. (2002). "The cytotoxic and genotoxic potential of surface water and wastewater effluents as determined by bioluminescence, umu-assays and selected biomarkers." *Chemosphere*, 10.1016/S0045-6535(01)00062-5, 225–233.

Dodd, M. C. (2012). "Potential impacts of disinfection processes on elimination and deactivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment." *Journal of environmental monitoring : JEM*, 10.1039/c2em00006g, 1754–1771.

Dong, Z.-J., Dong, W.-Y., Zhang, X.-M., Yu, X.-H., Ou, Y.-F., und Du, H. (2009). *Removal of Bromate by Ferrous Sulfate Reduction in Drinking Water: ICBBE 2009 : June 11-16, 2009 Beijing, China,*

Proceedings, the 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, [IEEE], [Piscataway, NJ].

Duft, M., Schulte-Oehlmann, U., Weltje, L., Tillmann, M., und Oehlmann, J. (2003). "Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail Potamopyrgus antipodarum." *Aquatic Toxicology*, 10.1016/S0166-445X(03)00102-4, 437–449.

Durjava, M. K., Kolar, B., Arnus, L., Papa, E., Kovarich, S., Sahlin, U., und Peijnenburg, W. (2013). "Experimental Assessment of the Environmental Fate and Effects of Triazoles and Benzotriazole." *ATLA*, (41), 65–75.

DVWK (1999). *Durchgehendes Trophiesystem auf der Grundlage der Trophieindikation mit Kieselalgen*.

Eggen, R. I. L., Bengtsson, B.-E., Bowmer, C. T., Gerritsen, A. A. M., Gibert, M., Hylland, K., Johnson, A. C., Leonards, P., Nakari, T., Norrgren, L., Sumpter, J. P., Suter, M. J.-F., Svenson, A., und Pickering, A. D. (2003). "Search for the evidence of endocrine disruption in the aquatic environment; Lessons to be learned from joint biological and chemical monitoring in the European project COMPREHEND." *Pure and Applied Chemistry*, 10.1351/pac200375112445.

ELWAS-WEB. (2017). "Das Fachinformationssystem ELWAS mit dem Auswertewerkzeug ELWAS-WEB ist ein elektronisches wasserwirtschaftliches Verbundsystem für die Wasserwirtschaftsverwaltung in NRW.: ." <http://www.elwasweb.nrw.de/elwas-web/index.jsf>.

Englert, D., Zubrod, J. P., Schulz, R., und Bundschuh, M. (2013). "Effects of municipal wastewater on aquatic ecosystem structure and function in the receiving stream." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2013.03.025, 401–410.

Escher, B. I., Bramaz, N., und 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 : JEM*, 10.1039/b907093a, 1836–1846.

Esri (2016). *Die in diesem Dokument verwendeten Karten wurden mit der Software ArcGIS® und ArcMapTM der Firma Esri erstellt. ArcGIS® und ArcMapTM sind geistiges Eigentum der Firma Esri und werden mit gültiger Lizenz verwendet.,* Copyright © Esri. <http://www.esri.com/>.

EUCAST. (2017). "Clinical breakpoints: Breakpoint table for bacteria." <http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/> (Dec. 7, 2017).

Faria, C., Vaz-Moreira, I., Serapicos, E., Nunes, O. C., und Manaia, C. M. (2009). "Antibiotic resistance in coagulase negative staphylococci isolated from wastewater and drinking water." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2009.02.034, 3876–3882.

Fauler, J., Berendonk, T. U., Bernard, L., Krebs, P., und Lucke, N. (2015). *Untersuchung zu Einträgen von Antibiotika und der Bildung von Antibiotikaresistenz im urbanen Abwasser sowie Entwicklung geeigneter Strategien, Monitoring- und Frühwarnsysteme am Beispiel Dresden*, Berlin, 2015.

Fent, K. (2013). *Ökotoxikologie: Umweltchemie ; Toxikologie ; Ökologie*, Georg Thieme Verlag KG, s.l.

Filipic, M. (1995). "Mutagenicity and toxicity of water extracts from the Sora river area." *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 10.1016/0165-1218(95)90084-5, 1–8.

Finch, G. R., und und Smith, D. (1990). "Evaluation of Empirical Process Design Realationships for Ozone Disinfection of Water and Wastewater." *Ozone Science and Engineering*, (12), 157–175 (en).

Fleiner, J., Wittmer, A., Siegrist, H., Böhler, M., McArdell, C. S., Teichler, R., und Bourgin, M. (2015). *Ozonung ARA Neugut, Dübendorf - Grosstechnische Optimierung der Ozondosierung*.

Fließgewässerbewertung (2014). *ASTERICS inkl. PERLODES: Berechnung der ökologischen Qualität von Fließgewässern*, ASTERICS.

Flussgebiete NRW. (2014). "Gewässerüberwachung in NRW: Leitfaden Monitoring Oberflächengewässer.", Anhang D4 - Umweltqualitätsnormen und Orientierungswerte <https://www.flussgebiete.nrw.de/die-monitoringleitfaeden-7423>.

Foerster, J., Halle, M., und Müller, A. (2017). "Entwicklung eines Habitatindex zur Beurteilung biozönotisch relevanter Gewässerstrukturen." *Korrespondenz Wasserwirtschaft*, (10 (08)), 466–471.

Galluba, S., und Oehlmann, J. (2012). "Widespread endocrine activity in river sediments in Hesse, Germany, assessed by a combination of in vitro and in vivo bioassays." *J Soils & Sediments*, 10.1007/s11368-011-0454-0, 252–264.

Gamage, S., Gerrity, D., Pisarenko, A. N., Wert, E. C., und Snyder, A. S. (2013). "Evaluation of Process Control Alternatives for the Inactivation of Escherichia Coli, MS2 Bacteriophage, and Bacillus subtillis Spores during Wastewater Ozonation." *Ozone Science and Engineering*, (35), 501–513 (en).

Gartiser, S., Hafner, C., Hercher, C., Kronenberger-Schäfer, K., und Paschke, A. (2010). "Whole effluent assessment of industrial wastewater for determination of BAT compliance. Part 2: Metal surface treatment industry." *Environmental science and pollution research international*, 10.1007/s11356-009-0290-6, 1149–1157.

Gasse, J., Steinmetz, H., und Krampe, J. (2009). "Untersuchungen zur hygienischen Qualität kleiner Fließgewässer." *Österr Wasser- und Abfallw*, 10.1007/s00506-009-0135-z, 178–183.

Geffard, O., His, E., Budzinski, H., Chiffoleau, J. F., Coynel, A., und Etcheber, H. (2004). "Effects of storage method and duration on the toxicity of marine sediments to embryos of Crassostrea gigas oysters." *Environmental Pollution*, 10.1016/j.envpol.2003.11.014, 457–465.

Gerbersdorf, S. U., Jancke, T., und Westrich, B. (2007). "Sediment Properties for Assessing the Erosion Risk of Contaminated Riverine Sites. An approach to evaluate sediment properties and their covariance patterns over depth in relation to erosion resistance. First investigations in natural sediments (11 pp)." *J Soils & Sediments*, 10.1065/jss2006.11.190, 25–35.

Gerbersdorf, S. U., Westrich, B., und Paterson, D. M. (2009). "Microbial extracellular polymeric substances (EPS) in fresh water sediments." *Microbial ecology*, 10.1007/s00248-009-9498-8, 334–349.

Gimeno, S., Gerritsen, A., Bowmer, T., und Komen, H. (1996). "Feminization of male carp." *Nature*, (384), 221–222.

Göbel, A., Thomsen, A., McArdell, C. S., Joss, A., und Giger, W. (2005). "Occurrence and Sorption Behavior of Sulfonamides, Macrolides, and Trimethoprim in Activated Sludge Treatment." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es048550a, 3981–3989.

Golovko, O., Kumar, V., Fedorova, G., Randak, T., und Grabic, R. (2014). "Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2014.03.132, 418–426.

Gorga, M., Insa, S., Petrovic, M., und Barceló, D. (2015). "Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2014.06.037, 69–86.

Gottschalk, C., Libra, J. A., und Saupe, A. (2000). *Ozonation of water and waste water*, Weinheim: Wiley - VCH Verlag GmbH.

Götz, C., Hollender, J., und Kase, R. (2011). *Mikroverunreinigungen: Beurteilungskonzept für organische Spurenstoffe aus kommunalem Abwasser,* Studie im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU), Dübendorf.

Gracia, T., Hilscherova, K., Jones, P. D., Newsted, J. L., Higley, E. B., Zhang, X., Hecker, M., Murphy, M. B., Yu, R. M. K., Lam, P. K. S., Wu, R. S. S., und Giesy, J. P. (2007). "Modulation of steroidogenic gene expression and hormone production of H295R cells by pharmaceuticals and other environmentally active compounds." *Toxicology and applied pharmacology*, 10.1016/j.taap.2007.07.013, 142–153.

Gracia, T., Jones, P. D., Higley, E. B., Hilscherova, K., Newsted, J. L., Murphy, M. B., Chan, A. K. Y., Zhang, X., Hecker, M., Lam, P. K. S., Wu, R. S. S., und Giesy, J. P. (2008). "Modulation of steroidogenesis by coastal waters and sewage effluents of Hong Kong, China, using the H295R assay." *Environmental science and pollution research international*, 10.1007/s11356-008-0011-6, 332–343.

Grifoll, M., Solanas, A. M., und Bayona, J. M. (1992). "Bioassay-directed chemical characterization of genotoxic agents in the dissolved and particulate water phases of the Besos and Llobregat Rivers (Barcelona, Spain)." *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 10.1007/BF00225991.

Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., und Andersson, D. I. (2011). "Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations." *PLoS pathogens*, 10.1371/journal.ppat.1002158, e1002158.

Gunten, U. von (2003). "Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine." *Water research*, 10.1016/S0043-1354(02)00458-X, 1469–1487.

Gust, M., Buronfosse, T., André, C., Mons, R., Gagné, F., und Garric, J. (2011). "Is exposure temperature a confounding factor for the assessment of reproductive parameters of New Zealand mudsnails Potamopyrgus antipodarum (Gray)?" *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 10.1016/j.aquatox.2010.11.013, 396–404.

Gust, M., Gagné, F., Berlioz-Barbier, A., Besse, J. P., Buronfosse, T., Tournier, M., Tutundjian, R., Garric, J., und Cren-Olivé, C. (2014). "Caged mudsnail Potamopyrgus antipodarum (Gray) as an integrated field biomonitoring tool: Exposure assessment and reprotoxic effects of water column contamination." *Water research*, 10.1016/j.watres.2014.01.057, 222–236.

Haag, W. (1984). "Improved ammonia oxidation by ozone in the presence of bromide ion during water treatment." *Water research*, 10.1016/0043-1354(84)90227-6, 1125–1128.

Hecker, M., und Hollert, H. (2011). "Endocrine disruptor screening: Regulatory perspectives and needs." *Environ Sci Eur*, 10.1186/2190-4715-23-15, 15.

Helmholtz Zentrum für Umweltforschung (UFZ) (2017). *SPEAR Calculator*, UFZ.

Herbst, H., Kauffmann, M., Türk, J., and Launer, M., eds. (2011). *Abwasserozonierung Kläranlage Duisburg-Vierlinden - Auslegung - Bau - erste Betriebsergebnisse*, Verlag Siedlungswasserwirtschaft Karlsruhe, Karlsruhe.

Heß, S., und Gallert, C. (2015). "Sensitivity of antibiotic resistant and antibiotic susceptible Escherichia coli, Enterococcus and Staphylococcus strains against ozone." *Journal of water and health*, 10.2166/wh.2015.291, 1020–1028.

Hoigné, J., und Bader, H. (1994). "Characterization Of Water Quality Criteria for Ozonation Processes. Part II: Lifetime of Added Ozone." *Ozone: Science & Engineering*, 10.1080/01919519408552417, 121–134.

Hollender, J., Zimmermann, S. G., Koepke, S., Krauss, M., McArdell, C. S., Ort, C., Singer, H., Gunten, U. von, und Siegrist, H. (2009). "Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation followed by sand filtration." *Environ Sci Technol*, 10.1021/es9014629, 7862–7869.

Hollert, H., Keiter, S., König, N., Rudolf, M., Ulrich, M., und Braunbeck, T. (2003). "A new sediment contact assay to assess particle-bound pollutants using zebrafish (danio rerio) embryos." *J Soils & Sediments*, 10.1065/jss2003.09.085, 197–207.

Holmstrup, M., Bindesbøl, A.-M., Oostingh, G. J., Duschl, A., Scheil, V., Köhler, H.-R., Loureiro, S., Soares, A. M. V. M., Ferreira, A. L. G., Kienle, C., Gerhardt, A., Laskowski, R., Kramarz, P. E., Bayley, M., Svendsen, C., und Spurgeon, D. J. (2010). "Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2009.10.067, 3746–3762.

Hotelling, H. (1933). "Analysis of a complex of statistical variables into principal components." *Journal of Educational Psychology*, 10.1037/h0071325, 417–441.

Houtman, C. J., Booij, P., Jover, E., Pascual del Rio, D., Swart, K., van Velzen, M., Vreuls, R., Legler, J., Brouwer, A., und Lamoree, M. H. (2006). "Estrogenic and dioxin-like compounds in sedi-

ment from Zierikzee harbour identified with CALUX assay-directed fractionation combined with one and two dimensional gas chromatography analyses." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2006.05.043, 2244–2252.

Houtman, C. J., Cenijn, P. H., Hamers, T., Lamoree, M. H., Legler, J., Murk, A. J., und Brouwer, A. (2004). "TOXICOLOGICAL PROFILING OF SEDIMENTS USING IN VITRO BIOASSAYS, WITH EMPHASIS ON ENDOCRINE DISRUPTION." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1897/02-544, 32.

Huber, M. M., Canonica, S., Park, G.-Y., und Gunten, U. von (2003). "Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation and Advanced Oxidation Processes." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es025896h, 1016–1024.

Huber, M. M., Göbel, A., Joss, A., Hermann, N., Löffler, D., McArdell, C. S., Ried, A., Siegrist, H., Ternes, T. A., und Gunten, U. von (2005). "Oxidation of Pharmaceuticals during Ozonation of Municipal Wastewater Effluents: A Pilot Study." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es048396s, 4290–4299.

Hutchinson, T., Hutchings, M. J., und Moore, K. W. (1997). "A Review of the Effects of Bromate on Aquatic Organisms and Toxicity of Bromate to Oyster (Crassostrea gigas) Embryos." *ecotoxicological and environmental safety* (en).

Inostroza, P. A., Wicht, A.-J., Huber, T., Nagy, C., Brack, W., und Krauss, M. (2016). "Body burden of pesticides and wastewater-derived pollutants on freshwater invertebrates: Method development and application in the Danube River." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2016.03.064, 77–85.

Inthavong, C., Hommet, F., Bordet, F., Rigourd, V., Guérin, T., und Dragacci, S. (2017). "Simultaneous liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of brominated flame retardants (tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane diastereoisomers) in French breast milk." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2017.08.020, 762–769.

ISO 11350. (2012). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Gentoxizität von Wasser und Abwasser - Verfahren mittels Salmonella/Microsom-Fluktuationstest (Amesfluktuationstest)." *ISO 11350:2012-05*.

ISO 7027. (1999). "Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Trübung." *ISO 7027:1999-12*.

ISO 7899-1. (1998). "Water quality - Detection and enumeration of intestinal enterococci in surface and waste water - Part 1: Miniaturized method (most probable number) by inoculation in liquid medium." *7899-1*.

Jacks, S. S., Giguere, S., und Nguyen, A. (2003). "In Vitro Susceptibilities of Rhodococcus equi and Other Common Equine Pathogens to Azithromycin, Clarithromycin, and 20 Other Antimicrobials." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 10.1128/AAC.47.5.1742-1745.2003, 1742–1745.

Jahnel, J., Neamtu, M., Schudoma, D., und Frimmel, F. H. (2006). "Bestimmung von Umweltqualitätsnormen für potenziell gewässerrelevante Stoffe." *Acta hydrochim. hydrobiol.*, 10.1002/aheh.200500639, 389–397.

Janex, M.L., Savoye, P., Roustan, M., Do-Quang, Z., Lainé, J.M., und Lazarova, V. (2000). "Wastewater Disinfection by Ozone: Influence of Water Quality and Kinetics Modeling." *Ozone: Science & Engineering*, (22(2)), 113–121 (en).

Jantsch, I. (2016). *Bewertung des Makrozoobenthos (MZB) in einer komplexen urbanen Belastungssituation der Wurm an der Kläranlage Aachen-Soers unter Zuhilfenahme des SPEAR-Index.,* Masterarbeit, RWTH Aachen University.

Jarvis, P., Parsons, S. A., und Smith, R. (2007). "Modeling Bromate Formation During Ozonation." *Ozone: Science & Engineering*, 10.1080/01919510701643732, 429–442.

Jekel, M., Altmann, J., Ruhl, A., Sperlich, A., Schaller, J., Gnirß, R., Miehe, U., Stapf, M., Remy, C., und Mutz, D. (2016). "Integration der Spurenstoffentfernung in Technologieansätze der 4. Reinigungsstufe bei Klärwerken." *Universitätsverlag der TU Berlin* (de).

Jekel, M., und Dott, W. (2013). "Leitfaden Polare organische Spurenstoffe als Indikatoren im anthropogen beeinflussten Wasserkreislauf: Ergebnisse des Querschnittsthemas „Indikatorsubstanzen“." *RiSKWa* (de).

Jekel, M., Dott, W., Bergmann, A., Dünnbier, U., Gnirß, R., Haist-Gulde, B., Hamscher, G., Letzel, M., Licha, T., Lyko, S., Miehe, U., Sacher, F., Scheurer, M., Schmidt, C. K., Reemtsma, T., und Ruhl, A. S. (2015). "Selection of organic process and source indicator substances for the anthropogenically influenced water cycle." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2014.12.025, 155–167.

Jelic, A., Gros, M., Ginebreda, A., Cespedes-Sanchez, R., Ventura, F., Petrovic, M., und Barcelo, D. (2011). "Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment." *Water research*, 10.1016/j.watres.2010.11.010, 1165–1176.

Jobling, S., Beresford, N., Nolan, M., Rodgers-Gray, T., Brighty, G. C., Sumpter, J. P., und Tyler, C. R. (2002). "Altered Sexual Maturation and Gamete Production in Wild Roach (Rutilus rutilus) Living in Rivers That Receive Treated Sewage Effluents1." *Biology of Reproduction*, 10.1095/biolreprod66.2.272, 272–281.

Jobling, S., Williams, R., Johnson, A., Taylor, A., Gross-Sorokin, M., Nolan, M., Tyler, C. R., van Aerle, R., Santos, E., und Brighty, G. (2005). "Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish Populations." *Environ Health Perspect*, 10.1289/ehp.8050, 32–39.

Jolibois, B., und Guerbet, M. (2006). "Hospital wastewater genotoxicity." *The Annals of occupational hygiene*, 10.1093/annhyg/mei051, 189–196.

Joss, A., Keller, E., Alder, A. C., Göbel, A., McArdell, C. S., Ternes, T., und Siegrist, H. (2005). "Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment." *Water research*, 10.1016/j.watres.2005.05.031, 3139–3152.

Kahle, M., Buerge, I. J., Hauser, A., Müller, M. D., und Poiger, T. (2008). "Azole Fungicides: Occurrence and Fate in Wastewater and Surface Waters." *Environ Sci Technol*, 10.1021/es8009309, 7193–7200.

Kais, B., Schiwy, S., Hollert, H., Keiter, S. H., und Braunbeck, T. (2017). "In vivo EROD assays with the zebrafish (Danio rerio) as rapid screening tools for the detection of dioxin-like activity." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2017.02.236, 269–280.

Kammann, U., Biselli, S., Reineke, N., Wosniok, W., Danischewski, D., Hühnerfuss, H., Kinder, A., Sierts-Herrmann, A., Theobald, N., Vahl, H.-H., Vobach, M., Westendorf, J., und Steinhart, H. (2005). "Bioassay-directed Fractionation of Organic Extracts of Marine Surface Sediments from the North and Baltic Sea - Part II: Results of the biotest battery and development of a biotest index (8 pp)." *J Soils & Sediments*, 10.1065/jss2004.10.124.2, 225–232.

Kase, R., Götz, C., Werner, I., Perceval, Dulio, und Carere (2016). *Ökologische Defizite durch Arzneimittel und Mikroschadstoffe: Die östrogene Belastung der Gewässer – Modellierung, Monitoring und Bewertung*, 19.-20.09.2016, Düsseldorf.

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., und Guwy, A. J. (2009). "The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters." *Water research*, 10.1016/j.watres.2008.10.047, 363–380.

Kay, P., Hughes, S. R., Ault, J. R., Ashcroft, A. E., und Brown, L. E. (2017). "Widespread, routine occurrence of pharmaceuticals in sewage effluent, combined sewer overflows and receiving waters." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2016.10.087, 1447–1455.

Kelly, M. G. (1996). "The trophic diatom index." *RundD Technical Report E 2. Foundation of Water research, Allen House, The Listons, Liston Rd., Marlow, Bucks, UK*, (SL/ 1FD).

Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., und Flick, R. W. (2007). "Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 10.1073/pnas.0609568104, 8897–8901.

King-Heiden, T. C., Mehta, V., Xiong, K. M., Lanham, K. A., Antkiewicz, D. S., Ganser, A., Heideman, W., und Peterson, R. E. (2012). "Reproductive and developmental toxicity of dioxin in fish." *Molecular and cellular endocrinology*, 10.1016/j.mce.2011.09.027, 121–138.

Kistemann, T., Koch, C., Claßen, T., Rechenburg, A., Kramer, F., Herbst, S., Franke, C., Rind, E., Höser, C., Exner, M., Christoffels, E., Krump, T., Willkomm, M., Thormann, D., Hiller, A., und Lindner, W. (2001). *Mikrobielle Fließgewässerbelastungen durch abwassertechnische Anlagen und diffuse Einträge*.

Kistemann, T., Rind, E., Rechenburg, A., Koch, C., Classen, T., Herbst, S., Wienand, I., und Exner, M. (2008). "A comparison of efficiencies of microbiological pollution removal in six sewage

treatment plants with different treatment systems." *International journal of hygiene and environmental health*, 10.1016/j.ijheh.2008.04.003, 534–545.

Klaer, K., Brückner, I., Stepkes, H., und Pinnekamp, J. (2017). *Mass Balance of Micropollutant Loads from Wastewater to Receiving Water Body and the Impact of Ozonation*.

Kloepfer, A., Jekel, M., und Reemtsma, T. (2005). "Occurrence, Sources, and Fate of Benzothiazoles in Municipal Wastewater Treatment Plants." *Environ Sci Technol*, 10.1021/es048141e, 3792–3798.

Knopp, G., Prasse, C., Ternes, T. A., und 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*, 10.1016/j.watres.2016.04.069, 580–592.

Kompetenzzentrum Mikroschadstoffe.NRW (2016). *Anleitung zur Planung und Dimensionierung von Anlagen zur Mikroschadstoffelimination. 2. überarbeitete Auflage*.

Könemann, S., R. Kase, E. Simon, K. Swart, S. Buchinger, M. Schlüsener, H. Hollert, B. I. Escher, I. Werner, S. Aït-Aïssa, E. Vermeirssen, V. Dulio, S. Valsecchi, S. Polesello, P. Behnisch, B. Javurkova, O. Perceval, C. Di Paolo, D. Olbrich, E. Sychrova, R. Schlichtinge, L. Leborgne, M. Clara, C. Scheffknecht, Y. Marneffe, C. Chalon, P. Tušil, P. Soldàn, B. von Danwitz, J. Schwaiger, M. I. San Martín Becares, F. Bersani, K. Hilscherová, G. Reifferscheid, T. Ternes, und M. Carere (2018). "Effect-based and chemical analytical methods to monitor estrogens under the European Water Framework Directive." *Trends in Analytical Chemistry*, 10.1016/j.trac.2018.02.008.

Kortenkamp, A. (2007). "Ten years of mixing cocktails: A review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals." *Environ Health Perspect*, 10.1289/ehp.9357, 98–105.

Kosmehl, T., Krebs, F., Manz, W., Erdinger, L., Braunbeck, T., und Hollert, H. (2004). "Comparative genotoxicity testing of rhine river sediment extracts using the comet assay with permanent fish cell lines (rtg-2 and rtl-w1) and the ames test*." *J Soils & Sediments*, 10.1007/BF02991050, 84–94.

Kumar, A., Kesari, V. P., und Khan, P. K. (2013). "Fish micronucleus assay to assess genotoxic potential of arsenic at its guideline exposure in aquatic environment." *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 10.1007/s10534-013-9620-8, 337–346.

Kunz, P. Y., Simon, E., Creusot, N., Jayasinghe, B. S., Kienle, C., Maletz, S., Schifferli, A., Schönlau, C., Aït-Aïssa, S., Denslow, N. D., Hollert, H., Werner, I., und Vermeirssen, E. L. M. (2017). "Effect-based tools for monitoring estrogenic mixtures: Evaluation of five in vitro bioassays." *Water research*, 10.1016/j.watres.2016.10.062, 378–388.

Kusk, K. O., Krüger, T., Long, M., Taxvig, C., Lykkesfeldt, A. E., Frederiksen, H., Andersson, A.-M., Andersen, H. R., Hansen, K. M. S., Nellemann, C., und Bonefeld-Jørgensen, E. C. (2011). "Endocrine potency of wastewater: Contents of endocrine disrupting chemicals and effects meas-

ured by in vivo and in vitro assays." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1002/etc.385, 413–426.

Lahnsteiner, F. (2008). "The sensitivity and reproducibility of the zebrafish (Danio rerio) embryo test for the screening of waste water quality and for testing the toxicity of chemicals." *Alternatives to laboratory animals : ATLA*, 36(3), 299–311 (eng).

LANUV (2017a). *MaBS: Makrophytenbasiertes Bewertungssystem für Fließgewässer*, LANUV.

LANUV (2017b). *NRW-Verfahren zur Bewertung von Fließgewässern mit Makrophyten - Fortschreibung und Metrifizierung: Arbeitsblätter*.

Lee, Y., Gerrity, D., Lee, M., Bogeat, A. E., Salhi, E., Gamage, S., Trenholm, R. A., Wert, E. C., Snyder, S. A., und Gunten, U. von (2013). "Prediction of Micropollutant Elimination during Ozonation of Municipal Wastewater Effluents: Use of Kinetic and Water Specific Information." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es400781r, 5872–5881.

Lege, S., Guillet, G., Merel, S., Yanez Heras, J. E., und Zwiener, C. (2017). "Denatonium - A so far unrecognized but ubiquitous water contaminant?" *Water research*, 10.1016/j.watres.2017.01.056, 254–260.

Leusch, F. D. L., Jager, C. de, Levi, Y., Lim, R., Puijker, L., Sacher, F., Tremblay, L. A., Wilson, V. S., und Chapman, H. F. (2010). "Comparison of five in vitro bioassays to measure estrogenic activity in environmental waters." *Environmental science & technology*, 10.1021/es903899d, 3853–3860.

Leusch, F.D.L. (2008). *Tools to Detect Estrogenic Activity in Environmental Waters,* CRC Water Quality and Treatment.

LFU (2015). *PHYLIB 5.3-DV-Tool: Software zur Bewertung von Makrophyten & Phytobenthos in Fließgewässern und Seen*, Entwickelt im Auftrag der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser - LAWA.

Li, W.-T., Cao, M.-J., Young, T., Ruffino, B., Dodd, M., Li, A.-M., und Korshin, G. (2017). "Application of UV absorbance and fluorescence indicators to assess the formation of biodegradable dissolved organic carbon and bromate during ozonation." *Water research*, 10.1016/j.watres.2017.01.009, 154–162.

Lin, T., Wu, S., und Chen, W. (2014). "Formation potentials of bromate and brominated disinfection by-products in bromide-containing water by ozonation." *Environmental science and pollution research international*, 10.1007/s11356-014-3329-2, 13987–14003.

Liney, K. E., Hagger, J. A., Tyler, C. R., Depledge, M. H., Galloway, T. S., und Jobling, S. (2005). "Health Effects in Fish of Long-Term Exposure to Effluents from Wastewater Treatment Works." *Environ Health Perspect*, 10.1289/ehp.8058, 81–89.

Lüddeke, F., Heß, S., Gallert, C., Winter, J., Güde, H., und Löffler, H. (2015). "Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques." *Water research*, 10.1016/j.watres.2014.11.018, 243–251.

Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Liang, S., und Wang, X. C. (2014). "A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment." *Science of The Total Environment*, 10.1016/j.scitotenv.2013.12.065, 619–641.

Magdeburg, A., Stalter, D., Schlüsener, M., Ternes, T., und Oehlmann, J. (2014). "Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story." *Water research*, 10.1016/j.watres.2013.11.041, 35–47.

Maier, D., Blaha, L., Giesy, J. P., Henneberg, A., Köhler, H.-R., Kuch, B., Osterauer, R., Peschke, K., Richter, D., Scheurer, M., und Triebskorn, R. (2015). "Biological plausibility as a tool to associate analytical data for micropollutants and effect potentials in wastewater, surface water, and sediments with effects in fishes." *Water research*, 10.1016/j.watres.2014.08.050, 127–144.

Maletz, S., Floehr, T., Beier, S., Klümper, C., Brouwer, A., Behnisch, P., Higley, E., Giesy, J. P., Hecker, M., Gebhardt, W., Linnemann, V., Pinnekamp, J., und Hollert, H. (2013). "In vitro characterization of the effectiveness of enhanced sewage treatment processes to eliminate endocrine activity of hospital effluents." *Water research*, 10.1016/j.watres.2012.12.008, 1545–1557.

Maltby, L. (1999). "STUDYING STRESS: THE IMPORTANCE OF ORGANISM-LEVEL RESPONSES." *Ecological Applications*, 10.1890/1051-0761(1999)009[0431:SSTIOO]2.0.CO;2, 431–440.

Martinez, J. L. (2009). "Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2009.05.051, 2893–2902.

Meier, C., Haase, P., Rolauffs, P., Schindehütte, K., Schöll, F., Sundermann, A., und Hering, D. (2006). *Methodisches Handbuch Fließgewässerbewertung: Handbuch zur Untersuchung und Bewertung von Fließgewässern auf der Basis des Makrozoobenthos vor dem Hintergrund der EG-Wasserrahmenrichtlinie*.

Mertsch, V. (2014). "Mikroschadstoffe aus kommunalem Abwasser: Konzeption Nordrhein-Westfalen." *Wasser und Abfall*, (11).

MKULNV (2014). *Entwicklung und Stand der Abwasserbeseitigung in NRW 2014: Langfassung des Berichts mit ergänzender flußgebietsbezogener Darstellung der Abwasseranlagen und ihrer Einleitungen,* Kapitel 12.3.2: Teileinzugsgebiet Maas-Süd <https://www.lanuv.nrw.de/umwelt/wasser/abwasser/lagebericht/>.

Morper, M. R. (1994). "Upgrading of activated sludge systems for nitrogen removal by application of the Linpor-CN process." *Water Science & Technology*, (29 (12)), 167–176.

Murk, A. J., Legler, J., van Lipzig, M. M. H., Meerman, J. H. N., Belfroid, A. C., Spenkelink, A., van der Burg, B., Rijs, G. B. J., und Vethaak, D. (2002). "Detection of estrogenic potency in wastewater and surface water with three in vitro bioassays." *Environmental toxicology and chemistry*, 21(1), 16–23 (eng).

Nanaboina, V., und Korshin, G. V. (2010). "Evolution of absorbance spectra of ozonated wastewater and its relationship with the degradation of trace-level organic species." *Environmental science & technology*, 10.1021/es1005175, 6130–6137.

Nash, J. P., Kime, D. E., van der Ven, L. T. M., Wester, P. W., Brion, F., Maack, G., Stahlschmidt-Allner, P., und Tyler, C. R. (2004). "Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish." *Environ Health Perspect*, 10.1289/ehp.7209, 1725–1733.

Neale, P. A., Munz, N. A., Aït-Aïssa, S., Altenburger, R., Brion, F., Busch, W., Escher, B. I., Hilscherová, K., Kienle, C., Novák, J., Seiler, T.-B., Shao, Y., Stamm, C., und Hollender, J. (2017). *Integrating chemical analysis and bioanalysis to evaluate the contribution of wastewater effluent on the micropollutant burden in small streams*.

Nilsson, L. M. (1974). "Energy Budget of a Laboratory Population of Gammarus pulex (Amphipoda)." *Oikos*, 10.2307/3543543, 35.

Nöthe, T., Fahlenkamp, H., und Sonntag, C. v. (2009). "Ozonation of Wastewater: Rate of Ozone Consumption and Hydroxyl Radical Yield." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es900825f, 5990–5995.

Nyman, A.-M., Hintermeister, A., Schirmer, K., und Ashauer, R. (2013). "The insecticide imidacloprid causes mortality of the freshwater amphipod Gammarus pulex by interfering with feeding behavior." *PloS one*, 10.1371/journal.pone.0062472, e62472.

Oaks, J. L., Gilbert, M., Virani, M. Z., Watson, R. T., Meteyer, C. U., Rideout, B. A., Shivaprasad, H. L., Ahmed, S., Chaudhry, M. J. I., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., und Khan, A. A. (2004). "Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan." *Nature*, 10.1038/nature02317, 630–633.

Oberg, C. (1995). *Desinfektion von biologisch gereinigtem Abwasser mit UV-Licht und Ozon und ihre Nebenwirkungen. Dissertation. Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Witten/Herdecke.*

OECD No. 242 (2016). *Test No. 242: Potamopyrgus antipodarum Reproduction Test*, OECD Publishing.

OECD No. 456 (2011). *Test No. 456: H295R Steroidogenesis Assay*, OECD Publishing, Paris.

OECD No. 487 (2010). *Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test*, OECD Publishing.

Ohe, T., Watanabe, T., und Wakabayashi, K. (2004). "Mutagens in surface waters: A review." *Mutation research*, 10.1016/j.mrrev.2004.08.003., 109–149.

Ohlsen, K., Ternes, T., Werner, G., Wallner, U., Löffler, D., Ziebuhr, W., Witte, W., und Hacker, J. (2003). "Impact of antibiotics on conjugational resistance gene transfer in Staphylococcus aureus in sewage." *Environmental microbiology*, 5(8), 711–716 (eng).

Ökotoxzentrum. (2017). "Proposals for Acute and Chronic Quality Standards." <http://www.ecotoxcentre.ch/expert-service/quality-standards/proposals-for-acute-and-chronic-quality-standards/>.

Olivares, A., van Drooge, B. L., Casado, M., Prats, E., Serra, M., van der Ven, L. T., Kamstra, J. H., Hamers, T., Hermsen, S., Grimalt, J. O., und Piña, B. (2013). "Developmental effects of aerosols and coal burning particles in zebrafish embryos." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2013.02.026, 72–79.

Orrego, R., Burgos, A., Moraga-Cid, G., Inzunza, B., Gonzalez, M., Valenzuela, A., Barra, R., und Gavilán, J. F. (2006). "EFFECTS OF PULP AND PAPER MILL DISCHARGES ON CAGED RAINBOW TROUT (ONCORHYNCHUS MYKISS): BIOMARKER RESPONSES ALONG A POLLUTION GRADIENT IN THE BIOBIO RIVER, CHILE." *Environmental toxicology and chemistry*, 10.1897/05-385R.1, 2280.

Overath, H., Merkel, W., und Hiekel, S. (2000). *Einleitungen von Kläranlagenabläufen in kleine Fließgewässer: Bewertung der Ablaufqualität nach der EG-Badegewässerrichtlinie: Abschlussbericht*.

Palermo, F. F., Risso, W. E., Simonato, J. D., und Martinez, C. B. R. (2015). "Bioaccumulation of nickel and its biochemical and genotoxic effects on juveniles of the neotropical fish Prochilodus lineatus." *Ecotoxicology and environmental safety*, 10.1016/j.ecoenv.2015.02.032, 19–28.

Paraskeva, P., und Graham, N. J. D. (2002). "Ozonation of Municipal Waste water Effluents: STATE-OF-THE-ART REVIEW." *Water Environmental Research*, (74) (en).

Pasquini, L., Munoz, J.-F., Pons, M.-N., Yvon, J., Dauchy, X., France, X., Le, N. D., France-Lanord, C., und Görner, T. (2014). "Occurrence of eight household micropollutants in urban wastewater and their fate in a wastewater treatment plant. Statistical evaluation." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2014.02.075, 459–468.

Peña, A., Rodríguez-Liébana, J. A., und Mingorance, M. D. (2011). "Persistence of two neonicotinoid insecticides in wastewater, and in aqueous solutions of surfactants and dissolved organic matter." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2011.03.039, 464–470.

Peschke, K., Burmester, J., Hermann, M., Köhler, H.-R., Reitter, K., Scheurer, M., Wurm, K., und Triebskorn, R. (2016). "Reaktionen von Flohkrebsen und Makrozoobenthos auf die Nachrüstung einer Kläranlage mit einer Pulveraktivkohlestufe." *gwf - Wasser | Abwasser*, 04(157 (4)).

Peschke, K., Geburzi, J., Köhler, H.-R., Wurm, K., und Triebskorn, R. (2014). "Invertebrates as indicators for chemical stress in sewage-influenced stream systems: toxic and endocrine effects in gammarids and reactions at the community level in two tributaries of Lake Constance, Schussen and Argen." *Ecotoxicology and environmental safety*, 10.1016/j.ecoenv.2014.04.011, 115–125.

Pillon, A., Boussioux, A.-M., Escande, A., Aït-Aïssa, S., Gomez, E., Fenet, H., Ruff, M., Moras, D., Vignon, F., Duchesne, M.-J., Casellas, C., Nicolas, J.-C., und Balaguer, P. (2004). "Binding of Estrogenic Compounds to Recombinant Estrogen Receptor-α: Application to Environmental Analysis." *Environ Health Perspect*, 10.1289/ehp.7522, 278–284.

pills. (2011). "Pharmaceutical Input and Elimination from Local Sources." <http://www.pills-project.eu/content/136/documents/Summary_de.pdf> (Feb. 26, 2018).

Pinkernell, U., und Gunten, U. von (2001a). "Bromate Minimization during Ozonation: Mechanistic Considerations." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es001502f, 2525–2531.

Pinkernell, U., und Gunten, U. von (2001b). "Bromate Minimization during Ozonation: Mechanistic Considerations." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es001502f, 2525–2531.

Pinnekamp, J., Letzel, M., und Palmowski, L. (2015). "RiSKWa-Leitfaden Begriffe und Definitionen zu ausgewählten Technologien zur Elimination von Spurenstoffen und Krankheitserregern aus Abwasser." *RiSKWa* (de).

Plosz, B. G., Leknes, H., Liltved, H., und Thomas, K. V. (2010). "Diurnal variations in the occurrence and the fate of hormones and antibiotics in activated sludge wastewater treatment in Oslo, Norway." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2010.01.042, 1915–1924.

Plósz, B. G., Leknes, H., und Thomas, K. V. (2010). "Impacts of Competitive Inhibition, Parent Compound Formation and Partitioning Behavior on the Removal of Antibiotics in Municipal Wastewater Treatment." *Environ. Sci. Technol.*, 10.1021/es902264w, 734–742.

Popp, W. (2002). "Bakteriologisch-hygienisches Untersuchungsprogramm "Obere Isar"." *Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie*, (55), 61–78.

Price, J. R., Ledford, S. H., Ryan, M. O., Toran, L., und Sales, C. M. (2017). "Wastewater treatment plant effluent introduces recoverable shifts in microbial community composition in receiving streams." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2017.09.162, 1104–1116.

Reifferscheid, G., und Grummt, T. (2000). "Genotoxicity in German Surface Waters — Results of a Collaborative Study." *Environmental Challenges,* S. Belkin, ed., Springer Netherlands, Dordrecht, 67–79.

Reifferscheid, G., Maes, H. M., Allner, B., Badurova, J., Belkin, S., Bluhm, K., Brauer, F., Bressling, J., Domeneghetti, S., Elad, T., Flückiger-Isler, S., Grummt, H. J., Gürtler, R., Hecht, A., Heringa, M. B., Hollert, H., Huber, S., Kramer, M., Magdeburg, A., Ratte, H. T., Sauerborn-Klobucar, R., Sokolowski, A., Soldan, P., Smital, T., Stalter, D., Venier, P., Ziemann, C., Zipperle, J., und Buchinger, S. (2012). "International round-robin study on the Ames fluctuation test." *Environmental and molecular mutagenesis*, 10.1002/em.21677, 185–197.

Reifferscheid, G., Ziemann, C., Fieblinger, D., Dill, F., Gminski, R., Grummt, H.-J., Hafner, C., Hollert, H., Kunz, S., Rodrigo, G., Stopper, H., und Selke, D. (2008). "Measurement of genotoxicity in wastewater samples with the in vitro micronucleus test: Results of a round-robin study in the context of standardisation according to ISO." *Mutation research*, 10.1016/j.mrgentox.2007.07.015, 15–27.

RiSKWa (2016). *RiSKWa Praxishandbuch: Erschienen im November 2016 zum Abschluss der BMBF-Fördermaßnahme RiSKWa,* Gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF). Förderkennzeichen: 02WRS1271, Frankfurt am Main.

RiSKWa. (2018). "Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Krankheitserregern im Wasserkreislauf." <http://www.bmbf.riskwa.de/> (Feb. 23, 2018).

Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M. C., Michael, I., und Fatta-Kassinos, D. (2013). "Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2013.01.032, 345–360.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J. A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M. J., Agüera, A., und Fernández-Alba, A. R. (2010). "Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation." *Water research*, 10.1016/j.watres.2009.07.004, 578–588.

Rott, E., G., Pfister, van Dam, H., und PIPP, E. (1999). *Indikationslisten für Aufwuchsalgen in österreichischen Fließgewässern: Teil2: Trophieindikation sowie geochemische Präferenz; Taxonomische und toxikologische Anmerkungen*, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.

Rott, E., Hofmann, G., Pfister, P., und PIPP, E. (1997). *Indikationslisten für Aufwuchsalgen in österreichischen Fließgewässern: Teil 1: Saprobielle Indikation*, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.

Routledge, E. J., und Sumpter, J. P. (1996). "Estrogenic activity of surfactants and some of their degrada-tion products assessed using a recombinant yeast screen." *Environmental toxicology and chemistry*, (15), 241–248.

Rüden, H. W. C., und Edmond, M. (1998). "Vancomycin-resistente Enterokokken: Epidemiologie, Risikofaktoren und Prävention." *Deutsches Ärzteblatt*, (95 (25)), A-1604 / B-1375 / C-1278.

Sanders, C. C., und Sanders W. E. (1992). "β-Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Global Trends and Clinical Impact." *Clinical Infectious Diseases*, (15 (5)), 824–839.

Savoye, P., Janex, M. L., und Lazarova, V. (2001). "Wastewater disinfection by low-pressure UV and ozone: a design approach based on water quality." *Water Science & Technology*, (43.10), 163–171 (en).

Schaar, H., Clara, M., Gans, O., und Kreuzinger, N. (2010). "Micropollutant removal during biological wastewater treatment and a subsequent ozonation step." *Environmental Pollution*, 10.1016/j.envpol.2009.12.038, 1399–1404.

Schaar, H., Kreuzinger, N., Knasmüller, S., Ferk, F., Mišik, M., Sommer, R., Schürhagl, R., Grillitsch, B., Altmann, D., Möstl, E., und Bartel, C. D. (2011). *Endbericht zum Forschungsvorhaben "KomOzon - Technische Umsetzung und Implementierungeiner Ozonungsstufe für nach dem Stand der Technik gereinigtes kommunales Abwasser. Heranführung an den Stand der Technik.“*.

Schaar, H., Sommer, R., Schürhagel, R., Yillia, P., und Kreuzinger, N. (2013). "Microorganism inactivation by an ozonation step optimized for micropollutant removal from tertiary effluent." *Water Science & Technology*, (68.2), 311–318 (en).

Schachtler, M., und Hubaux, N. (2016). "BEAR: Innovative Regel-Strategie der Ozonung." *Aqua & Gas*, (Nr. 5) (da).

Schäfer, R. B., Kühn, B., Malaj, E., König, A., und Gergs, R. (2016). "Contribution of organic toxicants to multiple stress in river ecosystems." *Freshw Biol*, 10.1111/fwb.12811, 2116–2128.

Schaumburg, J., Schranz, C., Stelzer, D., Vogel, A., und Gutowski, A. (2012). *Verfahrensanleitung für die ökologische Bewertung von Fließgewässern zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie: Makrophyten und Phytobenthos: Phylib,* Version 13.08.2012.

Schiwy, S., Bräunig, J., Alert, H., Hollert, H., und Keiter, S. H. (2015). "A novel contact assay for testing aryl hydrocarbon receptor (AhR)-mediated toxicity of chemicals and whole sediments in zebrafish (Danio rerio) embryos." *Environmental science and pollution research international*, 10.1007/s11356-014-3185-0, 16305–16318.

Schmidt, T. C., Kowal, S., Börgers, A., Dopp, E., Erger, C., Gebhardt, W., Gehrmann, L., Hammers-Wirtz, M., Herbst, H., Kasper-Sonnenberg, M., Linnemann, V., Lutze, H., Lyko, S., Magdeburg, A., Maus, C., Portner, C., Richard, J., und Türk, J. (2014). *Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben „Metabolitenbildung beim Einsatz von Ozon – Phase 2: gerichtet an das Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV),* AZ IV-7-042 600 001J, Vergabenummer 08/058.1.

Schmitz, R. P.H., Eisenträger, A., und Dott, W. (1998). "Miniaturized kinetic growth inhibition assays with Vibrio fischeri and Pseudomonas putida (application, validation and comparison)." *Journal of Microbiological Methods*, 10.1016/S0167-7012(97)00098-5, 159–166.

Schumacher, J. (2006). *Ozonung zur weitergehenden Aufbereitung kommnunaler Kläranlagenabläufe: Disseratation*, Berlin (Jan. 2, 2015).

Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., und Negele, R. D. (2004). "Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout." *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 10.1016/j.aquatox.2004.03.014, 141–150.

Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., und Obst, U. (2003). "Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms." *FEMS microbiology ecology*, 10.1111/j.1574-6941.2003.tb01073.x, 325–335.

Shannon, C. E., und Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*, Urbana: University of Illinois Press, 1963, ©1949.

Siddiqui, M., und Amy, G. (1995). "Strategies for removing bromate from drinking water." *prepared for: California Urban Water Agencies* (en).

Sieratowicz, A., Stange, D., Schulte-Oehlmann, U., und Oehlmann, J. (2011). "Reproductive toxicity of bisphenol A and cadmium in Potamopyrgus antipodarum and modulation of bisphenol A effects by different test temperature." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2011.05.012, 2766–2774.

SigmaPlot (2014). *SigmaPlot: Wissenschaftliche Graphik- und Statistiksoftware*, Systat Software GmbH.

Solbach, W. (2013). *Antibiotika-Wirkspektrum unter Berücksichtigung der Resistenzlage (Stand 2013)*.

Soltermann, F., Abegglen, C., Tschui, M., Stahel, S., und Gunten, U. von (2017). "Options and limitations for bromate control during ozonation of wastewater." *Water research*, 10.1016/j.watres.2017.02.026, 76–85.

Song, R., Minear, R., Westerhoff, P., und Amy, G. (1996). "Bromate Formation and Control During Water Ozonation." *Environmental Technology*, 10.1080/09593331708616454, 861–868.

Sonntag, C. von, und Gunten, U. von (2012). *Chemistry of ozone in water and wastewater treatment* (Feb. 17, 2015).

Stalter, D., Magdeburg, A., und Oehlmann, J. (2010). "Comparative toxicity assessment of ozone and activated carbon treated sewage effluents using an in vivo test battery." *Water research*, 10.1016/j.watres.2010.01.023, 2610–2620.

Stalter, D., Magdeburg, A., Quednow, K., Botzat, A., und Oehlmann, J. (2013). "Do contaminants originating from state-of-the-art treated wastewater impact the ecological quality of surface waters?" *PloS one*, 10.1371/journal.pone.0060616, e60616.

Stamm, C., Burdon, F., Fischer, S., Kienle, C., Munz, N., Tlili, A., Altermatt, F., Behra, R., Bürgmann, H., Joss, A., Räsänen, K., und Eggen, R. (2017). "Einfluss von Mikroverunreinigungen. Lebensgemeinschaften in Fliessgewässern - Ergebnisse aus dem Projekt EcoImpact." *Aqua & Gas*, (6), 90–95.

Stange, D., Sieratowicz, A., Horres, R., und Oehlmann, J. (2012). "Freshwater mudsnail (Potamopyrgus antipodarum) estrogen receptor: Identification and expression analysis under exposure to (xeno-)hormones." *Ecotoxicology and environmental safety*, 10.1016/j.ecoenv.2011.09.003, 94–101.

Strecker, R., Seiler, T.-B., Hollert, H., und Braunbeck, T. (2011). "Oxygen requirements of zebrafish (Danio rerio) embryos in embryo toxicity tests with environmental samples." *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*, 10.1016/j.cbpc.2010.12.002, 318–327.

Sun, Q., Li, M., Ma, C., Chen, X., Xie, X., und Yu, C.-P. (2016). "Seasonal and spatial variations of PPCP occurrence, removal and mass loading in three wastewater treatment plants located in different urbanization areas in Xiamen, China." *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 10.1016/j.envpol.2015.10.003, 371–381.

Sundkvist, A. M., Olofsson, U., und Haglund, P. (2010). "Organophosphorus flame retardants and plasticizers in marine and fresh water biota and in human milk." *Journal of environmental monitoring : JEM*, 10.1039/b921910b, 943–951.

Swan, G. E., Cuthbert, R., Quevedo, M., Green, R. E., Pain, D. J., Bartels, P., Cunningham, A. A., Duncan, N., Meharg, A. A., Oaks, J. L., Parry-Jones, J., Shultz, S., Taggart, M. A., Verdoorn, G., und Wolter, K. (2006). "Toxicity of diclofenac to Gyps vultures." *Biology letters*, 10.1098/rsbl.2005.0425, 279–282.

Tang, J. Y. M., McCarty, S., Glenn, E., Neale, P. A., Warne, M. S. J., und Escher, B. I. (2013). "Mixture effects of organic micropollutants present in water: towards the development of effect-based water quality trigger values for baseline toxicity." *Water research*, 10.1016/j.watres.2013.03.011, 3300–3314.

Tauxe-Wuersch, A., Alencastro, L. F. de, Grandjean, D., und Tarradellas, J. (2005). "Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment." *Water research*, 10.1016/j.watres.2005.03.003, 1761–1772.

Ternes, T. A. (1998). "Occurence of Drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers." *Water research*, 32(11), 3245–3260 (en).

Ternes, T. A., Stüber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., und Teiser, B. (2003). "Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater?" *Water research*, 10.1016/S0043-1354(02)00570-5, 1976–1982.

Thellmann, P., Kuch, B., Wurm, K., Köhler, H.-R., und Triebskorn, R. (2017). "Water quality assessment in the "German River of the years 2014/2015": How a case study on the impact of a storm water sedimentation basin displayed impairment of fish health in the Argen River (Southern Germany)." *Environmental sciences Europe*, 10.1186/s12302-017-0108-y, 10.

Tobias, H., Richter, K. D., und Heinemeyer, E. A. (1993). *Auswirkungen einer Abwasserreinigung durch Filtrationsverfahren und UV-Entkeimung auf die hygienische Qualität des Abwassers und Basisuntersuchungen des Vorfluters Norder Tief: Bericht des Staatlichen Medizinaluntersuchungsamtes Aurich*.

Triebskorn, R., Blaha, L., Engesser, B., Güde, H., Henneberg, A., Hetzenauer, H., Köhler, H.-R., Kraais, S., Kuch, B., Maier, D., Oehlmann, J., Peschke, K., Rault, M., Rey, P., Richter, D., Sacher, F., Suchail, S., Thellmann, P., Weyhmüller, M., Wurm, K., und Vogel, H.-J. (2013). "SchussenAktiv - Eine Modellstudie zur Effizienz der Reduktion der Gehalte an anthropogenen Spurenstoffen durch Aktivkohle in Kläranlagen: Expositions- und Effektmonitoring vor Inbetriebnahme der Adsorptionsstufe auf der Kläranlage Langwiese des AZV Mariatal, Ravensburg." *Korrespondenz Wasserwirtschaft*, (8), 427–436.

Triebskorn, R., und Hetzenauer, H. (2012). "Mikroverunreinigungen in den drei Bodenseezuflussen Argen, Schussen und Seefelder Aach - eine Literaturstudie Micropollutants in three tributaries of Lake Constance, Argen, Schussen and Seefelder Aach: A literature review." *Environ Sci Eur*, 10.1186/2190-4715-24-8, 8.

Türk, J., Bielak, H., Behr, A., Dopp, E., Gehrmann, L., Itzel, F., Lyko, S., Simon, A., und Wagner, M. (2015). *Aktivität von östrogen und androgen aktiven Substanzen während und nach der Ozonung von Krankenhausabwasser,* gefördert durch das Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nord-rhein-Westfalen (MKULNV), LANUV NRW Az.: 17-04.02.01-04a/2013.

Tyrrell, S., Rippey, S. R., und Watkins, W. D. (1995). "Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone." *Water research*, 10.1016/0043-1354(95)00103-R, 2483–2490.

U.S. EPA. (1986). *Design Manual: Municipal Wastewater Disinfection. EPA Office of Research and Development. Cincinnati, Ohio. EPA/625/1-86/021.*

U.S. EPA. (1999). *Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual, USEPA, Office of Water, Washington DC, USA*.

Umweltbundesamt, ed. (2011). *Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln,* Im Auftrag des Umweltbundesamtes, Dessau-Roßlau.

van der Linden, S. C., Heringa, M. B., Man, H.-Y., Sonneveld, E., Puijker, L. M., Brouwer, A., und van der Burg, B. (2008). "Detection of multiple hormonal activities in wastewater effluents and surface water, using a panel of steroid receptor CALUX bioassays." *Environmental science & technology*, 42(15), 5814–5820 (eng).

van Leeuwen, S. P. J., und Boer, J. de (2008). "Brominated flame retardants in fish and shellfish - levels and contribution of fish consumption to dietary exposure of Dutch citizens to HBCD." *Molecular nutrition & food research*, 10.1002/mnfr.200700207, 194–203.

van Swelm, R. P. L., Laarakkers, C. M. M., Pertijs, J. C. L. M., Verweij, V., Masereeuw, R., und Russel, F. G. M. (2013). "Urinary proteomic profiling reveals diclofenac-induced renal injury and hepatic regeneration in mice." *Toxicology and applied pharmacology*, 10.1016/j.taap.2013.03.005, 141–149.

Vaz-Moreira, I., Nunes, O. C., und Manaia, C. M. (2014). "Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: Searching the links with the human microbiome." *FEMS microbiology reviews*, 10.1111/1574-6976.12062, 761–778.

Vieno, N., und Sillanpää, M. (2014). "Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant - a review." *Environment international*, 10.1016/j.envint.2014.03.021, 28–39.

Vieno, N., Tuhkanen, T., und Kronberg, L. (2007). "Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland." *Water research*, 10.1016/j.watres.2006.12.017, 1001–1012.

Vilanova, X., Manero, A., Cerda-Cuellar, M., und Blanch, A. R. (2002). "The effect of a sewage treatment plant effluent on the faecal coliforms and enterococci populations of the reception river waters." *J Appl Microbiol*, 10.1046/j.1365-2672.2002.01508.x, 210–214.

Wernersson, A.-S., Carere, M., Maggi, C., Tusil, P., Soldan, P., James, A., Sanchez, W., Dulio, V., Broeg, K., Reifferscheid, G., Buchinger, S., Maas, H., van der Grinten, E., O'Toole, S., Ausili, A., Manfra, L., Marziali, L., Polesello, S., Lacchetti, I., Mancini, L., Lilja, K., Linderoth, M., Lundeberg, T., Fjällborg, B., Porsbring, T., Larsson, D. J., Bengtsson-Palme, J., Förlin, L., Kienle, C., Kunz, P., Vermeirssen, E., Werner, I., Robinson, C. D., Lyons, B., Katsiadaki, I., Whalley, C., den Haan, K., Messiaen, M., Clayton, H., Lettieri, T., Carvalho, R. N., Gawlik, B. M., Hollert, H., Di Paolo, C., Brack, W., Kammann, U., und Kase, R. (2015). "The European technical report on

aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive." *Environ Sci Eur*, 10.1186/s12302-015-0039-4, 1.

Wert, E. C., Neemann, J. J., Johnson, D., Rexing, D., und Zegers, R. (2007). "Pilot-Scale and Full-Scale Evaluation of the Chlorine-Ammonia Process for Bromate Control During Ozonation." *Ozone: Science and Engineering*, (29), 363–372 (en).

Wert, E. C., Rosario-Ortiz, F. L., und Snyder, S. A. (2009). "Effect of ozone exposure on the oxidation of trace organic contaminants in wastewater." *Water research*, 10.1016/j.watres.2008.11.050, 1005–1014.

Whatley, A., und Cho, I. K. (2010). "Mutagenicity of Walnut Creek and Troy (Alabama) Wastewater Treatment Plant Influent and Effluent." *Southeastern Naturalist*, 10.1656/058.009.0308, 497–506.

Wiegel, S., Aulinger, A., Brockmeyer, R., Harms, H., Löffler, J., Reincke, H., Schmidt, R., Stachel, B., Tümpling, W. von, und Wanke, A. (2004). "Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2004.05.017, 107–126.

Wittmer, I. K., Scheidegger, R., Bader, H.-P., Singer, H., und Stamm, C. (2011). "Loss rates of urban biocides can exceed those of agricultural pesticides." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2010.11.031, 920–932.

Wuhrer. C (1995). *Die fäkale Belastung der Schussen und ihr Einfluss auf den mündungsnahen Flachwas-serbereich im Bodensee,* Dissertation, Landesamt für Umwelt, Baden-Württemberg.

WVER (2014a). *Detaillierter stofflicher Nachweis gemäß BWK M7 für die Obere und Untere Wurm,* Anlage A9, Düren.

WVER (2014b). *Detaillierter stofflicher Nachweis gemäß BWK M7 für die Wurm*, Düren.

Xu, P., Janex, M.-L., Savoye, P., Cockx, A., und Lazarova, V. (2002). "Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design." *Water research*, 10.1016/S0043-1354(01)00298-6, 1043–1055.

Yu, Y., Wu, L., und Chang, A. C. (2013). "Seasonal variation of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants." *The Science of the total environment*, 10.1016/j.scitotenv.2012.10.001, 310–316.

Zegura, B., Heath, E., Cernosa, A., und Filipic, M. (2009). "Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2009.02.041, 1453–1460.

Zhang, Y., Geissen, S.-U., und Gal, C. (2008). "Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies." *Chemosphere*, 10.1016/j.chemosphere.2008.07.086, 1151–1161.

Zhuang, Y., Ren, H., Geng, J., Zhang, Y., Zhang, Y., Ding, L., und Xu, K. (2015). "Inactivation of antibiotic resistance genes in municipal wastewater by chlorination, ultraviolet, and ozonation disinfection." *Environmental science and pollution research international*, 10.1007/s11356-014-3919-z, 7037–7044.

Zielke (2011). *Time-related alterations and other confounding factors in direct sediment contact tests,* Dissertation, RWTH Aachen University.

Zimmermann, S. G., Wittenwiler, M., Hollender, J., Krauss, M., Ort, C., Siegrist, H., und Gunten, U. von (2011a). "Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection." *Water research*, 10.1016/j.watres.2010.07.080, 605–617.

Zimmermann, S. G., Wittenwiler, M., Hollender, J., Krauss, M., Ort, C., Siegrist, H., und Gunten, U. von (2011b). "Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection." *Water research*, 10.1016/j.watres.2010.07.080, 605–617.

Zounkova, R., Jalova, V., Janisova, M., Ocelka, T., Jurcikova, J., Halirova, J., Giesy, J. P., und Hilscherova, K. (2014). "In situ effects of urban river pollution on the mudsnail Potamopyrgus antipodarum as part of an integrated assessment." *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 10.1016/j.aquatox.2014.02.021, 83–92.

8 Anlage

Tabelle 51: Verwendete Abkürzungen der Analytikdaten für die statistische Auswertung

Spurenstoffe - Pharmaka		Weitere Spurenstoffe		Standardparameter	
Parameter	Abkürzung	Parameter	Abkürzung	Parameter	Abkürzung
Acesulfam	ACE	***Endokrine Disruptoren***		**pH Wert**	pH
Aminoantipyrin	AAP	**Bisphenol A**	BPA	**AFS**	AFS
Atenolol	ATN	**Pflanzenschutzmittel**		**SAK 254 nm**	SAK254
Benzotriazol	BZT	**Diuron**	DIU	**SAK 436 nm**	SAK436
Bisoprolol	BIS	**Isoproturon**	IPRO	**TOC**	TOC
Candesartan	CAND	**Terbutryn**	TERB	**DOC**	DOC
Carbamazepin	CBZ	***Moschusverbindungen***		**TN_b**	TN
Clarithromycin	CLA	**Cashmeran (DPMI)**	DPMI	**NH_4-N**	NH4
Diclofenac	DCF	**Celestolid**	CEL	**NO_3-N***	NO3
Gabapentin	GAB	**Phantolid (AHMI)**	AHMI	**NO_2-N***	NO2
Ibuprofen	IBU	**Galaxolid (HHCB)**	HHCB	**N org.**	Norg
Metformin	MET	**Traseolid (ATII)**	ATII	**P ges.**	Pges
Methylbenzotriazol	MBTZ	**Musk xylene**	MXY	**Sulfat***	Sul
Metoprolol	METO	**Musk abrette**	MAB	**Bromid**	Br
N-Acetyl-Sulfamethoxazol	N-SMX	**Tonalid (AHTN)**	AHTN		
Naproxen	NAP	**Musk ketone**	MKE		
Sotalol	SOT	**Musk NN**	MNN		
Sulfamethoxazol	SMX	***Komplexbildner***			
Telmisartan	TEL	**EDTA**	EDTA		
Tramadol	TRAM				
Valsartan	VAL				

Tabelle 52: Verwendete Abkürzungen der Antibiotikaresistenzen für die statistische Auswertung

Mikroorganismen	Antibiotikum	Abkürzung
Enterokokken	Ampicillin	AR_E_Am
	Gentamycin	AR_E_Ge
	Clarithromycin	AR_E_Cl
	Vancomycin	AR_E_Va
Staphylokokken	Ampicillin	AR_S_Am
	Gentamycin	AR_S_Ge
	Clarithromycin	AR_S_Cl
	Vancomycin	AR_S_Va
Escherichia coli	Ampicillin	AR_Ec_Am
	Gentamycin	AR_Ec_Ge
	Sulfamethoxazol/Trimethoprim	AR_Ec_Su

Tabelle 53: Verwendete Abkürzungen und Endpunkte der biologischen Testsysteme, die in der multivariaten statistischen Analyse berücksichtigt wurden

Testsystem	Endpunkt	Abkürzung in Abbildungen
Ökotoxikologische *in vivo*-Testsysteme		
Daphnien-Immobilisationstest mit *Daphnia magna*	Anteil immobiler Daphnien nach 24h der Verdünnungsstufe G1	Daph
Akuter Leuchtbakterientest mit *Vibrio fischeri*	Hemmung der Lumineszenz [%] in der Verdünnungsstufe G1	LB-L
Chronischer Leuchtbakterientest mit *Vibrio fischeri* (Zellvermehrungshemmtest)	Wachstumshemmung [%] in der Verdünnungsstufe G1	LB-W
Algen-Wachstumshemmtest mit *Desmodesmus subspicatus*	Hemmung der Wachstumsrate [%] in der Verdünnungsstufe G1	Alge
Wachstumshemmtest mit *Lemna minor*	Hemmung der Wachstumsrate [%] bezogen auf die Frondzahl [FZ] bzw. auf die Frondfläche [FF]	LEM-FZ LEM-FF
Fischembryo-Toxizitätstest mit *Danio rerio*	%-Anteil Letalität nach 96h in der höchsten Konzentration für native Proben (n) und Extrakte (E)	FET-n FET-E
Zelltoxikologische Testsysteme		
Ames Fluktuations-Test (Mutagenität)	Prozentuale Mutation bei REF 8,3 aller vier Testansätze (Stamm TA 98, TA 100; +/- mit/ohne metabolische Aktivierung)	AMES98-/ AMES98+ AMES100-/ AMES100+
Mikrokerntest (OECD 487)	x-fache Änderung bezogen auf die Negativkontrolle; Testansätze mit und ohne metabolische Aktivierung	MKT- MKT+
ERα CALUX® Assay (Östrogen-Responsive Chemical-Activated Luciferase gene eXpression)	17β-Estradiol-Äquivalenzkonzentration EEQ (ng EE2/l)	ERCalux
Lyticase assisted Yeast Östrogen Screen (L-YES)	17β-Estradiol-Äquivalenzkonzentration EEQ (ng EE2/l)	YES

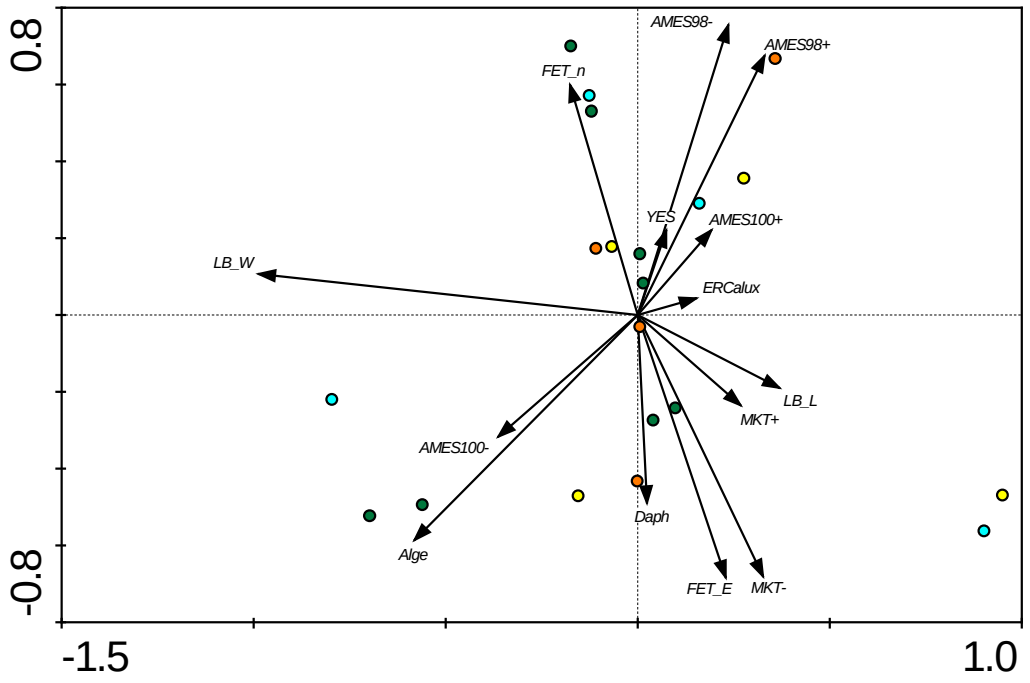

Abbildung 109: PCA auf Basis der Biotestdaten aus Phase 1a ohne Zulaufproben. Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Aachen-Soers an W2 und W3 grün; unterhalb an W5 cyan) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (AF, orange; ANK, gelb). Biotests als schwarze Pfeile. Eigenwert Achse 1: 0,522, Achse 2: 0,153. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 68 %.

Die Erläuterung der Abkürzungen aus Abbildung 109 sind in Tabelle 53 aufgeführt.

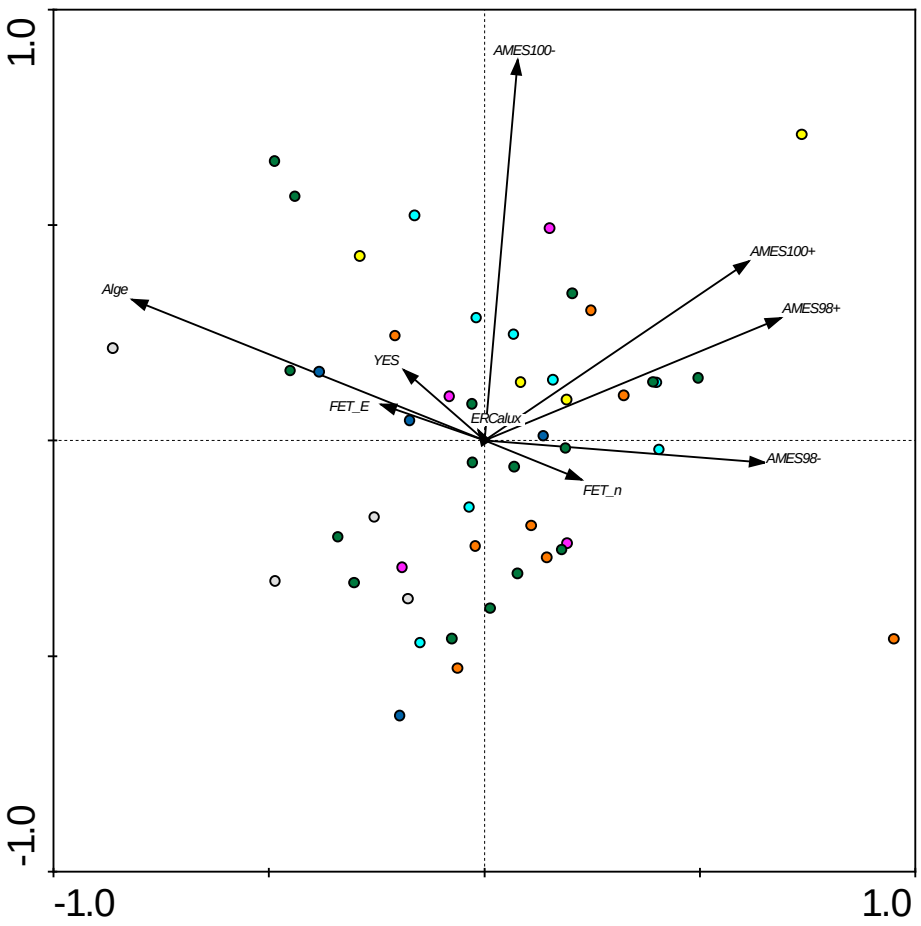

Abbildung 110: PCA auf Basis der Biotestdaten aus Phase 1a und 1b ohne Zulaufproben. Probestellen in der Wurm (oberhalb KA Aachen-Soers an W1 grau, an W2 und W3 grün; unterhalb an W5 cyan) und der Probestellen im Haarbach (oberhalb KA Eilendorf an H1 blau, unterhalb an H2 pink) sowie der Behandlungsstufen in der Kläranlage Aachen-Soers (AF, orange; ANK, gelb). Biotests (schwarze Pfeile). Eigenwert Achse 1: 0,302, Achse 2: 0,167. Anteil erklärter Varianz beider Achsen 47 %.

Die Erläuterung der Abkürzungen aus Abbildung 109 sind in Tabelle 53 aufgeführt.

8.1 Anlage 2

Die Anlage 2 – Machbarkeitsstudie Eilendorf – liegt diesem Abschlussbericht als separates Dokument bei.

8.2 Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten

Tabelle 54: Ermittelte Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten an verschiedenen Tagen für unterschiedliche Ozondosen und Abwässer

Ozondosis [mg/l]/ Zeit [s]	Ozondosis [mg/l]	DOC [mg/l]	z_{spez} [g_{Ozon}/g_{DOC}]	k_{obs} [1/s] (30 s - 240s)
15.07.2015	7,07	8,65	1,23	0,0052
	4,47	8,65	0,78	0,0088
17.07.2015	4,77	8,24	0,87	0,0065
	3,25	8,24	0,59	0,0091
	4,96	8,24	0,90	0,0063
27.07.2015	9,46	6,46	2,20	0,0023
	8,95	6,46	2,08	0,0023
	5,33	6,46	1,24	0,0031
	3,13	6,46	0,73	0,0071
03.08.2015	7,30	7,21	1,26	0,0044
	5,40	7,21	0,94	0,0063
	3,64	7,21	0,63	0,0111
07.08.2015	3,19	7,45	0,53	0,0094
	3,55	7,45	0,60	0,0117
	2,02	7,45	0,34	0,0238 *
17.09.2015	3,47	4,24	1,23	0,0057
	2,41	4,24	0,85	0,0090
22.09.2015	8,17	5,87	1,81	0,0066
	5,27	5,87	1,08	0,0122
14.10.2015	3,54	6,78	0,63	0,0103
06.11.2015	4,60	6,29	0,83	0,0073
	4,38	6,29	0,76	0,0087
20.11.2015	3,56	4,03	1,01	0,0118 *

*Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante am 07.08.2015 nur für die Zeit von 30 s < k_{obs} < 120 s mit c_{O3} = 2,02 mg/l und für den 20.11.2015 für die Zeit von 30 s < k_{obs} < 120 s, da Ozon nicht ausreichend lange in der Abwasserprobe vorlag.