

WIENER MITTEILUNGEN

WASSER • ABWASSER • GEWÄSSER

Aktuelle biologische Methoden und Verfahren in der Wassergütewirtschaft

Band 247 - Wien 2018

WIENER MITTEILUNGEN

WASSER • ABWASSER • GEWÄSSER

Band 247

Aktuelle biologische Methoden und Verfahren in der Wassergütwirtschaft

ÖWAV - Seminar - Wien 2018
TU Wien
27. - 28. Februar 2018

Herausgeber:
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Jörg Krampe
Ass.Prof. Mag. Dr. Norbert Kreuzinger
Technische Universität Wien
Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement
und Abfallwirtschaft

Veranstalter



Technische Universität Wien
Institut für Wassergüte und
Ressourcenmanagement

Karlsplatz 13 / 226
1040 Wien



zukunft
SEIT 1909
denken

Österreichischer
Wasser- und
Abfallwirtschaftsverband

Marc - Aurel - Straße 5
1010 Wien

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement
Karlsplatz 13/226; 1040 Wien
Tel.: + 43 1 58801 - 22611
Fax: + 43 1 58801 - 922611
E-Mail: iwag@iwag.tuwien.ac.at

Alle Rechte vorbehalten.

Ohne Genehmigung der Herausgeber ist es nicht gestattet,
das Buch oder Teile daraus zu veröffentlichen

© Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement, TU-Wien, 2018

Druck: Riegelnik
1080, Piaristengasse 19

ISSN 0279 - 5349
ISBN 978-3-85234-142-2

Inhaltsverzeichnis

Markus Wögerbauer Molekularbiologische Methoden in der Umweltforschung	1 - 16
Norbert Kreuzinger Beispiele der Anwendung molekularbiologischer Methoden für praktische Fragestellungen der Wassergütewirtschaft	17 - 30
Holger Daims Stickstoffkreisläufe in der Abwasserreinigung – neue und bewährte Wege	31 - 46
René Mayer et al. Analytik fäkaler Kontaminationen im Zeitalter der molekularbiologischen Diagnostik	47 - 54
Karin Deutsch, Gisela Ofenböck Methoden zur Bewertung des ökologischen Zustands	55 - 72
Cornelia Kienle, Etienne Vermeirssen, Inge Werner Ökotoxikologische Biotests zur Beurteilung der Wasser- und Abwasserqualität	73 - 90
Wilfried Pinther „Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung“ – Vorstellung der Neubearbeitung des Blauen Buches	91 - 102
Edith Nettmann, Marc Wichern Molekularbiologische Methoden in der Klärwerkspraxis	103 - 120
Andreas Unterweger Auswertungen mikroskopischer Belebtschlamm untersuchungen in Salzburg	121 - 134
Karl-Heinz Rosenwinkel, Ralph Zwafink Anwendung des neuen DWA-Arbeitsblattes A 131 zur Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen	135 - 148
Karl Svoldal, Thomas Baumgartner Variantenvergleich zum ein- oder zweistufigen Ausbau von Kläranlagen	149 - 162

Thomas Schalk, Matthias Barth, Volker Kühn Erfahrungsbericht zur Erweiterung der Kläranlage Dresden	163 - 196
Susanne Lackner Deammonifikation im Hauptstrom – Konzepte und Herausforderungen	197 - 212
Lydia Jahn, Karl Svardal, Jörg Krampe Abwasserreinigung mit aerob granuliertem Schlamm	213 - 232
Thomas Pümpel, Benjamin Bachmann, Bernhard Wett Deammonifikation im Nebenstrom: Das DEMON®-Verfahren aus mikrobiologischer Sicht	233 - 252
Vanessa Parravicini, Karl Svardal, Jörg Krampe Anwendung membranbelüfteter Biofilme zur Trübwasserbehandlung	253 - 270
Thomas Baumgartner et al. Vergleich von Verfahren der Trübwasserbehandlung	271 - 288

Molekularbiologische Methoden in der Umweltforschung

Markus Wögerbauer

Abteilung für Integrative Risikobewertung

Daten-Statistik-Risikobewertung

AGES – Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit

Spargelfeldstrasse 191, 1220 Wien

Abstrakt: Die Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen im klinischen und veterinärmedizinischen Bereich stellt eine globale Bedrohung der öffentlichen Gesundheit dar. Ein Großteil der Antibiotikaresistenzgene, die gegenwärtig häufig zum Therapieversagen in der Humanmedizin führen, stammt jedoch aus Umweltkeimen. Kläranlagen und landwirtschaftliche genutzte Böden haben sich als zentrale Sammelbecken und Hotspots für die Neubildung und Weiterverbreitung von Antibiotikaresistenzen erwiesen. Obwohl diese Ökosysteme eine konstante Quelle für potentiell klinisch relevante Antibiotikaresistenzgene darstellen, ist relativ wenig über deren Dynamik und die beteiligten Bakterienstämme in diesen kritischen Habitaten bekannt. Erfolge, die bei der Eindämmung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Tiermedizin oder in der Lebensmittelproduktionskette erreicht werden, sind durch den permanent möglichen Neueintrag von Antibiotikaresistenzgenen aus Umweltquellen latent gefährdet. Zur sinnvollen Durchführung einer Risikobewertung und einer Abschätzung der Gefahren für die Gesundheit von Mensch und Tier, die von diesen Umweltquellen ausgehen, ist eine genaue Kenntnis der natürlich vorkommenden Hintergrundbelastung und ein Monitoring von potentiell klinisch relevanten Resistenzgenen notwendig. Hierfür ist der Einsatz von modernen molekularbiologischen Methoden unabdingbar.

In diesem Kapitel werden jene Methoden vorgestellt, mit denen die bakterielle Biodiversität einer Probe aus einer Kläranlage oder aus anderen Umweltquellen wie landwirtschaftlich genutzten Böden in ihrer Gesamtheit erfasst und vorhandene Antibiotikaresistenzgene qualitativ und quantitativ detailliert charakterisiert werden können.

Key Words: Antibiotikaresistenz, Next Generation Sequencing, Metagenomik, Real-Time qPCR, DNA Array

1 Hintergrund

Antibiotikaresistente Pathogene stellen eine weltweite Gesundheitsgefahr dar (1, 2). Jährlich erkranken mehr als 400 000 Personen in Europa an multiresistenten Infektionskrankheiten, 25 000 Patienten sterben daran. Das verursacht 2,5 Millionen zusätzliche Krankenhausaufenthaltsstage und eine weitere Belastung des öffentlichen Gesundheitssystems von bis zu 1,5 Milliarden € pro Jahr (3). Interessanterweise stammt ein Großteil der gegenwärtig klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgene, die eine erfolgreiche Anwendung einer Antibiotikatherapie verhindern, aus Umweltbakterien (4). Landwirtschaftliche Nutzflächen und Kläranlagen wurden als wichtige Hotspots für die Aufnahme, Neubildung und Weiterverbreitung von Antibiotikaresistenzgenen identifiziert (5, 6). Böden und die verschiedenen Kompartimente in Kläranlagen stellen multifunktionelle Genaustausch-Plattformen dar, da sie eine optimale physikalische Matrix für den bi-direktionalen Transfer von Antibiotikaresistenzgenen zwischen menschlichen, tierischen, boden- und pflanzenassoziierten Bakterien bilden (7). Diese mikrobiellen Ökosysteme generieren eine effiziente Kontaktzone zwischen dem Resistom der Umwelt und menschlichen und tierischen Pathogenen (8). Ohne die Einleitung von Gegenmaßnahmen zur Eindämmung der Ausbreitung von Antibiotikaresistenzdeterminanten werden antibiotikaresistente Mikroorganismen kumulativ für 10 Millionen Todesfälle bis 2050 weltweit verantwortlich sein, was zu einer zusätzlichen Gesamtverlust der Weltwirtschaft von bis zu 100 Trillionen Dollar führen kann (9). Diese Beobachtungen haben dazu geführt, dass sich die Wissenschaft gerade in den letzten fünf bis zehn Jahren der Aufklärung von horizontalen Gentransferprozessen vor allem im Bereich der Abwasseraufbereitung und Wiederverwendung verstärkt zugewendet hat (10).

Von zentraler Bedeutung hierbei ist der Einsatz moderner molekularbiologischer Detektionsmethoden, die nicht nur Zusatzinformationen für die bereits jahrzehntelang vor allem in der Medizin erfolgreich eingesetzten Techniken zur Kultivierung von Bakterien bereitstellen, sondern die Daten für grundlegend neue Erkenntnisse liefern können (10). Da es sich bei der Gesamtheit der in Böden, Abwässern und anderen nicht-klinischen Ökosystemen anzutreffenden Resistenzen – dem Umweltresistom - um eine schier unerschöpfliche Menge an vorgeformten Resistenzgenen handelt, jedoch nur ein winziger Bruchteil davon je das Potential zur klinischen Relevanz entwickelt (1, 11-13), ist eine Risikobewertung der in den diversen Kompartimenten vorzufindenden Resistenzen bezüglich negativer Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier von zentraler Bedeutung. Die Ermittlung von kritischen

Kontrollpunkten, bei denen erfolgversprechend interferiert und Gegenmaßnahmen zur Eindämmung der Ausbreitung von klinisch relevanten Antibiotikaresistenzgenen aus Umweltquellen gesetzt werden können ist ein weiteres zentrales Ziel bei der Umsetzung nationaler und internationaler Antibiotikaresistenzkontrollpläne (14-16). Um Risikomanagern hier seriöse Unterstützung und vernünftige Handlungsempfehlungen anbieten zu könnten, sind detaillierte qualitative und quantitative Informationen über die sich im betroffenen Kompartiment befindenden Mikroorganismen und deren Resistenzdeterminanten unabdingbar. Die großen Fragen der mikrobiellen Ökologie wie „Wer befindet sich in der Probe?“ und „Was machen sie dort?“ können nur mit den in letzter Zeit immer besser zur Verfügung stehenden neuen molekulargenetischen Methoden wie „High-Throughput Sequencing“, „Whole Genome Sequencing“ und Metagenomik ausreichend aussagekräftig beantwortet werden (10).

In diesem Kapitel werden jene Methoden vorgestellt, mit denen die bakterielle Biodiversität einer Probe aus einer Kläranlage prinzipiell in ihrer Gesamtheit erfasst und vorhandene Antibiotikaresistenzgene qualitativ und quantitativ detailliert charakterisiert werden können.

2 Einleitung

Interaktionen und Dynamik von resistenten Bakterien und den dazugehörigen Antibiotikaresistenzgenen in städtischen Kläranlagen gelten gegenwärtig noch als relativ unerforscht (10). Zweifellos werden über geklärte Abwässer antibiotikaresistente Organismen und ARGs in die Umwelt freigesetzt. Obwohl die absolute Menge an Resistenzgenen im Effluent tendenziell abzunehmen scheint und somit unter Umständen weniger Resistenzgene in absoluten Zahlen die Kläranlage verlassen als ursprünglich im ungeklärten Zufluss vorhanden sind, weisen andere Ergebnisse darauf hin, dass im Klärprozess bezüglich der relativen Häufigkeit von Resistenzgenen (d.h. die Anzahl der ARG Kopien bezogen auf die Anzahl der in der Probe vorhandenen Kopien der 16S rRNA Gene) keine Reduktion oder sogar eine Erhöhung der Konzentrationen festzustellen ist. Diese Beobachtungen lassen es als notwendig erscheinen, die Zusammensetzung der Bakterienpopulationen im Zufluss genauer zu untersuchen und mit der bakteriellen Biodiversität im Abfluss von Kläranlagen zu vergleichen. Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass höchstwahrscheinlich selten vorkommende Spezies einen relativ hohen Beitrag zur gesamten Antibiotikaresistenzgenbelastung in Kläranlagen beitragen könnten (10).

Die primäre Intention der Etablierung von modernen Sanitär- und Abwasseraufbereitungsanlagen war ursprünglich die Eindämmung der Ausbreitung von Infektionskrankheiten in Bevölkerungszentren. Epidemiologische Daten zeigen, dass durch den Einsatz immer ausgeklügelterer Technologien über das vergangene Jahrhundert hinweg betrachtet dieses Ziel durchaus zu erreichen ist. Ironischerweise hat es jedoch den Anschein als ob kommunale Kläranlagen Epizentren für die Sammlung, Konzentration, Aufnahme, Neubildung und Verteilung von Antibiotikaresistenzen darstellen und damit die Ausbreitung einer neuen Epidemie - der Antibiotikaresistenzepidemie – befeuern würden. Zusätzlich ändert sich die Beschaffenheit des Abwassers durch eine Veränderung der Zusammensetzung mit mikrobiologischen und chemischen Kontaminanten sowohl im Tagesverlauf als auch über längere Zeiträume hinweg ständig, was für eine effiziente Abwasserbehandlung eine große Herausforderung darstellt. Erschwerend kommt hinzu, dass zu den lange bekannten Verunreinigungen vermehrt neue Kontaminanten im Abwasser auftauchen („contaminants of emerging concern“), zu denen Pharmazeutika - darunter auch Antibiotika - aber ebenso biologische Entitäten wie antibiotikaresistente Keime und Antibiotikaresistenzgene selbst zählen (10).

Alle diese Gründe erfordern ein besseres Verständnis der Wechselwirkungen zwischen antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen im Wasserkreislauf und machen ein konstantes Monitoring der Wasserqualität des Effluents einer Kläranlage notwendig, das nur mehr über den Einsatz moderner molekularbiologischer Methoden gewährleistet werden kann.

ARB und ARGs stellen in diesem Zusammenhang eine besonders große Herausforderung dar, da beide Einheiten in einem hoch dynamischen mikrobiellen Ökosystem miteinander interagieren. Neue Resistenzen entstehen kontinuierlich durch Mutation und Rekombination oder werden neu in das System eingebracht und können nahezu barriereelos unter den Mitgliedern der vorhandenen Bakterienpopulationen ausgetauscht werden. Ein besonderes Risiko für die Gesundheit von Mensch und Tier entsteht dadurch, dass in Kläranlagen - und nach Ausbringung von Klärschlamm als Dünger oder von geklärtem Abwasser zur Bewässerung - im Boden human- und tierpathogene Keime mit Umweltbakterien direkt in Kontakt gebracht werden, die im Kreislauf von Futter- und Lebensmittelproduktion oder direkt über Trinkwasser wieder auf Säugetiere übertragen werden können. Leider erfassen die zurzeit routinemäßig durchgeführten mikrobiologischen Monitoringmaßnahmen und die gesetzlichen Regelungen zur Reinigung und Freisetzung von Abwässern ARB oder ARGs nicht oder nur ungenügend. Städtische Kläranlagen waren

ursprünglich darauf hin ausgelegt, Fest- und Nährstoffe sowie Metalle und bekannte Industriekontaminanten dem Abwasser zu entziehen sowie die Gesamtbelastung mit Mikroorganismen zu reduzieren. Eine spezifische Entfernung von ARBs und ARG stand nie im Focus der Bemühungen, da es sich bei diesen zwei Entitäten um im mengenmäßigen Vergleich nebensächliche Kontaminanten handelt. Aufgrund der bereits vorliegenden Daten ist es jedoch hochwahrscheinlich, dass ARBs und ARGs in Abwässern eine wesentlich stärkere Auswirkung auf die Gesundheit von Mensch und Tier haben als im Vergleich zu den mengenmäßig darin häufiger vorkommenden Kontaminanten. Die zurzeit eingesetzten Technologien zur Aufbereitung von Abwasser sind bezüglich der Entfernung von ARB und ARGs bestenfalls als suboptimal zu bezeichnen. Es gibt Hinweise darauf, dass gerade die derzeit angewendeten Methoden zur biologischen Klärung, Desinfektion und weiter entwickelte Oxidationsprozesse antibiotikaresistente Bakterien selektieren und/oder die Vermehrung von robusten und intrinsisch gegen verschiedene chemische und physikalische Stressoren wie UV-Licht, Chlor und Schwermetalle resistenten Stämmen begünstigen. Zahlreiche Wissenslücken erschweren zurzeit ein globales Verständnis dieser Prozesse und machen sinnvolle Aussagen zum Risiko beziehungsweise die Ausarbeitung von Handlungsstrategien zur Minimierung desselben sehr schwierig. Diese Lücken können jedoch durch den konsequenten Einsatz von neuen molekularbiologischen Methoden in der Umweltforschung in Zukunft geschlossen werden.

3 Molekularbiologische Methoden in der Umweltforschung

Einige auf traditioneller Kultivierung beruhende Methoden sind gut standardisiert und liefern bis heute relativ verlässliche Daten über die Interaktionen von einzelnen Bakterienspecies in verschiedenen Abwasseraufbereitungsszenarien. Man muss jedoch immer beachten, dass derartig gewonnene Informationen mit inhärenten methodischen Verzerrungen und Limitierungen behaftet sind und zwar aus dem einfachen Grund, weil ein Großteil der in den untersuchten Milieus vorkommenden prokaryotischen Mikroorganismen im Labor nicht anzüchtbar ist. Im Gegensatz zur medizinischen Mikrobiologie, wo die Isolierung von einzelnen Bakterienspezies in Reinkultur lange Zeit ein Dogma bei der Identifikation von Auslösern für Infektionskrankheiten war, geht es in der mikrobiellen Ökologie vor allem darum, Informationen über die Interaktionen von zahlreichen verschiedenen Bakterienspezies, die miteinander in komplexen Mischkulturen in natürlichen Ökosystemen leben und metabolische Funktionsgruppen bilden, zu gewinnen.

Dies ist von besonderer Bedeutung, wenn man bedenkt, dass gezeigt werden konnte, dass Bakterien in Reinkultur gezüchtet unter Umständen einen anderen Phänotyp ausprägen als unter „natürlichen“ Wachstumsbedingungen in mikrobiellen Gemeinschaften. So zeigten von insgesamt 146 Umweltisolaten mehr als 60 davon erst dann antimikrobielle Aktivität, wenn sie mit konkurrierenden Bakterien in Interaktion treten konnten. Unbestreitbarer Vorteil von traditionellen Kultivierungstechniken ist nichtsdestotrotz die Möglichkeit der Isolierung von bis dato unbekanntem Mikroorganismen, die zur Produktion von neuen Antibiotika, zur Kontrolle von Pflanzenpathogenen oder zur biologischen Sanierung von kontaminierten Ökosystemen herangezogen werden können. Diese Anwendungen treten jedoch mehr und mehr in den Hintergrund und werden durch kultivierungsunabhängige Ansätze ersetzt, die das Potential dazu haben, die Limitierungen von kultivierungsabhängigen Methoden zu sprengen (10).

Im letzten Jahrzehnt haben sich vor allem High-Throughput Sequenzierungstechnologien und metagenomische Ansätze als Methoden der Wahl in der mikrobiellen Ökologie vermehrt etabliert. Sehr beliebt sind sequenzierungsbasierte Ansätze, mit deren Hilfe man einzelne Markergene wie zum Beispiel Antibiotikaresistenz- oder phylogenetisch interessante 16S rRNA Gene in mikrobiellen Gemeinschaften verfolgen kann. Eine andere Möglichkeit besteht darin mittels Shotgun Sequenzierung, das gesamte Metagenom der in der Probe vorhandenen Bakterienpopulationen zu erfassen.

3.1 Methoden zur Genquantifizierung in Umweltproben

3.1.1 Quantitative PCR

Mit Hilfe von quantitativen PCR (qPCR) Ansätzen ist es möglich, die Menge von ausgewählten Zielgenen in Umweltproben zu detektieren ohne auf Techniken zur Kultivierung von einzelnen Bakterienstämmen angewiesen zu sein (17). Als Methode der Wahl zur Quantifizierung von Genkopien in Umweltproben hat sich die quantitative Real-time PCR durchgesetzt. Sie beruht im Wesentlichen auf der Messung des Anstiegs eines Fluoreszenzsignals, das proportional zur während des PCR-Amplifikationszyklus gebildeten Menge an Ziel-DNA (= Amplikons) ist. Die emittierte Fluoreszenz wird während oder nach jedem Amplifikationszyklus im Thermocycler gemessen. Im Vergleich mit einer parallel im Lauf mitgeführten Standardkurve, die aus Samples mit einer bekannten Anzahl an Markergenkopien meistens in Form einer logarithmischen Verdünnungsreihe (z.B. 10, 100, 1000, 10 000 Kopien/Ansatz) generiert wird, kann die absolute Kopienanzahl des Markergens in der unbekanntem Umweltprobe ermittelt werden. Als Fluoreszenzquellen werden häufig DNA-

interkalierende Farbstoffe wie SYBR Green oder fluoreszenzmarkierte TaqMan Sonden verwendet. Als Amplifikationsmaterial kann die aus der Probe isolierte DNA oder aber auch RNA dienen. Letztere muss in einem gesonderten Schritt normalerweise via Reverse Transkriptase in DNA umgeschrieben werden bevor die interessierenden Zielgene oder Fragmente davon amplifiziert werden können. RNA wird dann als Ausgangsmolekül benötigt, wenn Informationen über die Expression eines bestimmten Gens eingeholt werden müssen. Der Einsatz von SYBR Green oder TaqMan-basierten Assays hat in beiden Fällen jeweils gesonderte Vor- und Nachteile. So ist der Einsatz von SYBR Green, das mehr oder weniger unspezifisch in doppelsträngiger DNA interkaliert und nur in diesem Zustand nach Exzitation fluoresziert, unter Umständen besser geeignet zur Detektion von bekannterweise hoch variablen Gene (10). Im Gegenzug dazu ist Multiplexing (d.h. die Detektion von mehreren Zielgenen in einem einzigen PCR-Ansatz) schwierig durchzuführen. Hierfür bieten sich besser TaqMan Sonden an, die mit unterschiedlichen Fluoreszenzmolekülen markiert sein können. Je nach eingesetztem PCR Gerät können von diesem Fluoreszenzsignal unterschiedlicher Wellenlänge gleichzeitig detektiert werden. Die Analysekosten sinken dadurch. Aufgrund der notwendigen Hybridisierung der TaqMan Sonde mit dem komplementären Abschnitt im Zielgen wird ein zusätzlicher Grad an Spezifität (zusätzlich zu den eingesetzten Primern) erreicht. Gleichzeitig wird eine relative Quantifizierung des Zielgens in derselben Probe möglich. Im TaqMan-system wird die intrinsische Exonuklease-Aktivität der hitzestabilen *Thermus aquaticus* (= Taq) Polymerase ausgenutzt, die im Amplifikationsschritt der PCR die an die Zielsequenz gebundene TaqMan Sonde von ihrem 5' Ende an abzubauen beginnt, und dabei das terminale mit einem Fluorophor markierte Nukleotid freisetzt. Durch die räumliche Trennung vom am 3' Ende der Sonde lokalisierten Quencher, der die Fluoreszenzemission des Fluorophors - solange sich beide im selben Sondenmolekül befinden – verhindert, emittiert nun der Fluorophor Licht proportional zur im PCR-Zyklus neu gebildeten DNA . Diese Fluoreszenzmenge wird vom PCR Gerät in jeder Amplifikationsrunde quantitativ erfasst. Via Softwarealgorithmen und den Vergleich mit einer mitgeführten Standardkurve kann auf die vorhandene Genkopienanzahl in der untersuchten Umweltprobe rückgeschlossen werden. Indem man die Anzahl der Zielgene auf die Anzahl gleichzeitig in der Probe vorkommender Haushaltsgene (wie zum Beispiel 16S rRNA) bezieht wird ein quantitativer Vergleich zwischen mehreren Umweltproben möglich, bei dem unterschiedliche DNA-Extraktionseffizienzen keine Rolle mehr spielen. Ein Problem kann jedoch entstehen, wenn sich die Zielregion der TagMan Sonde in einem variablen Sequenzabschnitt des gesuchten Gens befindet, dort nur

unzureichend bindet und so variable und/oder verfälschte quantitative Ergebnisse liefert.

In vielen Fällen sind in Umweltproben nur geringe Mengen an amplifizierbaren Nukleinsäuren vorhanden oder die Extraktion von hochreiner DNA ist nur unter Schwierigkeiten und mit hohen Aufreinigungsverlusten verbunden. Erschwert wird die Situation noch zusätzlich dadurch, dass das gesuchte Gen unter Umständen nur in äußerst geringer Kopienanzahl in der untersuchten Umweltprobe vorkommt, was bei einigen seltenen Antibiotika-resistenzgenklassen der Fall sein kann. Dieser Umstand führt dazu, dass mit einer standardmäßig durchgeführten quantitativen Real-time PCR das Detektionslimit unterschritten wird und das Gen nicht einmal qualitativ nachweisbar ist.

3.1.2 qPCR-basierte Ansätze in Kombination mit High-Throughput Sequenzierung

Eine High-Throughput Sequenzierung in Kombination mit einer PCR Amplifikation von interessanten Zielgenen erlaubt eine detaillierte Analyse der Variabilität von Markergenen in zahlreichen Proben gleichzeitig. Die DNA wird zu diesem Zweck direkt aus einer Umweltprobe isoliert, einer Markergenspezifischen PCR-Amplifikation zugeführt und anschließend in einem Multiplex-Verfahren sequenziert. Dieser Prozess ermöglicht kurze Bearbeitungszeiten, der Multiplexansatz senkt die Kosten pro Probe signifikant. Jeder der durchgeführten Schritte ist jedoch mit einem Proben-spezifischen Bias behaftet, der beim Design des Experiments und bei der anschließenden Datenanalyse und –auswertung mitbedacht werden muss. So kann es durch Reinigungs-, Konzentrierungs- und Probenfilterungsschritte zu einer ungewollten größenspezifischen Selektion von Bakterienzellen kommen, die die tatsächlich in der Probe vorkommenden Häufigkeiten der unterschiedlichen Bakterienspezies verschleiert. Die Reinheit der isolierten DNA kann aufgrund der komplexen Probenmatrix (vgl. Abwasser, Klärschlamm, landwirtschaftlich genutzter Boden etc.) schmerzlich variieren und mit nachgeschalteten Prozessen (z.B. während der PCR Amplifikation) negativ interferieren (10).

Es gibt Hinweise darauf, dass die Zusammensetzung der bakteriellen Biodiversität sogar vom eingesetzten DNA-Aufreinigungs-kit abhängen kann. Das hat zur Folge, dass ein- und dieselbe Umweltprobe je nach verwendetem Kit eine unterschiedliche Zusammensetzung der vorhandenen Bakterienpopulationen vorspiegelt. Die Markergenspezifische Primerkonstruktion und die zur Sequenzauswertung herangezogenen bioinformatischen Algorithmen und Datenbanken haben ebenfalls eine Auswirkung auf die Qualität der letztlich

erhaltenen Ergebnisse und müssen bei der Interpretation der Daten besonders genau bedacht werden.

3.1.3 High-Throughput (HT-) qPCR Arrays (17)

Neuentwickelte qPCR Array Technologien können die Engstellen, die bei der gleichzeitigen Bearbeitung von vielen Proben mit konventioneller qPCR entstehen, lösen. Mittels Array-Technology lassen sich hunderte Resistenzgene simultan in einem PCR Lauf identifizieren und quantifizieren. Es besteht auch die Möglichkeit gleichzeitig mobile genetische Elemente und speziesspezifische Informationen in Proben aus Kläranlagen oder anderen Umweltquellen zu erfassen. Zurzeit werden drei Systeme bevorzugt zur Quantifizierung von ARGs eingesetzt: 1. Der Fluidigm Access Array liefert quantitative Informationen zur ARG Häufigkeit in der Probe. Gleichzeitig werden Amplikons produziert, die über Barcoding rückverfolgbar und sofort in einem weiteren Prozessschritt sequenzierbar sind. Die PCR Reaktion läuft in einem Chip ab, der eine Kapazität für 2304 Reaktionen (48 ARGs x 48 Proben) aufweist. Assays und Primer können vom Anwender selbst ausgewählt werden. Das System wurde noch nicht für Abwasserproben getestet wurde aber erfolgreich für die Analyse von landwirtschaftlichen Proben herangezogen. 2. Der Antimicrobial Resistance Genes Microbial DNA qPCR Array von Qiagen enthält vorhybridisierte Primer für Antibiotikaresistenz- und Virulenzprimer im 96- oder 384-Well-Mikrotiterplattenformat. Für den Anwender ist eine Personalisierung mit einem Einsatz von anderen als den vorgegebenen Primern nicht möglich. 3. Das SmartChip Real-Time PCR von Wafergen Biosystems erlaubt jedoch den Einsatz von selbst konstruierten Primern. Die beiden letzten Systeme wurden bereits erfolgreich für das Studium von Antibiotikaresistenzgenhäufigkeiten in Umweltproben aus der Landwirtschaft, aus Kläranlagen, aufbereitetem Abwasser und künstlich bewässerten Ökosystemen eingesetzt.

3.1.4 Digitale PCR

Einen Ausweg aus dieser Situation bietet die digitale PCR, die eine weitere Senkung des Detektionslimits erlaubt. Zur Anwendung gelangen die gleichen Primer und Sonden wie bei einer standardmäßig durchgeführten Real-time PCR. Ein Vorteil der digitalen PCR ist jedoch, dass auf die Mitführung einer Standardkurve verzichtet werden kann, da die digitale PCR eine absolute Zählung der einzelnen im Assay vorhandenen Zielmoleküle ermöglicht. Der Verzicht auf Standardkurven verringert die Fehlerhäufigkeit und erhöht die Präzision und Reproduzierbarkeit der Anwendung. Die so ermittelten Ergebnisse können mit Daten aus anderen Laboren besser verglichen werden

und sind ein wichtiger Schritt in Richtung Standardisierung im Bereich der Testung von Umweltproben (10).

3.2 Next Generation Sequenzierung (NGS) (18)

Grundsätzlich beruht die NGS Technologie auf denselben Prinzipien, die bei einer konventionellen Sanger-Sequenzierung zur Anwendung gelangen: Eine DNA Polymerase katalysiert den Einbau von fluoreszenzmarkierten Nukleotiden in einen neu anhand der zu sequenzierenden Matrize gebildeten DNA-Strang in sequentiell hintereinander gereihten DNA Synthesezyklen. Während jedem Zyklus wird zum Zeitpunkt des Einbaus in den neu entstehenden DNA-Strang das inkorporierte Nukleotid anhand des spezifischen Fluorophors identifiziert. Der kritische Unterschied zur NGS-Technologie liegt darin, dass der geschilderte Prozess bei NGS nicht nur mit einem einzelnen zu sequenzierenden DNA Fragment durchgeführt wird, sondern in einem massiv parallelen Ansatz Millionen unterschiedliche DNA Fragmente gleichzeitig sequenziert werden. Prinzipiell sind folgende Arbeitsschritte zu absolvieren: 1. Isolierung von Nukleinsäuren (DNA/RNA). Empfehlenswert ist der Einsatz von kommerziell erhältlichen Kits hierfür, weil dadurch ein gewisses Maß an Standardisierung erreicht wird. 2. Herstellung von Sequenzierungsbibliotheken. In diesem Schritt wird zunächst die DNA oder cDNA an zufällig ausgewählten Stellen fragmentiert. Daran anschließend erfolgt das enzymatische Anhängen von Adaptorsequenzen am 5' und am 3' Ende jedes Fragments. Über diese Adaptoren werden die Fragmente via PCR amplifiziert und über Gelelektrophorese gereinigt. 3. Clustergenerierung. Die amplifizierten DNA Fragmente werden auf eine Flowcell geladen, wo sie mit dort fixierten Oligos über die Adaptersequenzen hybridisieren. Jedes einzelne Fragment wird daraufhin über eine sogenannte „Brücken-Amplifikation“ zu distinkten klonalen Clustern vermehrt. 4. Diese Cluster werden sequenziert. 5. Daten Analyse. Die erhaltenen Sequenzdaten durchlaufen mehrere qualitätssichernde Algorithmen bevor sie entweder direkt mit Referenzsequenzen aus Datenbanken annotiert oder zunächst zu größeren zusammenhängenden Sequenzabschnitten kompiliert werden („contig“-Bildung) bevor damit eine Genomanalyse und die Aufklärung der Funktion des sequenzierten DNA-Abschnittes erfolgt. Typische Analysen umfassen die Identifikation von Punktmutationen (SNP, „single nucleotide polymorphisms“) oder Insertions-/Deletionsmutanten, die Ermittlung der Anzahl der RNA Moleküle spezieller Gene bei Expressionsstudien, phylogenetische und metagenomische Studien. In Tabelle 1 werden die wichtigsten Rahmenparameter der zurzeit am häufigsten zur Ganzgenomsequenzierung eingesetzten Geräte dargestellt.

Tabelle 1. Vergleich unterschiedlicher NGS Plattformen (modifiziert (18, 19))

Plattform	Illumina MiSeq	Ion Torrent PGM	PacBio RS	Illumina HiSeq 2000
Kosten	128 000 \$	80 000 \$	695 000 \$	654 000 \$
Datenmenge pro Lauf	Bis zu 15 Gb	50 Mb – 1 GB	100 Mb	600 Gb
Sequenzierungskosten per Gb	502 \$	1000 \$	2000 \$	41 \$
Laufzeit	27 h	2 h	2 h	11 Tage
Genauigkeit	>Q30	Q20	Q10	>Q30
Unkorrigierte Fehlerrate	0,8%	1,71%	12,86%	0,26%
Sequenzierte Fragmentlänge	bis 300 nts	200 nts	1500 nts	300 nts
Paired End Reads	ja	ja	nein	Ja
Insertgröße	1500 bp	250 bp	Bis 10 kb	1500 bp
DNA Menge für Sequenzierung	50 – 1000 ng	100 – 1000 ng	1000 ng	50 – 1000 ng

3.2.1 Verbesserungen in der NGS Sequenzierungstechnologie (18)

Paired End Reads

Wurden ursprünglich die Fragmente nur von einer Seite ausgehend sequenziert, kam es durch die Einführung der sogenannten „Paired End“ Sequenzierung zu einer massiven Steigerung der Sequenzierungsqualität. Die sich überlappenden zwei für jedes Fragment erhaltenen Sequenzen werden miteinander verglichen. Mutationen können so viel exakter bestimmt und technische Artefakte ausgeschlossen werden, bevor die NGS Daten für eine Datenbankanalyse herangezogen werden. Außerdem können mit dieser Methode PCR Duplikate erkannt werden, die als Artefakte während der Herstellung der Sequenzierungsbibliotheken entstehen und bei der Datenanalyse mit der Auswertungssoftware negativ interferieren. Der häufig eingesetzte NGS-Plattformhersteller Illumina bietet Systeme zur Sequenzierung von 150 und 300 bp langen DNA Fragmenten im „Paired End“ –Format an.

Erweiterter dynamischer Bereich

Aufgrund ihres digitalen Charakters erlaubt die NGS Technologie einen nahezu uneingeschränkten dynamischen Bereich, was sich besonders bei Genexpressionsstudien als Vorteil erweist. Forscher können die Sensitivität des Prozesses beliebig der jeweiligen Fragestellung der durchzuführenden Studie anpassen, was bei Methoden, die zum Beispiel auf der Anwendung von DNA Microarrays beruhen, nicht so einfach möglich ist. Das Auffinden seltener

Mutationen in Mischproben verlangt unter Umständen eine extreme Sequenzierungstiefe mit einer 1000x oder höheren Abdeckung eines Genabschnittes, während z.B. das Auffinden von Ganzgenomvarianten in Umweltproben eine viel niedrigere Sequenzierungstiefe erfordert, aber auch gleichzeitig die Analyse von hunderten oder tausenden Proben erlaubt.

Verbesserte Generierung von Sequenzierungsbibliotheken

Die Produktion von sequenzierbaren Bibliotheken umfasste früher PCR-Amplifikations- und zahlreiche Purifikationschritte, was eine Turnaround-Dauer von 1-2 Tagen zur Folge hatte. Aktuelle NGS Protokolle haben die Produktionszeit dieser Bibliotheken auf 90 min reduziert, wobei sogar Kits zur Verfügung stehen, die auf PCR und/oder Gelaufreinigungsschritte verzichten. Das Vermeiden des PCR Schrittes erleichtert besonders die Sequenzierung von AT und GC-reichen oder langen homopolymeren Sequenzabschnitten.

Multiplexing

Durch Multiplexing, bei dem jede Bibliothek einen spezifischen sequenzcodierten Barcode erhält, wird das Poolen vieler verschiedener Bibliotheken vor der eigentlichen Sequenzierungsreaktion möglich. Über softwaregesteuertes Demultiplexing lassen sich die gewonnenen Sequenzdaten wieder einzelnen Bibliotheken/Proben eindeutig zuordnen. Ein zentraler Vorteil des Multiplexings ist, dass viele Umweltproben gleichzeitig abgearbeitet werden können und der Experimentator schneller zu Studiendaten kommt, die auf der Analyse von vielen Samples beruhen. Dies wird um den Preis einer niedrigeren Sequenzierungstiefe pro Sample erkauft.

3.2.2 Shotgun-Sequenzierung (10)

Mit Hilfe der Shotgun-Sequenzierung können potentielle Fehlerquellen der PCR vermieden werden, da hier auf den Einsatz von Primern und auf die Vervielfältigung von Zielmolekülen verzichtet wird. Obwohl immer noch sehr teuer, zeichnet sich ein rapider Preisverfall bei den pro-Sample-Kosten ab, der eine weitere Verbreitung der Anwenderbasis zur Folge haben wird.

Die augenscheinlichsten Vorteile der Shotgun-Sequenzierung liegen darin, dass potentiell das genetische Material der gesamten mikrobiellen Bakteriengemeinschaft in der untersuchten Umweltprobe in einem einzigen Assay ohne einen eingeschobenen PCR-Amplifikationsschritt erfasst werden kann. So lassen sich phylogenetisch interessante Gene, die eine Aussage über die unterschiedlichen in der Probe vorkommenden Arten erlauben, gleichzeitig mit funktionell wichtigen Genen detektieren, ohne dass auf Schwierigkeiten bei der Primerkonstruktion (die unter Umständen dazu führen, dass gewisse Taxone

nicht detektiert werden können) Rücksicht genommen werden müsste. Die Shotgun-Sequenzierung hat somit das Potential auch quantitative Informationen über alle in der Umweltprobe vorkommenden Lebensformen liefern zu können.

Die Nachteile bei der Shotgun-Sequenzierung liegen in den hohen Kosten und der Sequenzierungstiefe, die für Umweltproben notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse erzielen zu können. Als grobe Richtlinie sollte eine 5 - 10 fache Sequenzierungstiefe angestrebt werden, um eine sinnvolle Sequenzassemblierung und Genomrekonstruktion zu ermöglichen. In einer beispielhaften Modellrechnung dargestellt, bedeutet das, dass ca. 5 - 10 Millionen 250 bp lange Paired End Reads von Shotgun-Fragmenten mit einer Länge von ca. 400 bp ungefähr die hundert häufigsten in der Probe vorkommenden Genome ausreichend genau erfassen zu können. Das entspricht einem notwendigen Datenoutputvolumen von ca. 5 Gigabyte. Die obere Kapazitätsgrenze bezüglich generierbarer Daten pro Lauf liegt beim weitverbreiteten Illumina MiSeq NGS Gerät bei ca. 15 Gigabyte (18).

In Umweltproben aus Kläranlagen kommt jedoch erschwerend hinzu, dass dort normalerweise mehr als 100 dominante Spezies vorkommen und jedes Taxon durch zahlreiche ähnliche Genome im Sample repräsentiert wird. Betrachtet man die Situation bezüglich Antibiotikaresistenzgene, so gibt es Hinweise darauf, dass selten vorkommende Spezies unter Umständen eine zentrale Bedeutung als ARG-Reservoir oder -Donor haben, diese aber beim oben dargestellten Versuchsdesign gar nicht erfasst werden könnten, weil sie einfach in der Menge an konkurrierenden DNA Molekülen untergehen. Dies führt unweigerlich zu falschen Einschätzungen bei der Risikobewertung. Sollte keine ausreichende Sequenzierungstiefe erreicht werden können, ist ein funktionelles Profiling, das auf einer direkten Analyse von 16S rRNA Genen aufgebaut ist, sinnvoller (10).

4 Schlussfolgerungen

Angesichts der derzeit prekären Gesamtsituation bezüglich der Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen und deren negativen Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch und Tier sind verstärkte Anstrengungen in die Erforschung der Dynamik von Antibiotikaresistenzgenen in Umweltproben unbedingt notwendig. Die diesbezüglich relevanten Prozesse sind in Kläranlagen noch relativ unerforscht. Die Ermittlung der natürlich vorkommenden Hintergrundbelastung mit und ein konsequent durchgeführtes Monitoring von potentiell human-relevanten ARGs in Kläranlagen und anthropogen exponierten Böden sind die Grundvoraussetzung für eine robuste Risikobewertung und die

Ausarbeitung von Handlungsempfehlungen für das Risikomanagement, um die Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen aus Umweltquellen langfristig erfolgreich eindämmen zu können. Um dieses Ziel erreichen zu können, ist der konsequente Einsatz von modernen molekularbiologischen Methoden in der Umweltforschung wie der quantitative Real-Time PCR und die breite Palette an Next Generation Sequencing Technologien notwendig. Obwohl Whole Genome Sequencing und andere Ansätze zur Erfassung des Metagenoms in einer Umweltprobe unter Umständen noch ziemlich kostenintensiv sind, sinkt der finanzielle Aufwand durch ständige Verbesserungen und Weiterentwicklungen kontinuierlich und ermöglicht neue Perspektiven in der Erforschung von antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen in natürlich vorkommenden mikrobiellen Populationen.

5 Danksagung

Der Autor bedankt sich bei Prof. Dr. Thomas Berendonk, Dr. Marko Virta und Dr. Fiona Walsh für die Zurverfügungstellung von Informationen, die die Grundlage für den vorliegenden Beitrag geliefert haben.

6 Referenzen

1. Surette M, Wright GD. 2017. Lessons from the Environmental Antibiotic Resistome. 0066-4227 71:309-329.
2. Gelband H, Laxminarayan R. 2015. Tackling antimicrobial resistance at global and local scales. 0966-842X 23:524-526.
3. ECDC-EMA. 2009. Joint Technical Report. The bacterial challenge: time to react. Stockholm, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control; 2009. EMEA/576176/2009.
http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf (last access: 7.8.2017).
4. Gillings MR, Paulsen IT, Tetu SG. 2017. Genomics and the evolution of antibiotic resistance. 0077-8923 1388:92-107.
5. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy MC, Michael I, Fatta-Kassinos D. 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. 0048-9697 447:345-360.

6. Chee-Sanford JC, Mackie RI, Koike S, Krapac IG, Lin YF, Yannarell AC, Maxwell S, Aminov RI. 2009. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. *Journal of Environmental Quality* 38:1086-1108.
7. Woegerbauer M, Zeinzinger J, Gottsberger RA, Pascher K, Hufnagl P, Indra A, Fuchs R, Hofrichter J, Kopacka I, Korschineck I, Schleicher C, Schwarz M, Steinwider J, Springer B, Allerberger F, Nielsen KM, Fuchs K. 2015. Antibiotic resistance marker genes as environmental pollutants in GMO-pristine agricultural soils in Austria. *0269-7491* 206:342-351.
8. Martinez JL, Coque TM, Baquero F. 2015. Prioritizing risks of antibiotic resistance genes in all metagenomes. *Nat Rev Micro* 13:396-396.
9. O'Neill J. 2016. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations. https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf (last accessed: 7.8.2017).
10. Voolaid V, Donner E, Vasileiadis S, Berendonk T. 2018. Bacterial diversity and antibiotic resistance genes in wastewater treatment plant influents and effluents, p 157-178. In Keen PL, Fugere R (ed), *Antimicrobial Resistance in Wastewater Treatment Processes*. Wiley - Blackwell, Hoboken, New Jersey.
11. D'Costa VM, Griffiths E, Wright GD. 2007. Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *1369-5274* 10:481-489.
12. Forsberg KJ, Reyes A, Wang B, Selleck EM, Sommer MO, Dantas G. 2012. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science* 337:1107-1111.
13. Wright GD. 2007. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *1740-1526* 5:175-186.
14. WHO. 2015. Global action plan on antimicrobial resistance. <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/> (last access: 7.8.2017).
15. WHO. 2017. Tackling antimicrobial resistance: Supporting national measures to address infection prevention and control and water, sanitation and hygiene in health care settings. http://www.who.int/entity/water_sanitation_health/facilities/amr-ipc-wash-flyer-nov16.pdf?ua=1. (last access: 7.8.2017).

16. WHO. 2016. Antimicrobial resistance: Fact sheet.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. (Last access: 5.4.2017)
17. Muurinen J, Karkman A, Virta M. 2018. High throughput method for analyzing antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants, p 253-262. In Keen PL, Fugere R (ed), Antimicrobial Resistance in Wastewater Treatment Processes. Wiley - Blackwell, Hoboken, New Jersey.
18. Illumina. 2016. An introduction to next generation sequencing technology. www.illumina.com/technology/next-generation-sequencing.
19. Quail MA, Smith M, Coupland P, Otto TD, Harris SR, Connor TR, Bertoni A, Swerdlow HP, Gu Y. 2012. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. 1471-2164 13:1-13.

Korrespondenz an:

Dr. Markus Wögerbauer

AGES – Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Abteilung für Integrative Risikobewertung
Daten-Statistik-Risikobewertung

Spargelfeldstrasse 191, 1220 Wien

Tel.: 0043(0)50555-25717

Mail: Markus.woegerbauer@ages.at

Beispiele der Anwendung molekularbiologischer Methoden für praktische Fragestellungen der Wassergütewirtschaft

Norbert Kreuzinger

Technische Universität Wien
Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Abstract: Der Bedarf an Optimierung technischer Prozesse der Wassergütewirtschaft (Abwasserreinigung, Trinkwasseraufbereitung) sowie neue Erkenntnisse der Mikrobiologie (z.B. neue Stickstoffwege) und das Aufkommen neuer Fragestellungen in der Siedlungswasserwirtschaft (z.B. Antibiotikaresistenzen) lassen Ingenieurwissenschaft und Naturwissenschaften vermehrt enger zueinander finden. Parallel haben sich die in der Mikrobiologie und Molekularbiologie eingesetzte Methoden in den letzten Jahren von den Möglichkeiten, den Kosten und der Verfügbarkeit dramatisch weiterentwickelt, sodass heute für spezifische Fragestellungen vermehrt die Anwendung einer beinahe schon unüberschaubaren Menge von molekularbiologischen Methoden in der Wassergütewirtschaft möglich ist. Diese Methoden erlauben es dem Ingenieur, biologische Prozesse sowie den Einfluss abiotischer Faktoren besser zu verstehen und die Bemessung und Planung von verfahrenstechnischen Umsetzungen zu optimieren oder überhaupt erst zu bewerkstelligen. Dieser Beitrag gibt Beispiele für einfach nachvollziehbare Fragestellungen der Siedlungswasserwirtschaft, für die heute molekularbiologische Methoden eingesetzt werden und soll somit dazu beitragen, diese Methoden und die damit verbundenen Möglichkeiten den Praktikern in Bemessung, Bau und Betrieb von technischen Anlagen der Wassergütewirtschaft nahezubringen. Die Methoden selbst werden bei Wögerbauer (2018) und Nettmann (2018) genauer beschrieben.

Key Words: molekularbiologische Methoden, Wassergütewirtschaft, „Omics“, Sequenzierung, PCR, eDNA, Populationsdynamik, biologische Abwasserreinigung

1 Einleitung

Biologische Fragestellungen der Wassergütewirtschaft umfassen vielfältige Bereiche. Ob die Bemessung von Kläranlagen für Nitrifikation und Denitrifikation, das Verständnis der anaeroben Schlammstabilisierung, die

Identifizierung von Indikatororganismen zu Bestimmung von Prozessstabilitäten in der Abwasserreinigung, das Herantasten an die Ursachen von Betriebsproblemen im Zusammenhang mit der Blähschlammthematik, die Identifizierung von Krankheitserregern im Zuge der Trinkwasseraufbereitung bzw. Desinfektion, die Begründung von biologisch induzierter Korrosion und Biofilmbildung im Netz von Wasserversorgungsleitungen oder die Bestimmung der Gewässergüte anhand der biologischen Qualitätselemente – die Kenntnis der involvierten Organismen sowie ihrer spezifischen Stoffwechselwege war seit jeher eine zentrale Basis in der Wassergütwirtschaft. Traditionell wurden für die damit verbundenen wissenschaftlichen Untersuchungen sowie in der Praxis konventionelle Methoden wie Mikroskopie, Kultivierungsmethoden oder indirekte Verfahren zur Bestimmung von Stoffwechselleistungen (z.B. Atmungstests) herangezogen. Obgleich für zentrale Fragestellungen (nach wie vor) erfolgreich eingesetzt, weisen diese Methoden jedoch Limitierungen auf, die dazu führten, dass viele biologische Prozesse im Detail nicht verstanden und untersucht werden konnten und deshalb zahlreiche durchaus komplexe Prozesse mit einfachen Modellvorstellungen erklärt wurden. Diese Vorgangsweise war absolut erfolgreich, wie etwa an der Bemessung und dem erfolgreichen Betrieb von Kläranlagen unschwer zu erkennen ist. In den letzten 10-20 Jahren gelangten jedoch Fragen und Wünsche nach Optimierung der Kläranlagen vermehrt in den Fokus betrieblicher und wissenschaftlicher Fragestellungen. Für eine Optimierung der verfahrenstechnisch umgesetzten biologischen Prozesse in Hinblick auf Energie- und Raumbedarf ist jedoch das Arbeiten mit den klassischen „Black-Box“ – Ansätzen vielfach nicht ausreichend und der Wunsch nach verbesserten Methoden zur Erlangung von Detailwissen über die biologischen Prozesse und Zusammenhänge wurde auch seitens der Ingenieure geäußert. Dies führte in den letzten Jahren zu einer Annäherung der naturwissenschaftlichen und ingenieurwissenschaftlichen Bearbeitung von Fragestellungen der Wassergütwirtschaft. Neuartige Wege der Stickstoffentfernung, die von Naturwissenschaftlern gefunden wurden (siehe etwa Daims 2018) verdeutlichen diese Entwicklung und Thematik deutlich.

Parallel mit der thematischen Annäherung der beiden Bereiche entwickelten sich auch die auf naturwissenschaftlicher Ebene eingesetzten Methoden dramatisch weiter, sodass heute Werkzeuge zur Verfügung stehen, die sowohl in Hinblick auf den Detaillierungsgrad als auch in Hinblick auf die Anwendbarkeit das Potential aufweisen, das Wissen über die biologischen Prozesse in der Wassergütwirtschaft explosionsartig zu erweitern. Die Zunahme des generierten Wissens kann jedoch nur durch eine enge Zusammenarbeit zwischen Naturwissenschaft und Technik für die Gesellschaft bzw. die

Wassergütwirtschaft auch fruchtbringend eingesetzt werden. Die Technik ist dabei auf die grundlegenden Erkenntnisse der Naturwissenschaften angewiesen und die Naturwissenschaften auf das empirische Wissen, die Erfahrung und die Umsetzungskompetenz der Technik. Diese gegenseitige Annäherung und Akzeptanz der spezifischen Kompetenz mit synergistischer Wirkung ist ein auf menschlicher Ebene ablaufender Prozess, der ebenso wichtig ist wie die inhaltlichen, wissenschaftlichen Entwicklungen.

Dies betrifft natürlich nicht nur das Gebiet der Wassergütwirtschaft, sondern auch Medizin, Umweltforschung, und generell all jene Bereiche, in denen biologische Prozesse eine zentrale Bedeutung einnehmen. Zweifellos gingen die allermeisten methodischen Entwicklungen vom humanmedizinischen Bereich aus. Die dort entwickelten Methoden der „Omics“ (Überbegriff für unterschiedliche methodische Richtung wie MetaGenomics; Proteomics; Transkriptomik; ... siehe Begriffe weiter unten) haben eine regelrechte Methodenrevolution ausgelöst, welche die Identifizierung und Quantifizierung von Organismen (Bakterien bis Fische und darüber hinaus), von Stoffwechselwegen (Stickstoffmetabolismus; Bio-P; spezifischer Schadstoffabbau; ...), abiotischen und systematischen Einflussfaktoren auf Wachstum und Stoffumsatz, Interaktionen biologischer Systemkomponenten und anderen Aspekten erlauben, was es erlaubt weitaus mehr Informationen und Verständnis zu kreieren, als es bis vor noch 10 Jahren möglich war. Heute haben ein Teil dieser Methoden eine „Reife“ erreicht, dass sie durchaus auch in der Routine eingesetzt werden können. Andere Methoden verlangen jedoch komplexe (und noch teure) Gerätschaften, sodass deren Einsatz auf spezialisierte wissenschaftliche Arbeitsgruppen beschränkt ist.

Die Methoden weisen – wie alle anderen Methoden auch – ihre Limitierungen, Fehler und Ungenauigkeiten oder falsch positive bzw. negative Ergebnisse auf, sodass für die Interpretation der Ergebnisse und die Umsetzung in eine verfahrenstechnische Dimension die Kenntnis der Methoden und ihrer Grenzen in Genauigkeit und Anwendbarkeit unumgänglich ist. Diese Limitierungen ergeben sich einerseits aus intrinsischen, messtechnisch bedingten Aspekten aber auch aus der Abfolge von Prozessen in der Durchführung der Methoden. Die auftretenden Probleme sind durchaus mit den Problemen einer klassischen chemischen Analytik auf Kläranlagen zu vergleichen und beginnen bei der (repräsentativen) Probenahme, spannen sich über die Extraktion von DNA (Problematik vergleichbar mit einem CSB-Aufschluss) bis hin zu den verwendeten Einheiten, das Ergebnis anzugeben. Speziell im Bereich der Abwasserreinigung kommen zudem noch Matrixeffekte des Abwassers (Organik des Belebtschlammes, die z.B. Probleme bei der DNA Extraktion verursacht) und

die generelle qualitative und quantitative Dynamik des Zulaufs, der die Basis der mikrobiologischen Prozesse darstellt, erschwerend hinzu, sodass eine Aussage zu den mittels molekularbiologischer Methoden erhaltener Ergebnisse ohne verfahrenstechnischem Wissen und Hintergrund nicht möglich ist.

2 Kurzdarstellung des wichtigsten Grundprinzips der molekularbiologischen Methoden

Das wesentlichste Grundprinzip aller molekularbiologischer Methoden stellt der Unterschied im genetischen Code von Organismen dar. Der in der DNA (deutsch: DNS) verankerte genetische Code ist in allen Lebewesen dieser Erde zu finden. Der Aufbau und die Struktur des genetischen Codes kann durchaus mit einem Computercode verglichen werden. Während ein Computerprogramm aus einer Abfolge der beiden Logikbausteine „0“en und „1“en besteht, die dazu führen, dass der Prozessor des Computers die codierten, spezifischen Befehle ausführt, besteht der Code des Lebens aus vier Bausteinen, die von chemischen Verbindungen („Basen“) gebildet werden. Diese Basen haben die Abkürzungen A, C, G und T. Jeweils drei dieser Basen codieren für eine Aminosäure und mehrere Aminosäuren codieren für ein Protein/Enzym. Die Summe aller derart codierter Informationen charakterisiert das Lebewesen. Ähnlich einer Computerfestplatte, auf der „Datenmüll“ in Form von nicht gelöschten aber funktionslosen Dateien herumliegt, weisen auch Organismen einen hohen Anteil an „genetischem Müll“ auf, der keine sinnvollen Informationen beinhaltet, dennoch aber weitervererbt wird. Aus den Unterschieden im genetischen Code resultieren letztendlich Unterschiede in den Stoffwechseleigenschaften, aber auch im Aussehen. Grund für Unterschiede im genetischen Code sind „Mutationen“ bei denen die ursprüngliche Abfolge der Basen (A, C, G, T) in der DNA verändert wird. Je näher zwei Organismen miteinander verwandt sind, desto mehr stimmt ihr genetischer Code überein; je weniger sie miteinander verwandt sind, desto mehr unterscheidet sich ihr genetischer Code. Die Abfolge der Basen im genetischen Code kann bestimmt werden und die genetischen Codes unterschiedlicher Organismen können miteinander verglichen werden (siehe Abbildung 1).

Die Bestimmung der Basenabfolge im genetischen Code von Organismen und ein Vergleich mit in einer Computerdatenbank für unterschiedliche Organismen gespeicherten Codes erlaubt somit eine Identifizierung = Zuordnung des Codes zu einem Organismus. Wird also die DNA bzw. der gesamte genetische Code einer Umweltprobe isoliert und die Abfolge der Basenpaare bestimmt (sequenziert), so lässt sich mit (enormen) Computerrechenaufwand in einem Datenbankabgleich feststellen, welche Organismen in der Probe vorhanden waren

(exakt: die DNA welcher Organismen; da z.B. auch totes Gewebe oder tote Bakterien DNA beinhalten). Dieser EDV-Prozess ist ein Teil des Fachgebiets der Bioinformatik. Die allermeisten molekularbiologischen Methoden beruhen auf diesem Grundprinzip und unterscheiden sich dann weiter im Detail.

```

1 SOURCE      Nitrobacter sp. (strain LL) DNA.
2 SOURCE      Nitrobacter hamburgensis (strain X14) DNA.
3 SOURCE      Nitrobacter winogradskyi (strain W) DNA.

1 aacacagggaaacttgtgctaataaccggataagcccttacggggaaagatttatcgccga
2 aactgagggaaacttcagctaataaccggataagcccttacggggaaagatttatcgccga
3 aacccagggaaacttgggctaataaccggataagcccttacggggaaagatttatcgccga

1 aagatcgggcccgctctgattagcttgtgttggtaggtaacggctcaccaaggcgacgatc
2 aagatcgggcccgctctgattagcttgtgttggtaggtaatgggctcaccaaggcgacgatc
3 aagatcgggcccgctctgattagcttgtgttggtaggtaaccggctcaccaaggcgacgatc

1 agtagcnggtctgagaggatgatcagccacattgggactgagacacggccaaactccta
2 agtagctggctctgagaggatgatcagccacattgggactgagacacggccaaactc ta
3 agtagctggctctgagaggatgatcagccacattgggactgagacacggcc aaactc ta

1 cgggaggcagcagtgggggaatattggacaatgggcgcaagcctgatccagccatgcccgcg
2 cgg ggcagcagtgggggaatattggacaatgggcgaaagcctgatccagccatgcccgcg
3 cg ggcagcagtgggggaatattggacaatgggcgcaagcctgatccagccatgcccgcg

```

Abbildung 1: Beispiele für Unterschiede bzw. Übereinstimmungen im genetischen Code von drei Nitrobacter Arten (unterschiedliche Basen in Grau; bzw. fehlende Basen).

3 Definitionen und Begriffe

Nach der Darstellung des grundlegenden Prinzips der molekularbiologischen Methoden werden einige zentrale Begriffe erläutert, die für das Verständnis des weiteren Textes ausschlaggebend sind.

DNA	Biopolymer, welches durch die Abfolge der vier Basen (Codierungselemente) A, C, G, T den genetischen Code beinhaltet
16S	Ein Teil der bakteriellen Ribosomen, in denen der genetische Code in Proteine / Enzyme übersetzt wird. Wird häufig als Ziel für die Charakterisierung von Organismen verwendet
Genomics	Beschäftigung mit dem Genom / der Erbinformation von Organismen
Metagenomics	Beschäftigung mit genetischem Material aus Umweltproben (environmental genomics = Umweltgenomic)
Genbibliotheken	Datenbank mit bekannten Gensequenzen / Abfolgen genetischen Codes und Zuweisung zu einer Organismenart

Primer	kurze DNA Stücke, die als Startpunkt für eine Vervielfältigung (Amplifizierung) von DNA mittels PCR dienen
PCR	„Polymerase Ketten Reaktion“ zur spezifischen Vervielfältigung von interessierender DNA. Vervielfältigung ist notwendig, um mit der DNA „weiterarbeiten“ zu können (z.B. Entschlüsselung des genetischen Codes)
qPCR	Variante der PCR, bei der eine Quantifizierung des Ausgangsmaterials möglich ist (Wieviel spezifische DNA ist in meiner DNA Extraktion)
FISH	Fluoreszenz in situ Hybridisierung. Mittels spezifischer Gensonden für die (üblicher Weise) 16S Untereinheit werden spezifische Bakterien im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht.
Gensonden	mit einem (Fluoreszenz-)Farbstoff markierte kurze aber spezifische DNA Stücke
MAR	Mikro-Auto-Radiografie. Organismen werden mit radioaktiv markiertem Substrat (^{14}C) gefüttert. Wird das Substrat aufgenommen, wird es in das Zellmaterial eingebaut und kann mit „Photofilm“- unter dem Mikroskop sichtbar gemacht werden. Kombinierbar mit FISH
16s Profiling	Analyse der Zusammensetzung einer Organismengemeinschaft (z.B. Bakterien im Belebtschlamm) auf 16S Basis.

4 Beispiele für Fragestellungen in der Wassergütwirtschaft

In weiterer Folge werden kurz Beispiele für Fragestellungen aus der Wassergütwirtschaft vorgestellt, bei denen heute bereits molekularbiologische Methoden zum Einsatz kommen. Der Schwerpunkt der Darstellung wird hierbei nicht auf Details und Ergebnisse gelegt, sondern die Ausführungen sollen dazu dienen, den in der Praxis der Wassergütwirtschaft verankerten Personenkreis einen orientierenden, beispielhaften Eindruck zu vermitteln. Es wird auf die Themenbereiche Trinkwasserversorgung, Abwasserreinigung, Grundwasser und Gewässerbiologie eingegangen.

4.1 Trinkwasserversorgung

Eine Literaturrecherche ergibt, dass der Schwerpunkt der Anwendung molekularbiologischer Methoden in der Trinkwasserversorgung im Nachweis pathogener Organismen im Reinwasser betrifft. Dies begründet sich in der Tatsache, dass die eingesetzten molekularbiologischen Methoden schnellere und im Wesentlichen auch günstiger Informationen zum Auftreten von Krankheitserregern im behandelten Trinkwasser liefern. Durch die im Vergleich zur Abwasserreinigung wesentlich einheitlichere Matrix (Qualität und Quantität) gestaltet sich die Anwendung der Methoden als vergleichsweise einfach. Dem steht die geringe Anzahl von Zielorganismen gegenüber, sodass für den ersten Schritt einer DNA Extraktion eine hohe Wassermenge aufgearbeitet (filtriert) werden muss, was jedoch in erster Linie ein logistisches und kein methodisches Problem darstellt.

Methodisch können alle Arten von Krankheitserregern erfasst werden. Im Gegensatz zu den traditionellen Methoden haben die „einfachen“ molekularbiologischen Methoden wie qPCR jedoch den Nachteil, dass sie auch z.B. in der Desinfektion abgetötete Organismen miterfassen; als in der am weitesten verbreiteten methodischen Grundform nicht zwischen infektiösen und abgetöteten Organismen unterscheiden können.

Neben Fragestellungen mit dem Schwerpunkt eines Qualitätsmonitorings, steht jedoch auch die Evaluierung der Entfernungsleistung von verfahrenstechnischen Schritten im Zentrum molekularbiologischer Untersuchungen. Abbildung 2 gibt ein Beispiel für Untersuchungen zum Auftreten von Viren in verschiedenen Stufen einer Aufbereitungsanlage für die Wiederverwendung von Abwasser als Trinkwasser (Leddy et al. 2018).

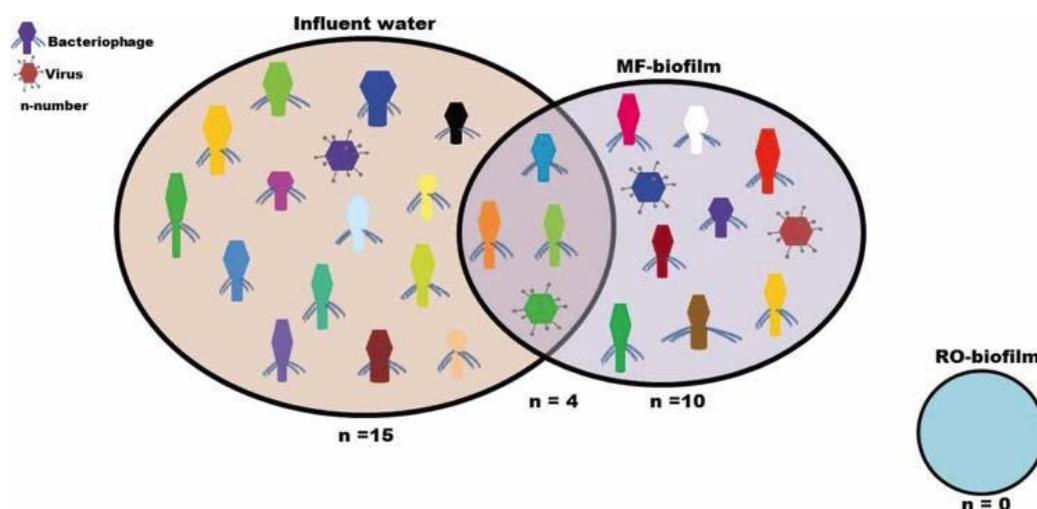


Abbildung 2: Beispiel zur Analyse von DNA – Viren in einer mehrstufigen Membrananlage zur Wiederverwendung von Abwasser für die Trinkwassergewinnung aus Leddy et al. (2018)

4.2 Abwasserreinigung

Im Bereich der Abwasserreinigung erfolgte die Anwendung molekularbiologischer Methoden bereits seit etwa Mitte der 1990er. Die Themenbereiche Nitrifikation und Blähschlamm standen anfangs im Mittelpunkt der wissenschaftlichen Untersuchungen. Durch die Mannigfaltigkeit der technischen und naturwissenschaftlichen Fragestellungen findet sich in der wissenschaftlichen Literatur umfangreiche Literatur über die Anwendung molekularbiologischer Methoden, wobei die Schwerpunkte in der Implementierung neuer Wege der Stickstoffentfernung, der Verfahrensoptimierung sowie dem Prozessverständnis liegen. In weiterer Folge werden die wichtigsten Fragestellungen in der Abwasserreinigung kurz angesprochen.

Details zu praxisnahen Fragestellungen aus der Abwasserreinigung werden in Nettmann und Wichern (2018) in diesem Tagungsband umfangreicher ausgeführt.

4.2.1 Populationsdynamik

Wie dem Praktiker aus empirischen Beobachtungen und routinemäßigen chemischen Analysen bekannt, weist die biologische Abwasserreinigung aufgrund der qualitativen und quantitativen Dynamik sowie permanenten Veränderungen in den abiotischen Rahmenbedingungen wie der Temperatur auf. Diese Dynamik führt zu einer permanenten Anpassung = Veränderung der Biozönose im Belebtschlamm, die mittels molekularbiologischer Methoden sehr genau und eindrucksvoll dokumentiert werden kann. Untersuchungen zur Populationsdynamik von Bakteriengruppen, einzelnen speziellen Arten oder auch Protozoen über die Zeit stellen den höchsten Anteil an publizierter Literatur zum Thema.

Abbildung 3 gibt einen schönen Eindruck von einer umfangreicheren Auswertung entsprechender populationsdynamischer Untersuchungen, indem die Bakterienzusammensetzung von Abwässern unterschiedlicher Charakteristik (kommunal, Raffinerie, Schlachthauseinfluss) und der Belebtschlämme der zugehörigen Kläranlagen über einen längeren Zeitraum hin untersucht werden. Als zusätzliche Kriterien wurden zudem als pathogen ausgewiesene Bakterien und Blähschlammorganismen in die Auswertung aufgenommen, sodass sich ein guter Eindruck über die Variabilität der Biologie auf Kläranlagen gewinnen lässt und die empirische Wahrnehmung bestätigt wird, dass Kläranlage nicht gleich Kläranlage ist. Korrelationen der biozönotischen Zusammensetzung mit Belastungsgrad und Anlagenkonfiguration werden in der Literatur ebenfalls beschrieben.

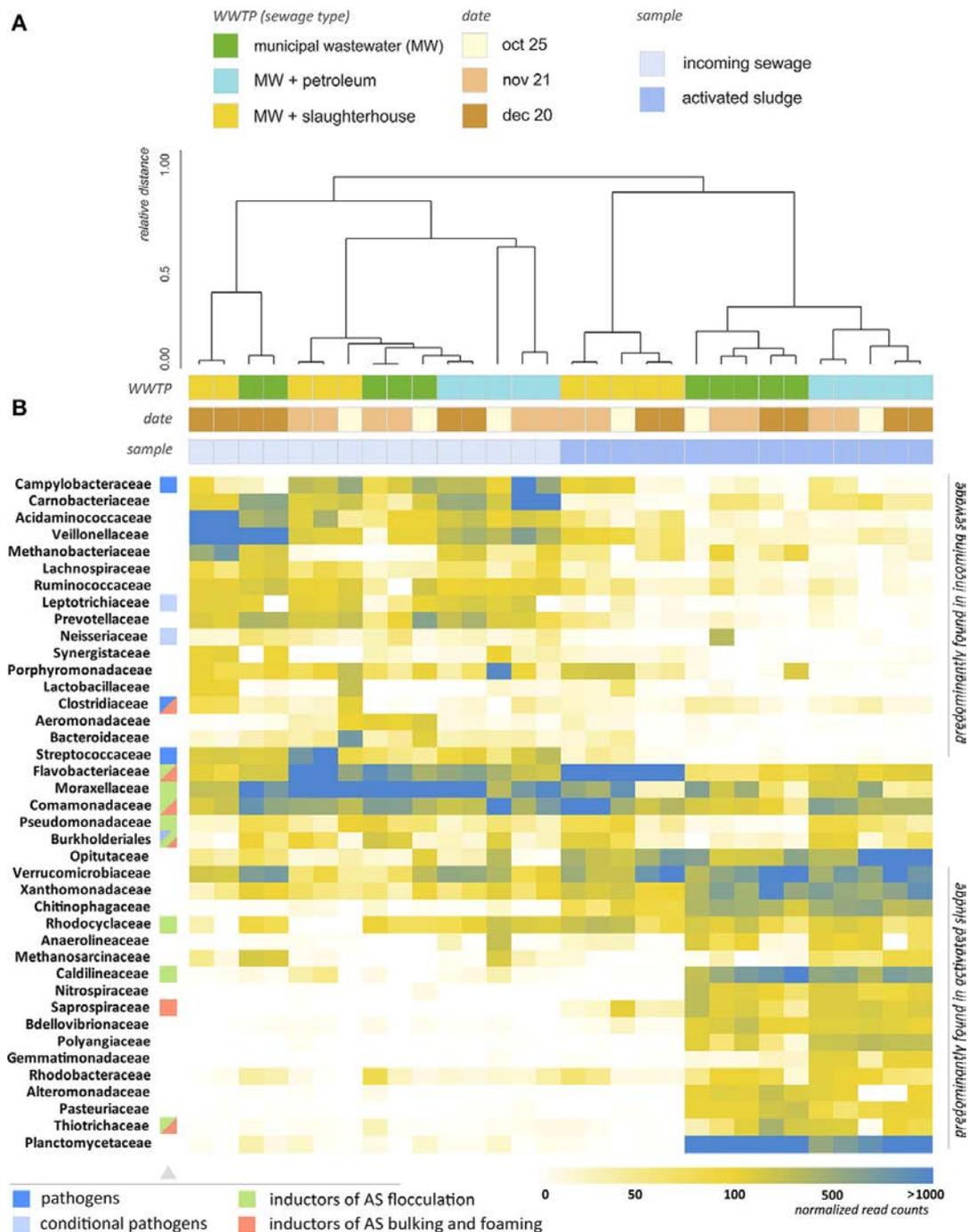


Abbildung 3: Beispiel einer Auswertung zu Untersuchungen der bakteriellen Zusammensetzung von unterschiedlichem Abwasser und Belebtschlamm über mehrere Beprobungstermine aus Shchegolkova1 et.al (2016)

4.2.2 Nitrifikation

Eine der zentralen und inhaltlich auch bereits länger bearbeiteten Fragestellungen steht im Zusammenhang mit den mikrobiologischen Pfaden des Stickstoffkreislaufs. Obwohl das klassische Modell der von AOB (Ammonium-oxidierenden Bakterien) und NOB (Nitrit oxidierende Bakterien) in vielen Fällen

nach wie vor seine Gültigkeit hat und didaktisch ein einfaches Erklärungsmodell der Nitrifikation liefert, so zeichnen molekularbiologische Untersuchungen doch ein deutlich differenzierteres Bild der Ammoniumumwandlung auf Kläranlagen und des Stickstoffkreislaufs generell. Ohne die Anwendung molekularbiologischer Methoden wäre weder die Aufklärung grundlegender Mechanismen und enzymatischer Wege, noch die verfahrenstechnische Umsetzung möglich.

Details zu den mit molekularbiologischen Methoden gefundenen mikrobiologischen Aspekten des Stickstoffkreislaufs finden sich bei Daims (2018) in diesem Tagungsband. Die direkte Verknüpfung zu verfahrenstechnischen Umsetzungen der mikrobiologischen Grundlagen werden bei Lackner (2018) ebenfalls in diesem Tagungsband detailliert behandelt, sodass auf diese beiden Beiträge verwiesen wird.

4.2.3 Bio-P

Neben dem Stickstoffkreislauf stellt „Bio-P“ einen weiteren Themenbereich dar, der mittels molekularbiologischer Methoden aufgeklärt wurde. Zu Beginn der Untersuchungen führten kultivierungsabhängige Methoden zu falschen Annahmen bezüglich der für den Prozess verantwortlichen Bakterien. Erst die Molekularbiologie belegte, welche Bakterienarten dafür verantwortlich sind und belegt zudem, dass es auch bei den Bio-P Bakterien mehrere Arten sind, die an Bio-P beteiligt sind und über das Jahr in ihrer prozentuellen Zusammensetzung schwanken (Mielczarek et al. 2013; siehe auch Abbildung 4)

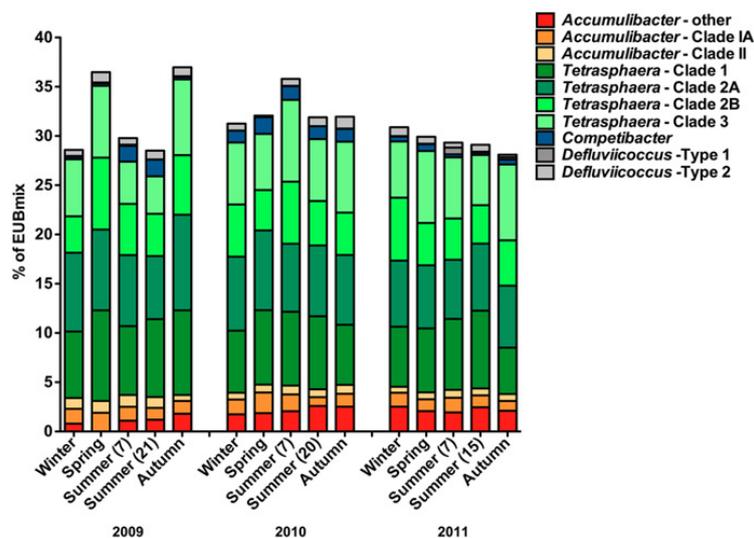


Abbildung 4: Ergebnisse zur Untersuchung von Bio-P Anlagen aus Mielczarek et al. (2013)

4.2.4 Blähschlamm

Blähschlamm als Betriebsproblem existiert solange es biologische Abwasserreinigung gibt. Obwohl in der betrieblichen Routine die mikroskopischen Verfahren der Fadenbestimmung nach wie vor ihre Berechtigung haben, so helfen auch in dieser Fragestellung die molekularbiologischen Methoden für eine tiefere Einsicht in die Thematik. Speziell die Kombination mit MAR (Mikroautoradiografie; siehe etwa Okabe et al. 2004) führte zu grundlegenden Erkenntnissen zum Substratanspruch spezifischer Fadenorganismen und legte somit die Basis für erfolgreiche Bekämpfungsstrategien. Betrachtungen zur Populationsdynamik (siehe z.B. Abbildung 5 aus Jiang et al. 2016) sowie die Korrelation mit abiotischen Umweltfaktoren halfen ebenfalls stark zum Verständnis der Problematik mit.

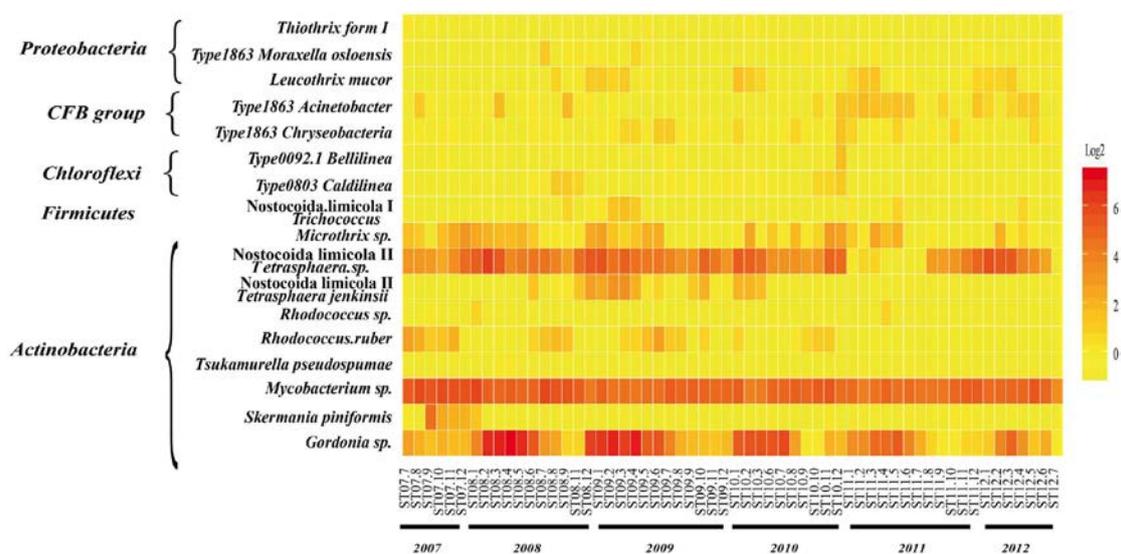


Abbildung 5: Langzeitstudie zum Auftreten von filamentösen Bakterien auf einer Kläranlage aus Jiang et al. (2016)

4.2.5 Antibiotikaresistenzen

Eines der „jüngsten“ Themengebiete für die Anwendung molekularbiologischer Methoden in der Abwasserreinigung stellt die Problematik der Antibiotikaresistenzen dar. Sowohl das aus dem medizinischen Bereich abgeleitete Monitoring unterschiedlicher Resistenzen über das Auftreten von Resistenzgenen, die Art und Weise des Übertrags von Resistenzen von klinisch relevanten Bakterien auf Umweltkeime, das Verhalten von Resistenzgenen und resistenten Bakterien im Zuge der Abwasserreinigung und die Wechselwirkung von Betriebsweise und Abwasserzusammensetzung auf diese Prozesse sind alles Fragestellungen, bei denen die Anwendung molekularbiologischer Methoden unumgänglich ist.

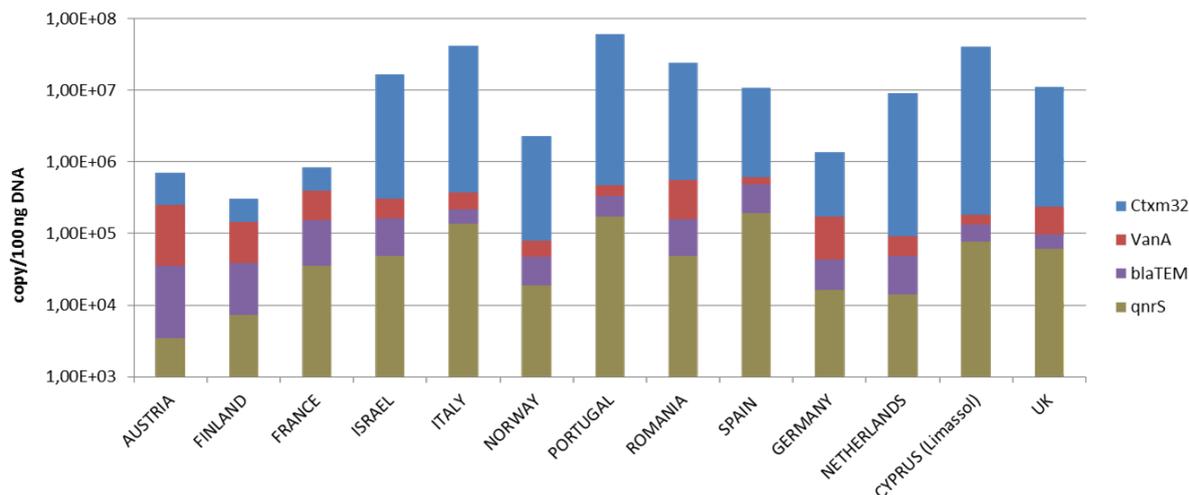


Abbildung 6: Beispiel für die Untersuchung von Resistenzgenen auf europäischen Kläranlagen

4.3 Grundwasser

Die Anwendung molekularbiologischer Methoden bei Betrachtungen zum Grundwasser richtet sich in der Literatur ähnlich der Trinkwasserversorgung primär auf ein Monitoring von pathogenen Organismen und Umweltkeimen aus. Zudem stellt die Populationsdynamik der Bakterien ein zentrales Thema in der Literatur dar. Krankheitserreger werden im Grundwasser in der Regel über Fließstrecke und Zeit reduziert, was mit molekularbiologischen Methoden exakter nachzuvollziehen ist, als durch klassische Kultivierungsmethoden. Im Sinne eines Multibarrierenprinzips und zur Ausweisung von Schutzzonen ist die Kenntnis über das Verhalten von Organismen im Untergrund unabdinglich. Weiters kann ein mikrobielles „source tracking“ (Mayer 2018) helfen, die Ursachen für eine bakterielle Belastung im Grundwasser zu identifizieren, um im Falle einer Verwendung als Rohwasser für die Trinkwasseraufbereitung die Ursachen erkennen zu können.

4.4 Gewässer

Während die Anwendung in Trinkwasser, Abwasser und Grundwasser bereits eine gewisse Zeit lang erfolgt, erlangt – abgesehen von der Analyse der Bakterienbiozönose in Gewässern - die Anwendung von molekularbiologischen Methoden im Gewässer im Zusammenhang mit den traditionellen biologischen Qualitätselementen Makrozoobenthos, Phytobenthos und Fische erst in jüngster Zeit eine breitere Bedeutung.

Auf die Anwendung molekularbiologischer Methoden für ein quantitatives Bakterienmonitoring insbesondere von Fäkalmarkern in Gewässern sei auf Mayer et al. (2018) in diesem Tagungsband verwiesen. Dort wird auch näher auf ein Potential der Methodik eingegangen, indem es durch die genetischen Merkmale innerhalb einer Bakterienart möglich ist zu unterscheiden, woher eine Fäkalbelastung stammt („source tracking“). Insbesondere für die Etablierung zielgerichteter Vermeidungsmaßnahmen im Rohwasser der Trinkwasserversorgung ist es wichtig zu wissen, woher eine fäkale Verunreinigung stammt (Wildtiere; Kulturtiere; Mensch).

In jüngster Zeit werden molekularbiologische Methoden auch zur Bestimmung von Makrozoobenthos (Keeleya et al. 2018) und Fischen in Gewässern (Tillotsona 2018) eingesetzt. So wird bei Tillotsona et al. (2018) etwa in der Umwelt vorhandene DNA aus der Wasserphase oder dem Sediment herangezogen, um das Abblachen von Fischen im Gewässer nachzuweisen. Auch in Österreich werden entsprechende Projekte zu Makrozoobenthos (Graf 2018) und Fischen (FFG-Projekt „eDNA-AlpFish“) durchgeführt.

5 Literatur

- Bailón-Salas, A.M., Medrano-Roldán, H., Valle-Cervantes, S., Ordaz-Díaz, L.A., Urtiz-Estrada, N., Rojas-Contreras, J.A (2017) Review of Molecular Techniques for the Identification of Bacterial Communities in Biological Effluent Treatment Facilities at Pulp and Paper Mills Bacterial communities. *BioResources* 12(2), 4384-4409
- Christgen, B., Yang, Y., Ahammad, S.Z., Li, B., Rodriquez, C., Zhang, T. Graham, D.W (2015) Metagenomics Shows That Low-Energy Anaerobic–Aerobic Treatment Reactors Reduce Antibiotic Resistance Gene Levels from Domestic Wastewater. *Environmental Science & Technology* 49(4), 2577-2584.
- Daims H. (2018) Stickstoffkreisläufe in der Abwasserreinigung – neue und bewährte Wege, *Wiener Mitteilungen* 247, 29-44
- Graf, W. (2018) in ABOL – The Austrian Barcode of Life
<https://www.abol.ac.at/project/assoziertes-projekt-dna-barcoding-der-koecher-und-steinfliegen-vorarlbergs/>
- Jiang,X-T, Guo, F., Zhang, T (2016) Population Dynamics of Bulking and Foaming Bacteria in a Full-scale Wastewater Treatment Plant over Five Years. *Nature Scientific Reports* 6:24180
- Keeleya, N., Wood, S., Pochon, X (2018) Development and preliminary validation of a multi-trophic metabarcoding biotic index for monitoring benthic organic enrichment. *Ecological Indicators* 85 1044–1057
- Lackner, S. (2018) Deammonifikation im Hauptstrom – Konzepte und Herausforderungen, *Wiener Mitteilungen* 247, 195-210

- Leddy, M.B., Plumlee, M.H., Kantor, R.S, Nelson, K.L., Miller, S.E., Kennedy, L.C., Stamps, B.W., Spear, J.R, Hasan, N.A, Colwell, R.R (2018) High-Throughput DNA Sequencing To Profile Microbial Water Quality of Potable Reuse, *Water Online*, January 24, 2018
- Li., Ch., Xia., F., Zhang, Y., Chang, Ch.Ch, Wie, D., Ei, L. (2017) Molecular Biological Methods in Environmental Engineering. *Water Environment Research*, 89/10 942-959
- Mahendra, S., Gedalanga., P., Kotay, S.M., Torres, C.I., Butler, C.S. Goe, R (2012) Advancements in Molecular Techniques and Applications in Environmental Engineering. *Water Environment Research*, 84/10 814-844
- Mayer, R.E., Karlb, M., Linke, R., Kirschner, A., Reischer, G.H., Sommer, R., M. Zessner, Savio, D., Farnleitner, A.H. (2018) Analytik fäkaler mikrobiologischer Verunreinigungen im Zeitalter der molekularbiologischen Diagnostik, *Wiener Mitteilungen* 247, 45-52
- Mielczarek, A.T., Nguyen, H.T.T., Nielsen, J.L, Nielsen, P.H (2013) Population dynamics of bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal in Danish wastewater treatment plants, *Water Research* 47 1529-1544
- Nettmann, E., Wichern, M. (2018) Molekularbiologische Methoden in der Klärwerkspraxis, *Wiener Mitteilungen* 247, 101-118
- Okabe, S., Kindaichi, T., Ito, T. (2004) MAR-FISH - An Ecophysiological Approach to Link Phylogenetic Affiliation and In Situ Metabolic Activity of Microorganisms at a Single-Cell Resolution. *Microbes Environ.* 19/2, 83–98
- Shchegolkova, N.M., Krasnov, G.S., Belova, A.A., Dmitriev, A.A., Kharitonov, S.L., Klimina, K.M., Melnikova, N.V., Kudryavtseva, A.V. (2016) Microbial Community Structure of Activated Sludge in Treatment Plants with Different Wastewater Compositions. *Frontiers in Microbiology* 7/90
- Tillotsona, M.T., Kellyb, R.P., Dudac, J.J., Hoyc, M., Kraljic, J. Quinna, P.Q (2018) Concentrations of environmental DNA (eDNA) reflect spawning salmon abundance at fine spatial and temporal scales *Biological Conservation* 220, 1–11
- Wögerbauer M. (2018) Molekularbiologische Methoden in der Umweltforschung, *Wiener Mitteilungen* 247, 1-16

Korrespondenz an:

Dr. Norbert Kreuzinger

Technische Universität Wien
Institut für Wassergüte, Ressourcenmanagement und Abfallwirtschaft

Karlsplatz 13/226-1
1040 Wien

Tel.: +43 (0)1 58801-22622
Mail: norbkreu@iwag.tuwien.ac.at

Stickstoffkreisläufe in der Abwasserreinigung – neue und bewährte Wege

Holger Daims

Department für Mikrobiologie und Ökosystemforschung, Universität Wien,
Althanstrasse 14, 1090 Wien

Abstract:

Der klassische Weg zur Stickstoff-Eliminierung in Kläranlagen beruht auf der Kombination von Nitrifikation und Denitrifikation. In den letzten Jahren haben molekularbiologische Methoden eine Vielzahl neuer Einblicke in die Biologie der Nitrifikanten (Ammoniak- und Nitritoxidierer) ergeben. Diese Erkenntnisse beinhalten eine unerwartet hohe Diversität dieser Bakterien, alternative Stoffwechselwege sowie komplett allein nitrifizierende Mikroben (Comammox-Organismen). Das resultierende neue Bild der Nitrifikation weicht stark vom etablierten Lehrbuchwissen ab. Ein kosten- und energieeffizienterer Weg zur Stickstoff-Eliminierung nutzt die anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox-Prozess). Dieser Ansatz nutzt extrem langsam wachsende Bakterien und erfordert die selektive Unterdrückung bestimmter Organismen (Nitritoxidierer). Aus diesen Gründen ist der Anammox-Prozess zwar vielversprechend, die praktische Implementierung ist jedoch Gegenstand aktiver Forschungs- und Optimierungsarbeiten. Ein weiterer neuer Prozess, die nitrit-abhängige anaerobe Methanoxidation (n-damo), wird großtechnisch noch nicht eingesetzt. Insbesondere in Kombination mit Anammox könnte der n-damo Prozess zur gleichzeitigen Eliminierung von restlichem Methan und von Stickstoff interessant werden.

Key Words: Stickstoff-Eliminierung, Nitrifikation, Comammox, Anammox, n-damo

1 Stickstoff-Eliminierung: Der klassische Weg

Die Kombination aus Nitrifikation (aerob, chemolithoautotroph) und Denitrifikation (anaerob, chemoorganoheterotroph) findet breite Anwendung zur Stickstoff-Eliminierung aus kommunalen und industriellen Abwässern.

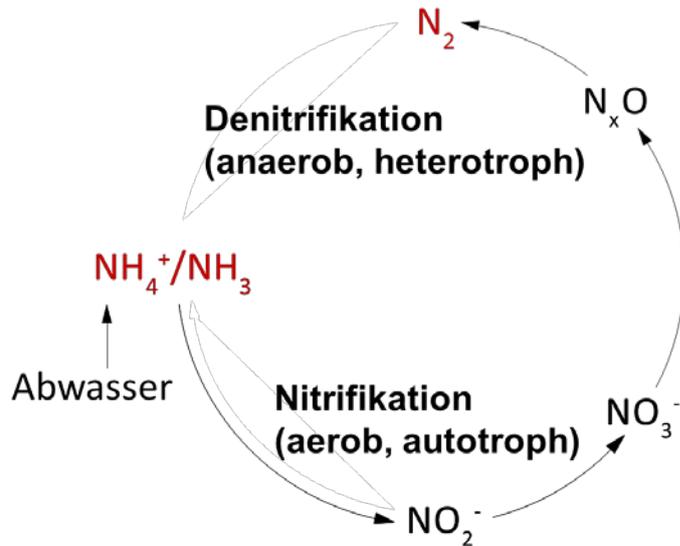


Abbildung 1: Nitrifikation und Denitrifikation zur Stickstoff-Eliminierung aus Abwasser.

Laut Lehrbüchern wird die Nitrifikation stets von zwei Organismengruppen durchgeführt: Ammoniak-oxidierenden Bakterien (AOB) der Gattung *Nitrosomonas* und Nitrit-oxidierenden Bakterien (NOB) der Gattung *Nitrobacter*. Diese vereinfachte Sichtweise gilt inzwischen als überholt.

1.1 Kultivierungsabhängiger und –unabhängiger Nachweis von Nitrifikanten

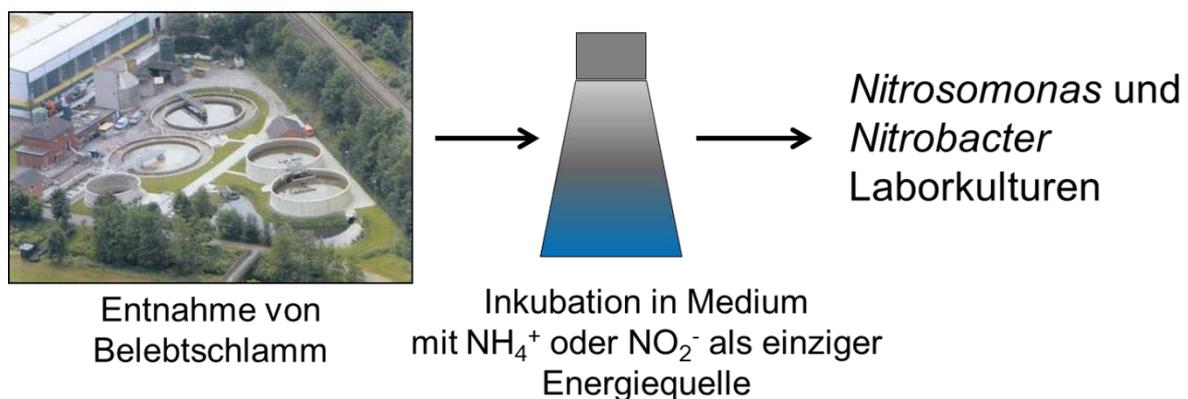


Abbildung 2: Traditionelles Verfahren zur Kultivierung von Nitrifikanten aus Kläranlagen.

Die Labor-Kultivierung von Nitrifikanten aus Kläranlagen nach „bewährtem Rezept“ ergibt fast immer Reinkulturen von *Nitrosomonas europaea* (AOB) oder *Nitrobacter*-Arten (NOB).

Diese Organismen wurden über viele Jahre als Modell-Nitrifikanten untersucht. Über ihre Physiologie, Biochemie und Wachstumskinetik ist daher viel bekannt. Diese Daten wurden und werden auch zur Planung und Anlagenführung nitrifizierender Kläranlagen herangezogen.

Der Einsatz kultivierungs-unabhängiger molekularbiologischer Methoden ergibt jedoch ein ganz anderes Bild. Beispiele solcher Methoden sind die PCR-Amplifizierung und Sequenzierung von 16S rRNS-Genen, oder die Analyse funktioneller Gene der Nitrifikation (Ammoniak-Monooxygenase, *amoA* und Nitrit-Oxidoreduktase, *nxrB*) (Purkhold et al., 2000; Pester et al., 2014).

Hier wird, stellvertretend für ein umfangreiches Arsenal molekularer Methoden, die rRNS-gerichtete Fluoreszenz in situ-Hybridisierung (FISH) vorgestellt.

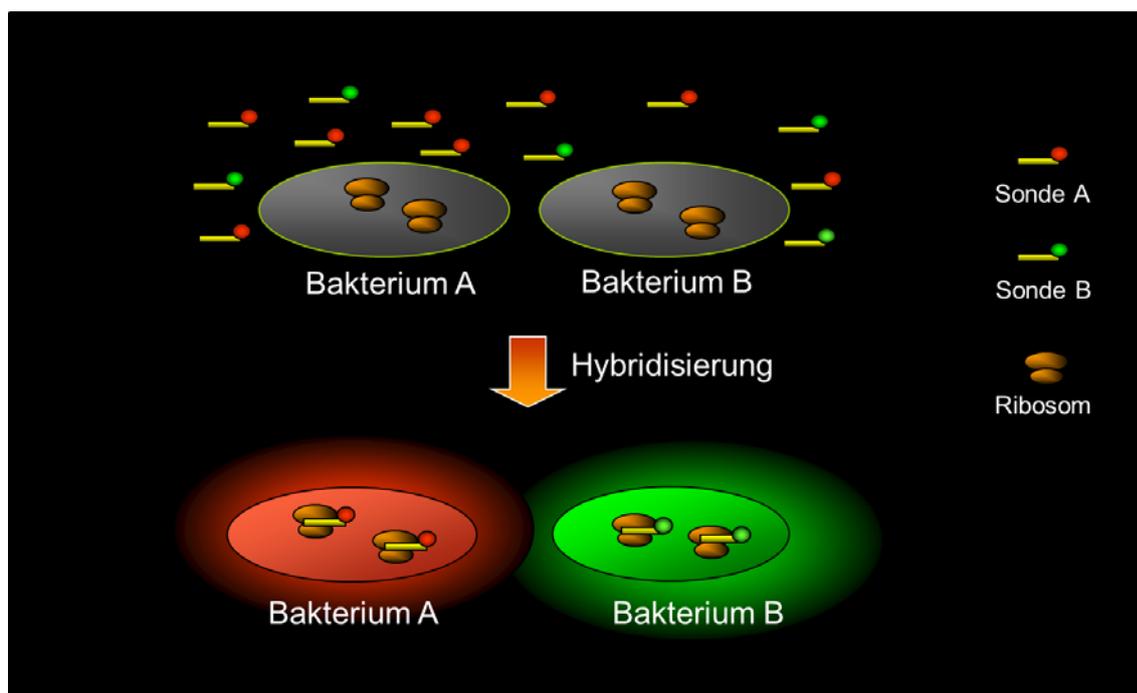


Abbildung 3: Prinzip der rRNS-gerichteten Fluoreszenz in situ-Hybridisierung (FISH).

Anwendungen von FISH sowie anderer molekularer Methoden auf Belebtschlämme und Biofilme haben eine überraschend große Diversität an nicht kultivierten AOB und NOB in Kläranlagen aufgedeckt (Juretschko et al., 1998; Schramm et al., 1998; Daims et al., 2001).

Häufige AOB-Arten und Linien in Kläranlagen sind:

- *Nitrosomonas europaea*
- *Nitrosomonas eutropha*
- *Nitrosomonas oligotropha* („Cluster 6a“)
- *Nitrosomonas mobilis*

Allerdings ist meist unbekannt, welche Faktoren auf bestimmte AOB-Populationen selektieren. Wahrscheinlich spielen die Ammonium- und Sauerstoffkonzentrationen, pH und Temperatur eine wichtige Rolle. Aber auch andere Faktoren, wie Details der Abwasserzusammensetzung (auch toxische Stoffe) oder das Auftreten AOB-spezifischer Bakteriophagen (Viren) könnten zur Selektion beitragen. Oft wird eine Koexistenz verschiedener AOB in derselben Anlage beobachtet.

Ein noch komplexeres Bild ergibt sich bei den Nitritoxidierern (NOB):

- In fast allen nitrifizierenden Anlagen treten NOB der Gattung *Nitrospira* auf. Besonders häufig sind *Nitrospira* der Linie 1 (*Nitrospira defluvii*) und der Linie 2 (*Nitrospira moscoviensis*) (Daims et al., 2001).
- Vor allem bei niedrigen Durchschnittstemperaturen < 15 °C sind Vertreter der Gattung *Nitrotoga* häufig. Diese Gattung gehört zu den Betaproteobakterien (Lücker et al., 2015).
- Zumindest zeitweise erhöhte Nitrit-Konzentrationen [z.B. in SB(B)R] begünstigen Vertreter der Gattung *Nitrobacter* (Alphaproteobakterien) (Daims et al., 2001) und der Gattung *Nitrolancea* (Chloroflexi) (Sorokin et al., 2012).
- Anlagen mit erhöhter Salinität (z.B. marine Aquakulturen) werden von marinen NOB der Gattung *Nitrospira* (Linie 4; *Nitrospira marina*) besiedelt (Keuter et al., 2011).

Fast alle NOB (außer *Nitrobacter*) sind extrem schwer oder gar nicht im Labor kultivierbar. Sie wachsen langsam und sind daher wenig untersucht.

1.2 Erfolg von *Nitrospira*: K- versus r-Strategen

Die NOB der Gattung *Nitrospira* sind extrem divers und erfolgreich. Diese NOB dominieren nicht nur in den meisten Kläranlagen, sondern auch in vielen natürlichen Lebensräumen (Daims et al., 2016).

Der Grund für den Erfolg von *Nitrospira* ist ihr ökonomischer Stoffwechsel (Lücker et al., 2010). Nitrit ist in der Natur ein seltenes Substrat. *Nitrospira* sind an extrem niedrige Nitrit-Konzentrationen angepasst und erreichen trotzdem hohe Populationsdichten (K-Strategen) (Schramm et al., 1999; Nowka et al., 2015).

Nitrobacter dagegen wächst zwar schneller als *Nitrospira*, benötigt aber deutlich höhere Nitrit-Konzentrationen (r-Strategie) (Schramm et al., 1999). In der Natur kommen erhöhte Stickstoff-Konzentrationen temporär vor (z.B. Laubfall, Abbau von Fäkalien und toter Biomasse).

1.3 Genom-basierte Einblicke in die Biologie von *Nitrospira*: drei widerlegte „Mythen der Nitrifikation“

Die Entschlüsselung des Erbguts von *Nitrospira*-Bakterien hat überraschende Einblicke ergeben, welche unser Bild der Nitrifikation grundlegend verändert haben.

Früher dachte man, (1) dass NOB stets von den AOB abhängig sind; (2) dass Nitrifikanten im Wesentlichen nichts anderes können als Ammoniak bzw. Nitrit zu oxidieren; und (3) dass stets AOB und NOB, also zwei verschiedene Organismen, die komplette Nitrifikation durchführen müssen.

Alle drei Annahmen haben sich inzwischen als falsch erwiesen.

1.3.1 NOB können die Nitrifikation starten

Allgemein wird angenommen, dass die Nitrifikation stets von AOB gestartet wird und dass NOB von den AOB abhängig sind.

Jedoch können viele NOB (unter anderem *Nitrospira*) Harnstoff mit dem Enzym Urease spalten. Dabei werden Ammoniak und CO₂ freigesetzt. Auf diese Weise „füttern“ NOB solche AOB, die selbst keinen Harnstoff spalten können (Koch et al., 2015).

Nitrospira moscoviensis

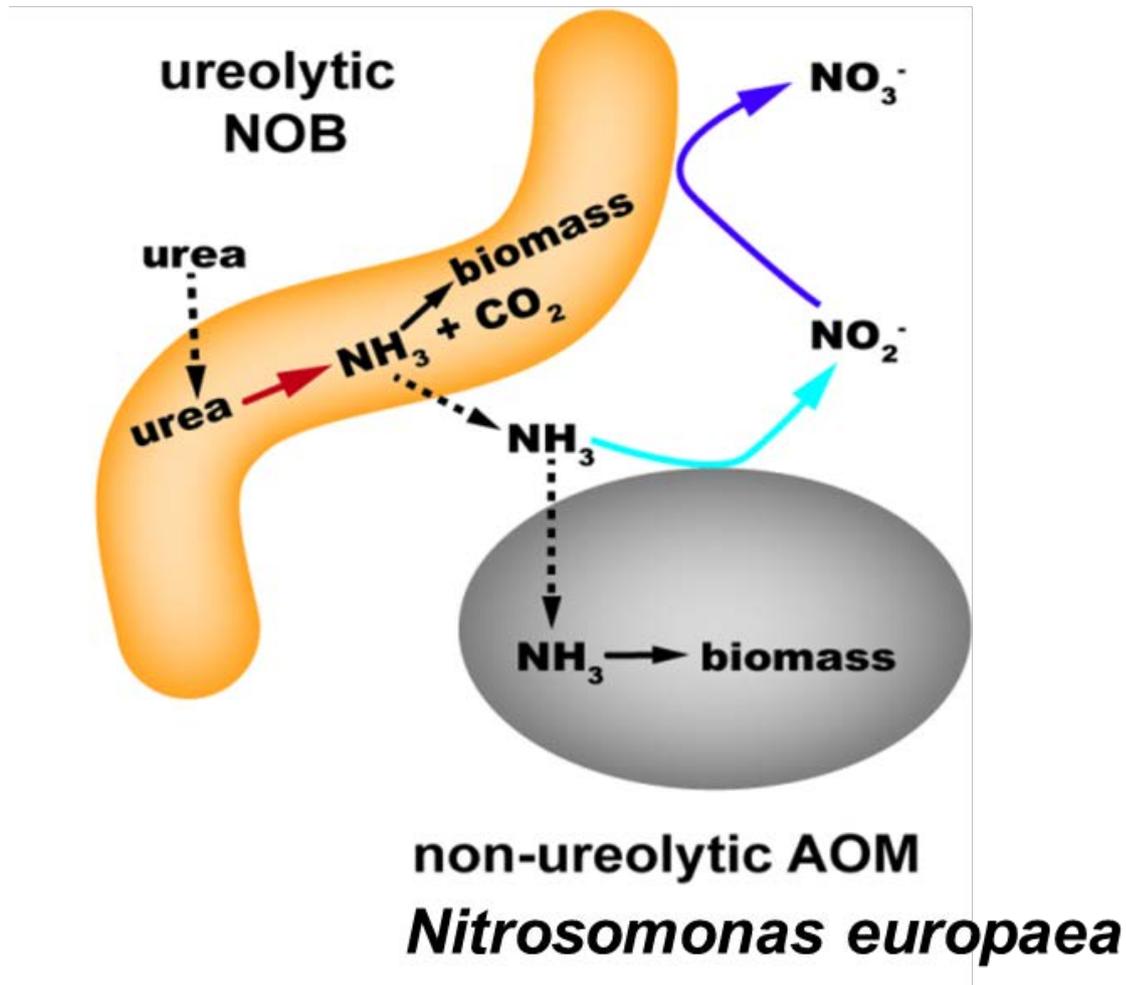


Abbildung 4: „Reziprokes Füttern“ zwischen Harnstoff-spaltenden NOB und AOB.
Quelle: (Koch et al., 2015) (modifiziert).

Je nach Zusammensetzung des Abwassers (Harnstoffgehalt) und der AOB- Populationen könnte den NOB somit eine nicht zu unterschätzende Bedeutung für den Start der Nitrifikation zukommen. Auch ermöglicht das „reziproke Füttern“ solchen AOB, die selbst keinen Harnstoff spalten können, das Überleben in Habitaten wo Harnstoff eine wichtige Ammonium-Quelle darstellt.

1.3.2 Viele NOB sind keine obligaten Nitrifikanten

In den Genomen von *Nitrospira*-Bakterien wurden die Gene alternativer Stoffwechselwege gefunden, die mit der Nitrifikation nichts zu tun haben. Ein Beispiel ist das Enzym Hydrogenase, das Wachstum auf molekularem Wasserstoff (H_2) ermöglicht (Koch et al., 2014).

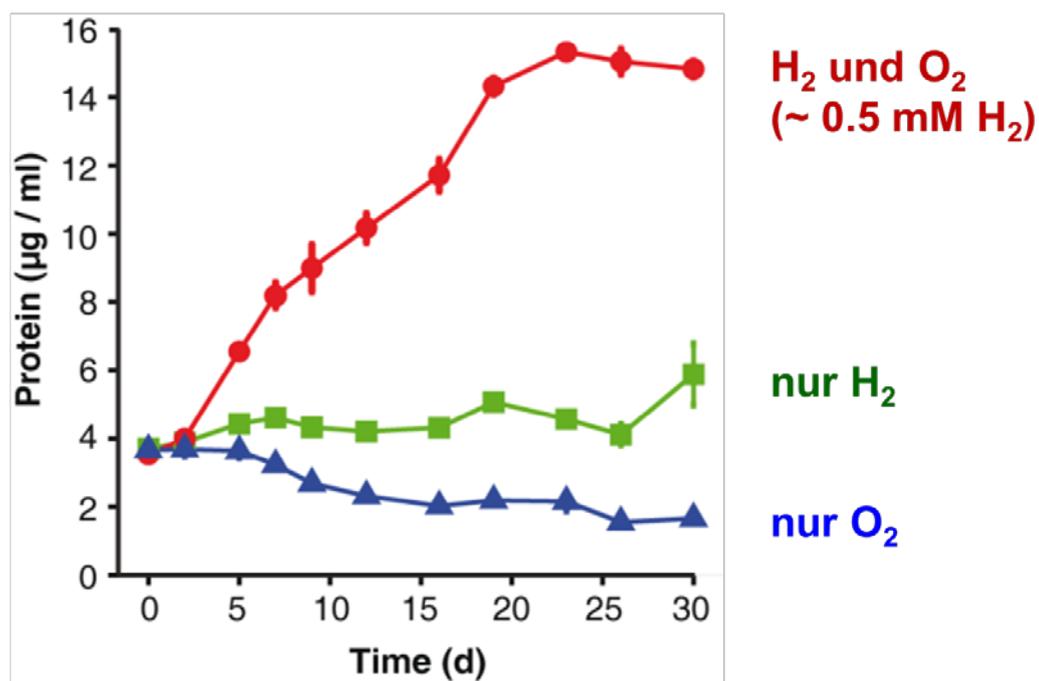


Abbildung 5: Wachstum von *Nitrospira moscoviensis* auf molekularem Wasserstoff.

Ein weiteres alternatives Substrat für *Nitrospira* ist Formiat (Koch et al., 2015). Sowohl H_2 als auch Formiat sind „Abfallprodukte“ gärender Mikroorganismen und stehen in oxisch-anoxischen Übergangszonen zur Verfügung.

Nitrospira können mit Sauerstoff atmen, aber auch Nitrat als terminalen Elektronenakzeptor verwenden (Reduktion von Nitrat zu Nitrit) (Koch et al., 2015). Somit können *Nitrospira*, je nach verfügbaren Substraten und Bedingungen, sogar Nitrit erzeugen anstatt es zu verbrauchen.

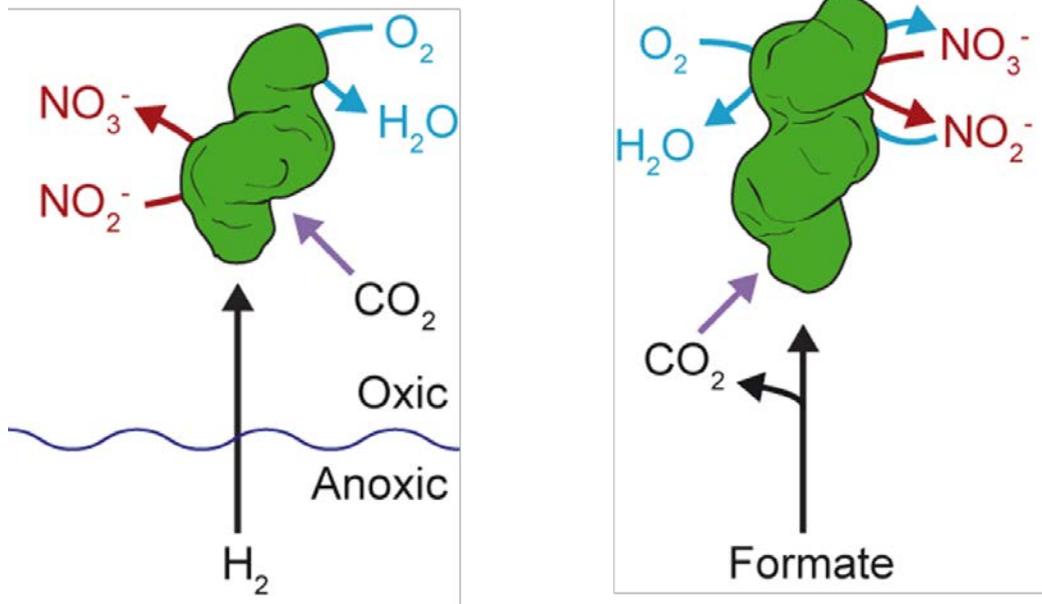


Abbildung 6: Schematische Darstellung der physiologischen Flexibilität von *Nitrospira*.

1.3.3 Comammox *Nitrospira* führen die komplette Nitrifikation allein durch

Der überraschendste Befund der letzten Jahre war die Entdeckung von *Nitrospira*-Bakterien, welche sowohl Ammoniak als auch Nitrit oxidieren können (Daims et al., 2015; van Kessel et al., 2015). Diese Organismen werden „complete ammonia oxidizers“ (Comammox) genannt. Alle bisher bekannten Comammox Bakterien gehören zu *Nitrospira* Linie 2. Die bislang einzige Comammox Reinkultur ist das Bakterium *Nitrospira inopinata* (inopinata = unerwartet) (Daims et al., 2015; Kits et al., 2017).

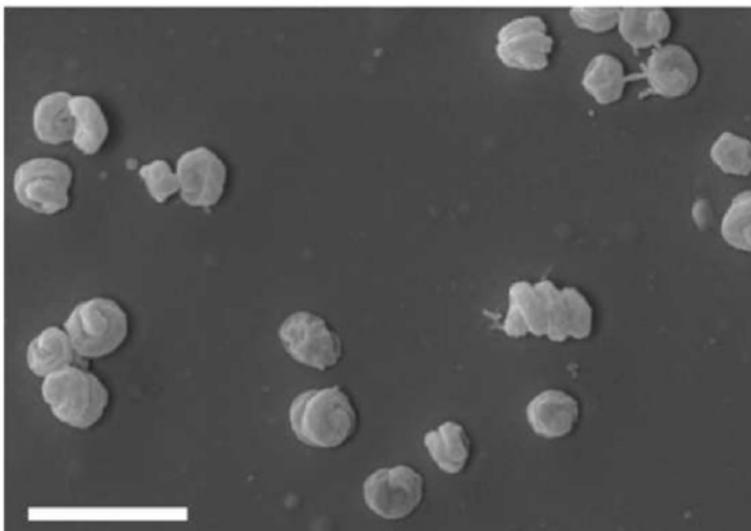


Abbildung 7: Das Comammox-Bakterium *Nitrospira inopinata* im Elektronenmikroskop. Größenbalken = 2 μm . Quelle: (Kits et al., 2017).

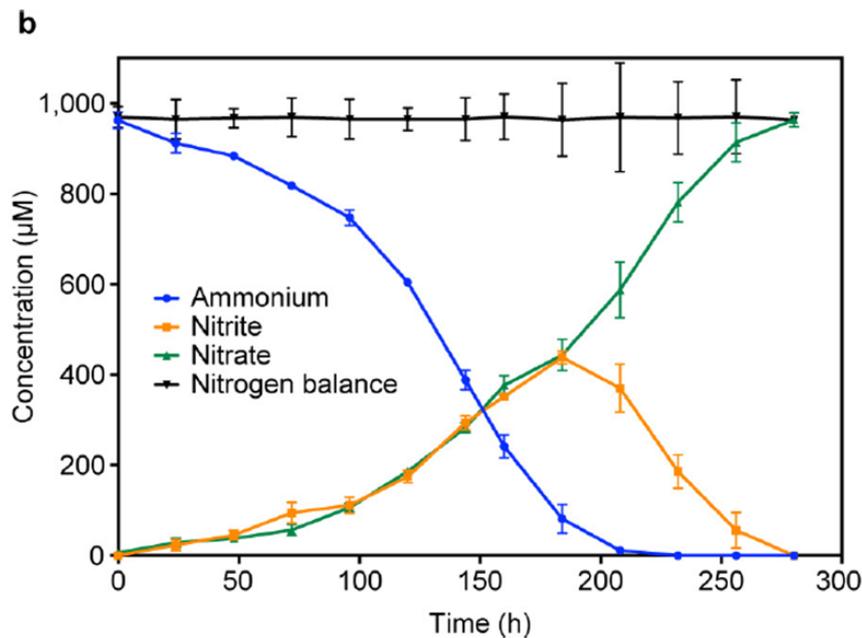


Abbildung 8: Komplett Nitrifikation durch die Reinkultur von *Nitrospira inopinata*. Zu beachten ist die temporäre Akkumulation von Nitrit. Quelle: (Kits et al., 2017).

Die Entdeckung von Comammox wirft viele Fragen auf bezüglich der Biochemie und Physiologie der kompletten Nitrifikation sowie der Verbreitung von Comammox Bakterien in der Natur und in technischen Systemen.

Mit vielen Methoden, z.B. FISH, kann man Comammox *Nitrospira* leider nicht von „normalen“ NOB unterscheiden. Jedoch besitzen Comammox *Nitrospira* eine ungewöhnliche Form des Enzyms Ammoniak Monooxygenase (AMO). Eines der AMO-Gene, das Gen *amoA*, ist zum eindeutigen Nachweis von Comammox *Nitrospira* in Umweltproben geeignet. Mit Hilfe quantitativer PCR des *amoA*-Gens lassen sich Comammox *Nitrospira* auch kultivierungsunabhängig quantifizieren (Pjevac et al., 2017).

amoA-basierte Studien haben ergeben, dass Comammox *Nitrospira* in Böden und Süßwasser-Lebensräumen weit verbreitet und teilweise häufig sind. In manchen Proben waren sie sogar die dominierenden Nitrifikanten (Pjevac et al., 2017).

Auch in nitrifizierenden Kläranlagen wurden Comammox *Nitrospira* nachgewiesen. Ihre Bedeutung für die Nitrifikation in technischen Systemen ist zurzeit Gegenstand intensiver Forschung. Eventuell lassen sich Comammox *Nitrospira* nutzen, um die Nitrifikation effizienter oder stabiler zu gestalten und um N₂O Emissionen zu verringern.

Comammox *Nitrospira* haben eine extrem hohe Substrataffinität für Ammoniak (im nanomolaren Bereich; AOB dagegen im mikromolaren Bereich) (Kits et al., 2017). Auch ist der Biomasse-Ertrag (Yield) pro verbrauchtem Mol Ammoniak von Comammox deutlich größer als der von AOB. Comammox *Nitrospira* sind somit besonders effiziente Nitrifikanten, die hervorragend mit geringen Substratkonzentrationen zurechtkommen. Ihre Nitrifikationsrate ist allerdings geringer als die „normaler“ AOB (Kits et al., 2017).

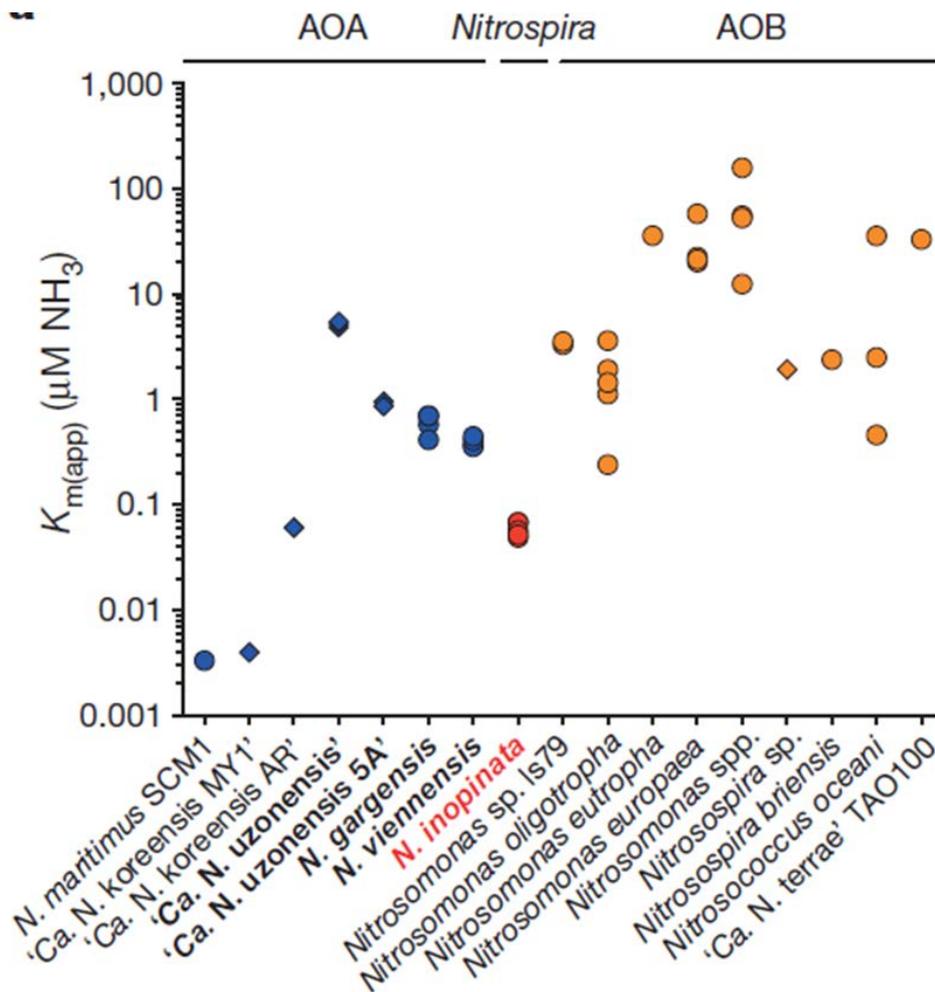


Abbildung 9: Substrataffinität (apparenter K_m -Wert) ammoniak-oxidierender Mikroorganismen. AOA=Ammoniak-oxidierende Archaea; diese Organismen spielen in Kläranlagen in Mitteleuropa nach heutigem Wissensstand keine bedeutende Rolle. Quelle: (Kits et al., 2017).

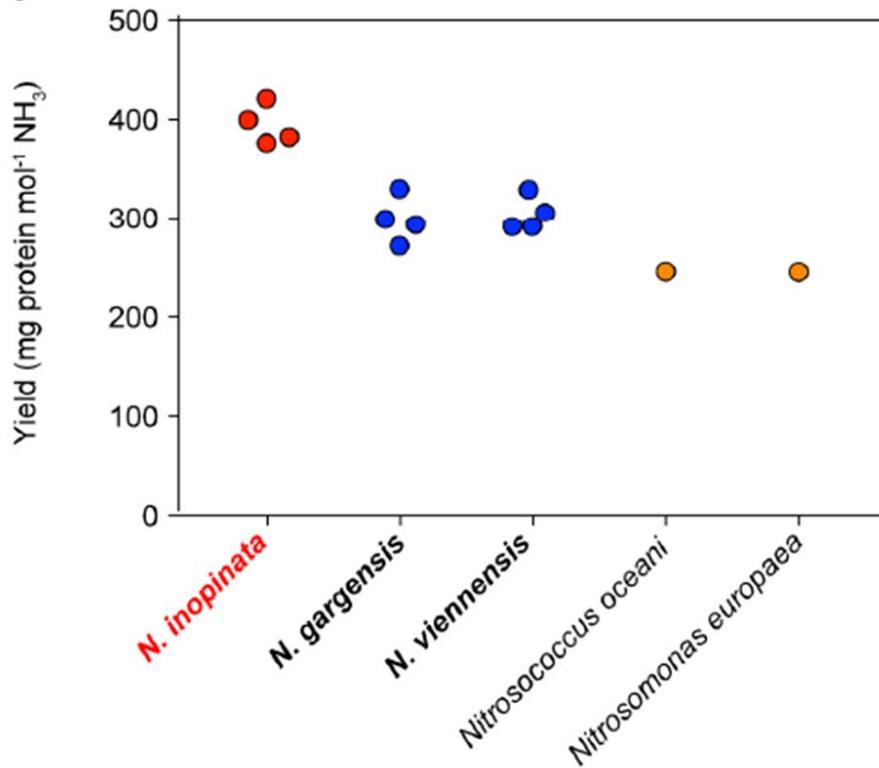


Abbildung 10: Biomasse-Ertrag (Yield) pro Mol oxidiertem Ammoniak einiger ammoniak-oxidierender Mikroorganismen. Comammox (*N. inopinata*) hat den höchsten Ertrag aller untersuchten Ammoniak-Oxidierer. Quelle: (Kits et al., 2017).

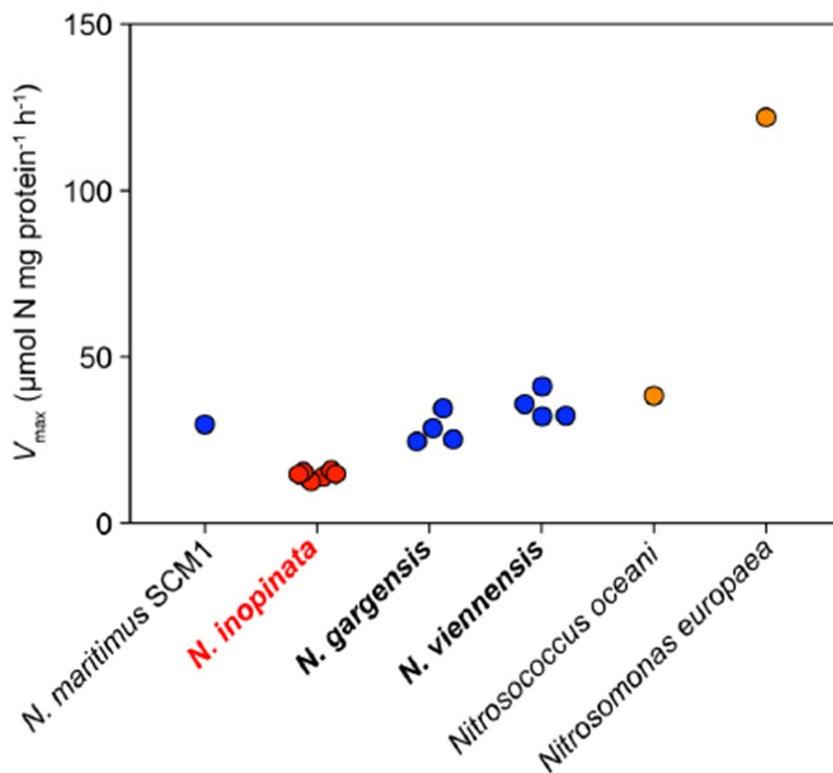


Abbildung 11: Nitrifikationsrate einiger ammoniak-oxidierender Mikroorganismen, auf Biomasse (mg Protein) normalisiert. Quelle: (Kits et al., 2017).

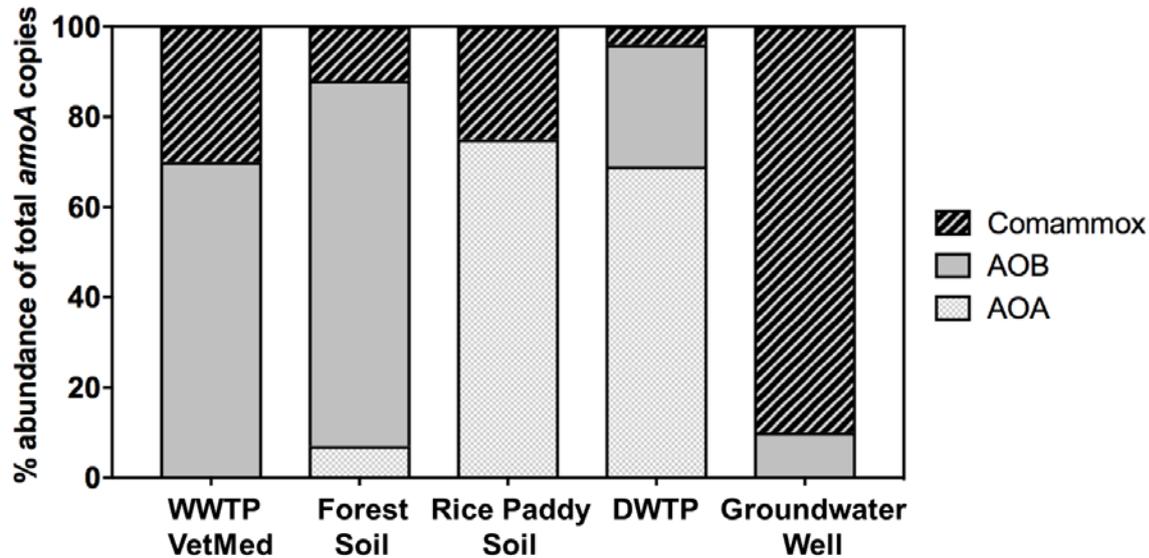


Abbildung 12: Relative Häufigkeiten von AOA, AOB und Comammox *Nitrospira* in ausgewählten natürlichen und technischen Systemen. DWTP=Drinking water treatment plant; WWTP=Wastewater treatment plant. Die Häufigkeiten wurden mittels quantitativer PCR der *amoA*-Gene gemessen. Quelle: (Pjevac et al., 2017).

2 Stickstoff-Eliminierung durch anaerobe Ammonium-Oxidation (Anammox)

Die anaerobe Ammonium-Oxidation (Anammox-Prozess) wird von bestimmten Bakterien katalysiert, welche zur Hauptentwicklungslinie (Phylum) der Planktomyceten gehören (Strous et al., 1999).

Im Anammox-Prozess wird Ammonium durch Nitrit oxidiert; das Endprodukt ist molekularer Stickstoff (N_2). Außerdem entsteht etwas Nitrat (5-15% des umgesetzten Ammoniums). Der Prozess verläuft vollkommen anaerob; Anammox-Bakterien sind sauerstoffempfindlich. Es handelt sich um einen chemolithoautotrophen Prozess, d.h., Anammox-Bakterien fixieren CO_2 als Kohlenstoffquelle.

Die Biochemie von Anammox ist äußerst komplex und noch nicht alle Aspekte sind restlos aufgeklärt. Nitrit wird intern zu NO reduziert, welches das eigentliche Oxidationsmittel für das Ammonium darstellt. Dann kondensieren Ammonium und NO zuerst zum höchst toxischen Hydrazin (N_2H_4), welches anschließend zu N_2 oxidiert wird (Strous et al., 2006; Kartal et al., 2013).

Im Zulauf eines Anammox-Reaktors befinden sich idealerweise Ammonium und Nitrit im Verhältnis 1:1. Dies kann durch einen vorgeschalteten Sharon-Reaktor erreicht werden (Sharon=single reactor system for high ammonia removal over

nitrite) (van Dongen et al., 2001). Im kontinuierlich betriebenen Sharon-Reaktor wird Ammonium durch aerobe AOB zu Nitrit oxidiert, wobei NOB aufgrund der hohen Temperatur und des kurzen Schlammalters ausgewaschen werden, so dass die Nitratbildung weitestgehend unterdrückt wird.

Einstufige Ansätze basieren darauf, dass aerobe AOB und Anammox-Bakterien im selben Reaktor koexistieren (Third et al., 2001). Hierbei kommt es auf die richtige Sauerstoff-Dosierung an, damit NOB unterdrückt werden und die aerobe Nitrifikation stoppt, wenn ca. 50% des Ammoniums aus dem Zulauf zu Nitrit oxidiert wurden. Aufgrund der physiologischen Flexibilität der NOB (siehe oben, *Nitrospira*) gelingt es jedoch nicht immer, diese Organismen dauerhaft zu unterdrücken. Andererseits können *Nitrospira*-Bakterien auch als Ammoniakoxidierer (Comammox) zur Umwandlung des Ammoniums beitragen.

Aufgrund des sehr langsamen Wachstums der Anammox-Bakterien (Generationszeit > 10 Tage) und der komplexen Mikrobiologie in Anammox-Reaktoren eignet sich das Verfahren vor allem im Nebenstrom zur Trübwasserbehandlung. Zur Anwendbarkeit im Hauptstrom wird gearbeitet (Wett et al., 2015; Han et al., 2016).

3 Nitrit-abhängige anaerobe Methanoxidation

Normalerweise ist die Oxidation von Methan zu CO₂ ein aerober Prozess. Seit einigen Jahren ist jedoch bekannt, dass Bakterien der Entwicklungslinie „NC10“ unter anaeroben Bedingungen Methan oxidieren können. Dafür reduzieren diese Organismen Nitrit zu NO, welches anschließend in N₂ und O₂ gespalten wird (Ettwig et al., 2010). Der so selbst produzierte Sauerstoff wird dann zur Methanoxidation nach bekannter Biochemie verwendet. Dies wird als „intra-oxischer“ Stoffwechsel bezeichnet, weil die Bakterien den notwendigen Sauerstoff selbst aus einem anderen Substrat (hier: NO) erzeugen. Dieser außergewöhnliche Stoffwechsel wurde an dem Bakterium *Methylomirabilis oxyfera* gezeigt (Ettwig et al., 2010). Der Prozess wird entsprechend n-damo (nitrite-dependent anaerobic methane oxidation) genannt.

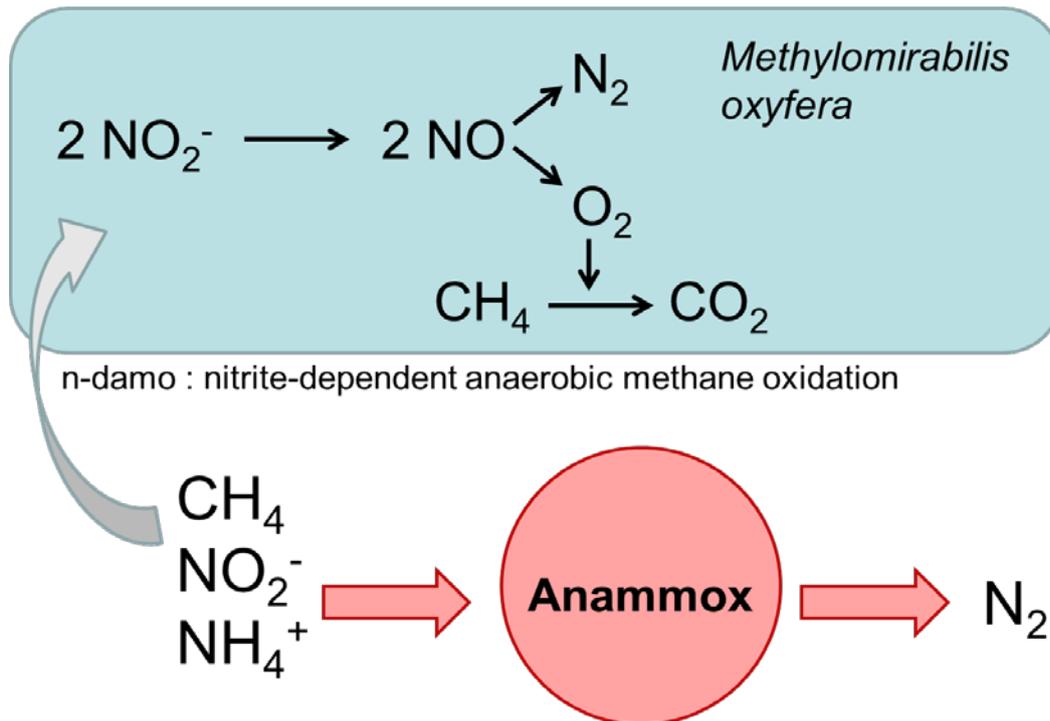


Abbildung 13: Schematische Darstellung des n-damo Prozesses und der Kombination mit Anammox zur gleichzeitigen Eliminierung von Methan und Stickstoff.

Theoretisch könnte n-damo in Kombination mit Anammox technisch eingesetzt werden (z.B. zur Trübwasserbehandlung). Dies ist Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten (Winkler et al., 2015).

4 Literatur

- Daims, H., Lücker, S., and Wagner, M. (2016) A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria. *Trends Microbiol* 24: 699-712.
- Daims, H., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H., Schleifer, K.H., and Wagner, M. (2001) In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol* 67: 5273-5284.
- Daims, H., Lebedeva, E.V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M. et al. (2015) Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature* 528: 504-509.
- Ettwig, K.F., Butler, M.K., Le Paslier, D., Pelletier, E., Mangenot, S., Kuypers, M.M. et al. (2010) Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature* 464: 543-548.
- Han, M., Vlaeminck, S.E., Al-Omari, A., Wett, B., Bott, C., Murthy, S., and De Clippeleir, H. (2016) Uncoupling the solids retention times of flocs and granules in mainstream deammonification: A screen as effective out-selection tool for nitrite oxidizing bacteria. *Bioresour Technol* 221: 195-204.

- Juretschko, S., Timmermann, G., Schmid, M., Schleifer, K.-H., Pommerening-Röser, A., Koops, H.-P., and Wagner, M. (1998) Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations. *Appl Environ Microbiol* 64: 3042-3051.
- Kartal, B., de Almeida, N.M., Maalcke, W.J., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., and Keltjens, J.T. (2013) How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. *FEMS Microbiol Rev* 37: 428-461.
- Keuter, S., Kruse, M., Lipski, A., and Spieck, E. (2011) Relevance of *Nitrospira* for nitrite oxidation in a marine recirculation aquaculture system and physiological features of a *Nitrospira marina*-like isolate. *Environ Microbiol* 13: 2536-2547.
- Kits, K.D., Sedlacek, C.J., Lebedeva, E.V., Han, P., Bulaev, A., Pjevac, P. et al. (2017) Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature* 549: 269-272.
- Koch, H., Lücker, S., Albertsen, M., Kitzinger, K., Herbold, C., Spieck, E. et al. (2015) Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 11371-11376.
- Koch, H., Galushko, A., Albertsen, M., Schintlmeister, A., Gruber-Dorninger, C., Lücker, S. et al. (2014) Growth of nitrite-oxidizing bacteria by aerobic hydrogen oxidation. *Science* 345: 1052-1054.
- Lücker, S., Schwarz, J., Gruber-Dorninger, C., Spieck, E., Wagner, M., and Daims, H. (2015) Nitrotoga-like bacteria are previously unrecognized key nitrite oxidizers in full-scale wastewater treatment plants. *ISME J* 9: 708-720.
- Lücker, S., Wagner, M., Maixner, F., Pelletier, E., Koch, H., Vacherie, B. et al. (2010) A *Nitrospira* metagenome illuminates the physiology and evolution of globally important nitrite-oxidizing bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 13479-13484.
- Nowka, B., Daims, H., and Spieck, E. (2015) Comparison of oxidation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria: nitrite availability as a key factor in niche differentiation. *Appl Environ Microbiol* 81: 745-753.
- Pester, M., Maixner, F., Berry, D., Rattei, T., Koch, H., Lücker, S. et al. (2014) NxrB encoding the beta subunit of nitrite oxidoreductase as functional and phylogenetic marker for nitrite-oxidizing *Nitrospira*. *Environ Microbiol* 16: 3055-3071.
- Pjevac, P., Schauburger, C., Poghosyan, L., Herbold, C.W., van Kessel, M.A.H.J., Daebeler, A. et al. (2017) AmoA-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment. *Front Microbiol* 8: 1508.
- Purkhold, U., Pommering-Röser, A., Juretschko, S., Schmid, M.C., Koops, H.-P., and Wagner, M. (2000) Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys. *Appl Environ Microbiol* 66: 5368-5382.
- Schramm, A., de Beer, D., Wagner, M., and Amann, R. (1998) Identification and activities in situ of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. as dominant populations in a nitrifying fluidized bed reactor. *Appl Environ Microbiol* 64: 3480-3485.

- Schramm, A., de Beer, D., van den Heuvel, J.C., Ottengraf, S., and Amann, R. (1999) Microscale distribution of populations and activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a macroscale gradient in a nitrifying bioreactor: quantification by in situ hybridization and the use of microsensors. *Appl Environ Microbiol* 65: 3690-3696.
- Sorokin, D., Lücker, S., Vejmelkova, D., Kleebezem, R., Muyzer, G., Sinningh-Damsté, J. et al. (2012) Nitrification expanded: Discovery, physiology, and genomics of a nitrite-oxidizing bacterium from the phylum Chloroflexi. *ISME J* 6: 2245-2256.
- Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T. et al. (1999) Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* 400: 446-449.
- Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M.W. et al. (2006) Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature* 440: 790-794.
- Third, K.A., Sliemers, A.O., Kuenen, J.G., and Jetten, M.S.M. (2001) The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria. *System Appl Microbiol* 24: 588-596.
- van Dongen, U., Jetten, M.S., and van Loosdrecht, M.C. (2001) The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci Technol* 44: 153-160.
- van Kessel, M.A.H.J., Speth, D.R., Albertsen, M., Nielsen, P.H., Op den Camp, H.J.M., Kartal, B. et al. (2015) Complete nitrification by a single microorganism. *Nature* 528: 555-559.
- Wett, B., Podmirseg, S.M., Gomez-Brandon, M., Hell, M., Nyhuis, G., Bott, C., and Murthy, S. (2015) Expanding DEMON sidestream deammonification technology towards mainstream application. *Water Environ Res* 87: 2084-2089.
- Winkler, M.K.H., Ettwig, K.F., Vannecke, T.P.W., Stultiens, K., Bogdan, A., Kartal, B., and Volcke, E.I.P. (2015) Modelling simultaneous anaerobic methane and ammonium removal in a granular sludge reactor. *Water Res* 73: 323-331.

Korrespondenz an:

Univ.-Prof. Dr. Holger Daims

Department für Mikrobiologie und Ökosystemforschung, Universität Wien
Althanstrasse 14, 1090 Wien

Tel.: 01 / 4277 76604

Mail: daims@microbial-ecology.net

Analytik fäkaler mikrobiologischer Verunreinigungen im Zeitalter der molekularbiologischen Diagnostik

R.E. Mayer^{a*}, M. Karl^b, R. Linke^{a*}, A. Kirschner^{b, c*}, G. H. Reischer^{a*},
R. Sommer^{c*}, M. Zessner^d, D. Savio^{b*}, A.H. Farnleitner^{a,b*}

a: TU Wien, Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik & technische Biowissenschaften,
Gumpendorfer Straße 1a, A-1060 Wien.

b: Karl Landsteiner Privatuniversität für Gesundheitswissenschaften, Department Pharmakologie,
Physiologie und Mikrobiologie, Fachbereich Wasserqualität & Gesundheit Dr.-Karl-Dorrek-Straße 30
3500 Krems a. d. Donau

c: Medizinische Universität Wien, Institut für Hygiene & Angewandte Immunologie, Wasserhygiene,
Kinderspitalgasse 15, 1090 Wien

d: TU Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement, Karlsplatz 13,
A-1040 Wien

*Interuniversitäres Kooperationszentrum für Wasser und Gesundheit
(ICC Water & Health, www.waterandhealth.at)

Abstract: Der vorliegende Artikel ist als erweiterte Einführung und Informationsgrundlage zu dem Vortrag „Analytik fäkaler mikrobiologischer Verunreinigungen im Zeitalter der molekularbiologischen Diagnostik“ von A. Farnleitner bei der ÖWAV Tagung 2018 ausgeführt.

Die moderne molekularbiologische Analytik zur Detektion von Fäkalkontaminationen in Wasser und deren Herkunftsbestimmung (mikrobielle Spurenverfolgung) entwickelte sich in den letzten Jahren rasant. Es wird eine kurze Einführung in die Thematik gegeben sowie weiterführende deutschsprachige Literatur angeführt. Darüber hinaus werden neue Forschungsergebnisse zum Vorkommen von Mensch-assoziierten genetischen Fäkalmarkern in Roh- und gereinigtem Abwasser von kommunaler bzw. häuslicher Herkunft aus einer kürzlich durchgeführten Studie präsentiert. Die Resultate zeigen eindrucksvoll das ubiquitäre Auftreten dieser Fäkalmarker in Abwasser menschlicher Herkunft in hohen Konzentrationen und indizieren deren Nützlichkeit bei der spezifischen Detektion fäkaler Einträge in Wasser und Gewässer.

Key Words: Wasserqualität und Gesundheit, fäkale Indikatorbakterien, *E. coli*, Enterokokken, Mensch-assoziiertes genetischer Fäkalmarker, *Bacteroidetes* Marker, humane Adenoviren, humane JC Polyomaviren, Microbial Source Tracking, Microbial Risk Assessment.

1 Bedeutung und Methodik des Nachweises fäkaler Verschmutzungen

Sauberes Wasser ist eine der wertvollsten natürlichen Ressourcen für das menschliche Leben. Es dient als Lebensmittel findet aber auch Verwendung in der Landwirtschaft, der Industrie, sowie als Badewasser und für Freizeitaktivitäten. Um in Zukunft sauberes Wasser zu sichern müssen innovative Ansätze sowohl in der Diagnostik als auch in der Reinhaltung sowie dem Schutz vor fäkalen Verschmutzungen von Wasserressourcen (d.h. Trinken, Baden, Bewässerung, etc.) verfolgt werden. Die Hauptquelle für mikrobiologische Wasserkontaminationen sind menschliche sowie tierische Fäkalien, welche potentiell sehr hohe Konzentrationen an intestinalen Krankheitserregern aufweisen können.

Die Analyse der mikrobiologischen Wasserqualität beruht seit den Arbeiten von Robert Koch vor mehr als 100 Jahren, vorwiegend auf dem kultivierungsbasierten Nachweis von Indikatororganismen. In diesem Zusammenhang liefern standardisierte Methoden zum Nachweis von Fäkalibakterien (z.B. *E. coli*, Enterokokken) essentielle Informationen über den generellen Grad der fäkalen Belastung von Wasser. Diese Verfahren bilden die methodische Basis bei vielen Überwachungsprogrammen zur Detektion fäkaler Einträge. Aussagen über die Herkunft der fäkalen Verschmutzung (z.B. Tier vs. Mensch) sind in der Regel mit diesen Techniken jedoch nicht möglich¹. Die Herkunftsbestimmung fäkaler Verunreinigungen hat aber nicht nur Bedeutung hinsichtlich der Beurteilung des hygienischen Risikos, das mit der Nutzung eines Gewässers verbunden ist, sondern erlaubt es auch zielgerichtete Schutzmaßnahmen im Einzugsgebiet vorzunehmen.

Bereits in den 1970er Jahren wurde damit begonnen Methoden zu entwickeln, die eine Herkunftsbestimmung fäkaler Einträge in Gewässer erlauben („Microbial Source Tracking“; MST). Seit damals sind viele komplexe Verfahren entwickelt worden jedoch ist man von einer Standardisierung dieser noch weit entfernt.

Verursacher fäkaler Verunreinigungen können über den Nachweis diagnostischer Desoxyribonukleinsäure-Abschnitte (DNS-Abschnitte; genetische Marker) in wirtsassoziierten Bakterien sowie human- oder tierpathogenen Viren mittels molekularbiologischer Methoden identifiziert werden. Eine andere Methode zur Identifikation der Verursacher fäkaler Verunreinigungen erfolgt über den Nachweis von mitochondrialen DNS-Abschnitten, welche artspezifisch sind und eine eindeutige Zuordnung der Quelle ermöglichen. Des Weiteren werden zur Unterstützung der Analytik auch abwasserspezifische chemische Stoffe (z.B. Medikamente, Koffein und optische Zahnaufheller) in Gewässern und Wasser untersucht².

Der Schwerpunkt der Forschungsarbeiten wurde in den letzten Jahren auf die Entwicklung von quantitativen Polymerase Kettenreaktionen (PCR) Verfahren zum genetischen Nachweis von *Bacteroidetes* 16S rDNS Markern gelegt. *Bacteroidetes* sind hochabundante anaerobe Bakterienpopulationen, die im Fäzes von Menschen aber auch von vielen Tieren vorkommen. Teilpopulationen dieser Bakterien zeigen sehr ausgeprägte Wirtsanpassungen wodurch sie in bestimmten Wirtstieren in besonders großer Zahl zu finden sind. Sie ermöglichen damit die Herkunftsbestimmung über in ihnen spezifisch vorkommende Gensequenzen. *Bacteroidetes* Populationen können jedoch in der Regel mittels kultivierungsbasierten Verfahren aus Wasser und Gewässern nicht oder nur unzureichend nachgewiesen werden, da sie unter Laborbedingungen nicht kultivierbar sind. Gut geeignet sind dagegen molekularbiologische Verfahren basierend auf dem Nachweis von DNS.

Zur Bestimmung von *Bacteroidetes* 16S rDNS Markern wird die Wasserprobe filtriert und die DNS aus den am Filter zurückgehaltenen Bakterien isoliert. Die gewonnene DNS kann optional bei -80°C gelagert oder aber sofort mit einem „qPCR-Gerät“ auf das Vorkommen der gesuchten genetischen Fäkalmarker analysiert werden (Abbildung 1).

Diese Verfahren finden insbesondere bei der Detektion von Mikroorganismen in Abwässern zunehmende Anwendung. Über die Abundanz und Persistenz dieser Marker im Abwasser sowie über deren Verhalten während der Abwasserbehandlung war bis dato jedoch kaum Information vorhanden – ein grundlegender Forschungsbedarf war daher gegeben.

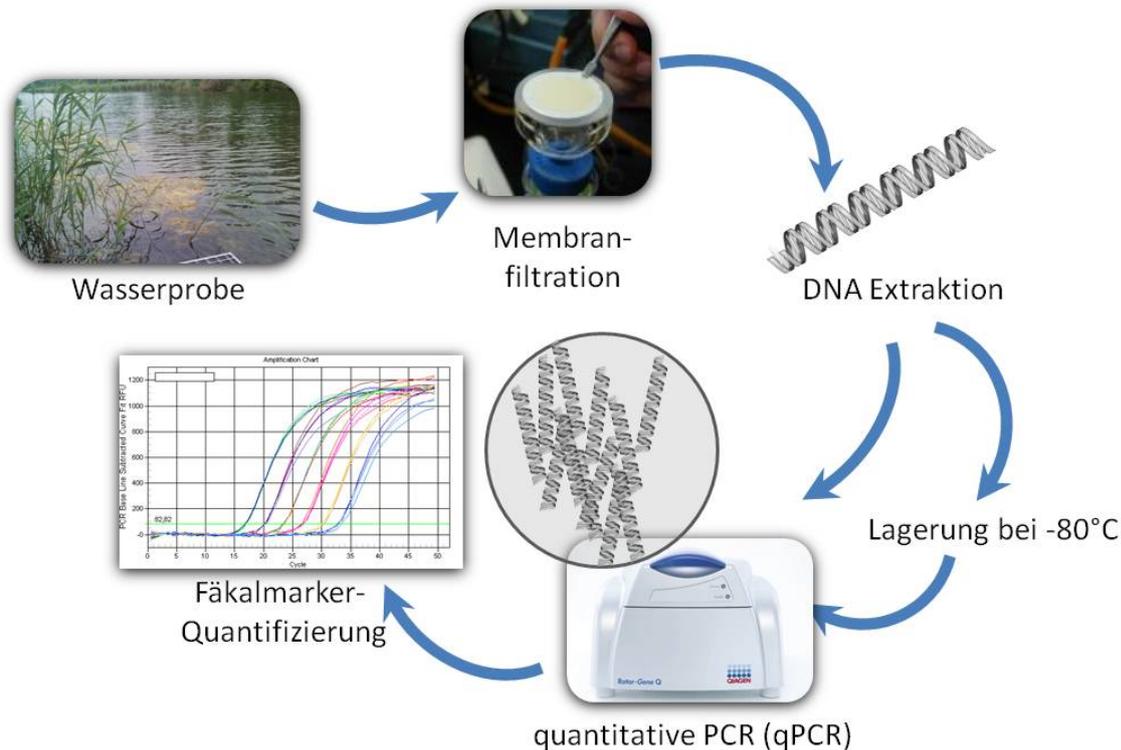


Abbildung 1: Schematischer Arbeitsablauf zur Detektion von wirtsassoziierten bakteriellen Fäkalmarkern von der Probenahme bis zu Analyse (Quelle: Wiener Mitteilungen, Band 230, 157-184)³.

2 Vorkommen human-assoziiertes genetischer Marker im Abwasser

Um die offenen Fragen bezüglich der Häufigkeit und Resistenz gegen Abbau der genetischen Fäkalmarker im Abwasser sowie deren Verhalten während der Abwasserbehandlung zu beantworten, wurden 12 gut charakterisierte Kläranlagen in Österreich und Deutschland untersucht. Bei den Kläranlagen handelte es sich sowohl um häusliche als auch kommunale Anlagen. Im Rahmen dieser Studie wurden erstmalig sowohl human-assoziierte *Bacteroidetes* Populationen als auch human-spezifische Adenoviren, sowie human spezifische JC Polyomaviren in den Zu- und Abläufen dieser Kläranlagen, zehn Mal über ein Jahr verteilt, untersucht. Darüber hinaus wurden standardisierte mikrobiologische und chemische Parameter vergleichend analysiert. Es zeigte sich, dass die untersuchten human-assoziierten Marker in Abwasser allgemein und in hohen Konzentrationen vorkommen, unabhängig von der Größe und Art der Abwasserreinigungssysteme⁴. Damit wurde das ubiquitäre Vorkommen dieser Fäkalmarker in Abwasser humaner Herkunft belegt, was die wesentliche Voraussetzung für die Eignung eines solchen Markers als Zeiger für fäkale

Verunreinigungen ist. Die Konzentrationen dieser Fäkalmarker lagen zwischen einer und hundert Millionen Marker Äquivalente in 100 ml biologisch gereinigtem bzw. rohem Abwasser (Abbildung 2). Ein statistischer Vergleich zeigte, dass die genetische Marker-Analytik mit zumindest der gleichen Präzision wie die Analytik mittels Standardverfahren durchgeführt werden kann⁴.

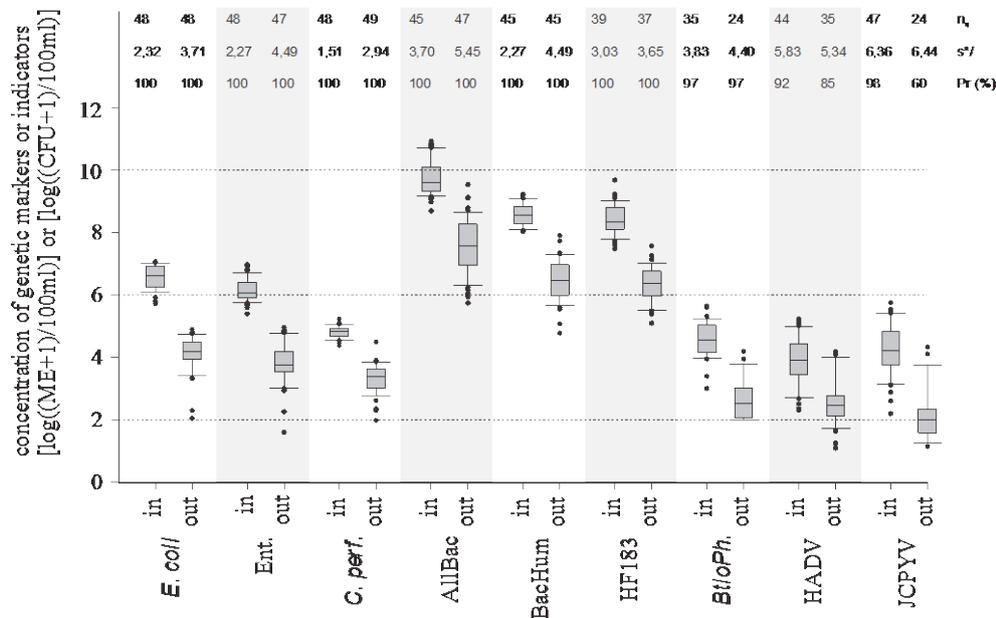


Abbildung 2: Konzentration von Standard Fäkalindikatoren und genetischen MST Markern in rohem und gereinigtem Abwasser⁴.
 AllBac: genetischer Fäkalmarker für alle *Bacteroidetes* Populationen; BacHum, HF183: genetischer Fäkalmarker für human-assoziierten *Bacteroidetes* Bakterienpopulationen; C. perf: *Clostridium perfringens* Sporen, Ent: Enterokokken, BtioPh: Bakteriophagen die *Bacteroides thetaiotaomicron* infizieren, HADV: Humanes Adenovirus, JCPyV: JC Polyomavirus, n_q: Anzahl der quantifizierbaren Proben, s*: Multiplikative Standardabweichung, Pr (%): Prävalenz der untersuchten Marker. Boxen umspannen das 25 bis 75 Perzentil, Antennen das 10 bis 90 Perzentil. (Quelle: Water Research, Volume 90, Pages 265-276)⁴

Des Weiteren wurde bei der mikrobiologischen Untersuchung der Kläranlagen erstmalig auf eine volumenproportionale 24-Stunden Mischprobenentnahme zurückgegriffen wie sie bei chemischen Fragestellungen seit langem Standard ist. Bis jetzt war dies in der Mikrobiologie - aufgrund methodischer Bedenken - nicht der Fall gewesen. Es wurde jedoch nachgewiesen, dass es bei Fäkalindikatoren (*E. coli*, Enterokokken und *C. perfringens*) sowie bei den zur fäkalen Herkunftsbestimmung verwendeten *Bacteroidetes* Populationen zu keinen relevanten Konzentrationsverlusten kommt, wenn die 24-Stunden Probenahme unter Einhaltung der vorgesehenen Kühlung erfolgte. Somit wurde belegt, dass die Anwendung dieser repräsentativen Probenentnahmetechnik auch für Proben zur mikrobiologischen Analytik gerechtfertigt ist⁵.

3 Anwendungsbeispiele

In nationalen Studien wurde die Anwendbarkeit und Vergleichbarkeit der genetischen Marker bereits eindrucksvoll gezeigt. So fanden diese Marker in Österreich, unter anderem, in Karstquellen mit Relevanz für die Trinkwasserversorgung wie auch in einer großen Studie über die Donau Anwendung. Auf diesen Ergebnissen basierend konnten Modelle zur quantitativen mikrobiellen Risikoabschätzung etabliert werden⁵⁻⁹ um das Management von Wasserressourcen unter Berücksichtigung ihrer Nutzung (z.B. Trinken oder Baden) mit den aktuellen WHO-Gesundheitszielen in Einklang zu bringen. Weiterführende Untersuchungen, die an 29 ARAs in 13 Ländern auf 6 Kontinenten durchgeführt wurden, bestätigen darüber hinaus die weltweite Verwendbarkeit dieser neuen zukunftsweisenden Untersuchungsmethodik¹⁰.

4 Fazit und weiterführende deutschsprachige Literatur

Genetische Marker entwickeln sich zusehends als Werkzeug für die Praxis um Fragestellungen beantworten zu können, die mit herkömmlichen Methoden zur Diagnostik fäkaler mikrobiologischer Kontaminationen nicht zufriedenstellend gelöst werden können. Die komplementäre Anwendung von molekularbiologischen Methoden eröffnet neue ungeahnte und zukunftsweisende Anwendungsmöglichkeiten im Bereich des zielgerichteten Managements von Schutzgebieten aber auch der mikrobiologischen Risikoabschätzung zur Ableitung nachhaltiger Strategien im Bereich Wasserqualität und Gesundheit.

Farnleitner AH und Sommer R (2015) Wasserqualität und Gesundheit: zukünftige Herausforderungen? Schriftenreihe ÖWAV, Heft 170, „Zukunft denken“ – Wasserwirtschaft 2035, ISBN 978-3-902978-46-2.

Farnleitner, A. H.; Reischer, G. H.; Savio, D. F.; Frick, C.; Schuster, N.; Schilling, K.; Mach, R. L.; Derx, J.; Kirschner, A. K.; Blaschke, A. P.; Sommer, R. (2014) Diagnostik mikrobiologischer Fäkalkontaminationen in Wasser und Gewässern. *Wiener Mitteilungen* **230**:157-184.

Stalder, G., Sommer, R., Walzer, C., Mach, R.L. Beiglböck, C., Blaschke, A.P. & Farnleitner AH (2011) Gefährdungs- und risikobasierende Konzepte zur Bewertung der mikrobiologischen Wasserqualität - Teil 1. *Vet. Med. Austria* **98**: 9-24.

5 Danksagung

Diese Arbeit wurde vom Science Call 2015 "Ressource und Lebensgrundlage Wasser" Projekt SC15-016, gefördert von der Niederösterreichischen Forschungs- und Bildungsgesellschaft (NFB), sowie dem FWF im Zuge des Projektes P23900 (Molekularbiologische Analytik fäkaler Wasserverunreinigungen) unterstützt.

6 Im Text zitierte Literatur

1. Tallon, P.; Magajna, B.; Lofranco, C.; Leung, K. T., Microbial indicators of faecal contamination in water: A current perspective. *Water Air Soil Pollut* **2005**, *166*, (1-4), 139-166.
2. Hagedorn, C.; Harwood, V. J.; Blanch, A., *Microbial Source Tracking: Methods, Applications, and Case Studies*. Springer: New York, USA, 2011; p 642.
3. Farnleitner, A. H.; Reischer, G. H.; Savio, D. F.; Frick, C.; Schuster, N.; Schilling, K.; Mach, R. L.; Derx, J.; Kirschner, A. K.; Blaschke, A. P.; Sommer, R., Diagnostik mikrobiologischer Fäkalkontaminationen in Wasser und Gewässern. *Wiener Mitteilungen* **2014**, *230*, 157-184.
4. Mayer, R. E.; Bofill-Mas, S.; Egle, L.; Reischer, G. H.; Schade, M.; Fernandez-Cassi, X.; Fuchs, W.; Mach, R. L.; Lindner, G.; Kirschner, A.; Gaisbauer, M.; Piringer, H.; Blaschke, A. P.; Girones, R.; Zessner, M.; Sommer, R.; Farnleitner, A. H., Occurrence of human-associated Bacteroidetes genetic source tracking markers in raw and treated wastewater of municipal and domestic origin and comparison to standard and alternative indicators of faecal pollution. *Water Res.* **2016**, *90*, 265-276.
5. Mayer, R. E.; Vierheilig, J.; Egle, L.; Reischer, G. H.; Saracevic, E.; Mach, R. L.; Kirschner, A. K.; Zessner, M.; Sommer, R.; Farnleitner, A. H., Automated Sampling Procedures Supported by High Persistence of Bacterial Fecal Indicators and Bacteroidetes Genetic Microbial Source Tracking Markers in Municipal Wastewater during Short-Term Storage at 5°C. *Appl. Environ. Microbiol.* **2015**, *81*, (15), 5134-43.
6. Derx, J.; Schijven, J.; Sommer, R.; Zoufal-Hruza, C. M.; van Drietzum, I. H.; Reischer, G.; Ixenmaier, S.; Kirschner, A.; Frick, C.; Husman, A. M. D.; Farnleitner, A. H.; Blaschke, A. P., QMRACatch: Human-Associated Fecal Pollution and Infection Risk Modeling for a River/Floodplain Environment. *J. Environ. Qual.* **2016**, *45*, (4), 1205-1214.
7. Reischer, G. H.; Kollanur, D.; Vierheilig, J.; Wehrspaun, C.; Mach, R. L.; Sommer, R.; Stadler, H.; Farnleitner, A. H., Hypothesis-Driven Approach for the Identification of Fecal Pollution Sources in Water Resources. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, (9), 4038-4045.
8. Kirschner, A. K. T.; Reischer, G. H.; Jakwerth, S.; Savio, D.; Ixenmaier, S.; Toth, E.; Sommer, R.; Mach, R. L.; Linke, R.; Eiler, A.; Kolarevic, S.; Farnleitner, A. H., Multiparametric monitoring of microbial faecal pollution reveals the dominance of human contamination along the whole Danube River. *Water Res* **2017**, *124*, 543-555.

9. Stalder, G. L.; Farnleitner, A.; Sommer, R.; Beiglbock, C.; Walzer, C., Hazard- and risk based concepts for the assessment of microbiological water quality - part 2. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* **2011**, 98, (3-4), 54-65.
10. Farnleitner, A. H., A decade of genetic fecal marker quantification. KEYNOTE Lecture. *18th International Symposium on Health-Related Water Microbiology, International Water Association (WaterMicro 2015), Lisboa, Portugal, 13.09.2015 - 19.09.2015* **2015**.

Korrespondenz an:**Mag. Dr. René Mayer**

Research Group Environmental Microbiology and Molecular Diagnostics 166/5/3
Institute for Chemical, Environmental and Bioscience Engineering, ICC Water & Health,
TU Wien
Gumpendorfer Straße 1a/166-5-2, A-1060 Wien

00431 58801 166548
rene.mayer@tuwien.ac.at

Univ.-Prof. PD. Dr. Andreas Farnleitner, MSc.Biol, MSc.Tox.

Karl Landsteiner University of Health Sciences,
Research Division Water Quality and Health,
A-3500 Krems, &
Interuniversity Cooperation Centre for Water & Health
Institute of Chemical, Environmental and Bioscience Engineering 166/5/3
Technische Universität Wien,
Gumpendorfer Straße. 1a/166-5-2, 1060 Wien

andreas.farnleitner@kl.ac.at
andreas.farnleitner@tuwien.ac.at

Methoden zur Bewertung des ökologischen Zustands

Karin Deutsch, Gisela Ofenböck

Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus,
Abt. IV/3 – Nationale und internationale Wasserwirtschaft, 1030 Wien, Marxergasse 2

Abstract: Mit der Wasserrechtsnovelle 2003 wurde die EU-Wasserrahmenrichtlinie in nationales Recht umgesetzt und grundlegende Aspekte der Bewertung und Überwachung der Oberflächengewässer geändert. Zentrales Ziel ist die Erhaltung bzw. Erreichung eines guten ökologischen Zustands der Gewässer. Für die Zustandsbewertung werden biologische, hydromorphologische und physikalisch-chemische Qualitätskomponenten herangezogen. Die einzelnen Bewertungsmethoden werden kurz dargestellt, der Schwerpunkt liegt dabei auf der Bewertung stofflicher Belastungen. Zusätzlich werden einige neuere Entwicklungen vorgestellt.

Key Words: ökologischer Zustand, Wasserrahmenrichtlinie, Bewertungsmethoden, Bewertung stofflicher Belastungen

1 Einleitung

Die übergeordnete Zielsetzung der Wasserrahmenrichtlinie 2000/60/EG ist die Sicherstellung einer nachhaltigen Bewirtschaftung sowie eines umfassenden Schutzes aller europäischen Gewässer. Ziel ist die Erhaltung bzw. Wiederherstellung eines guten chemischen und guten ökologischen Zustands in Oberflächengewässern sowie eines guten chemischen und guten mengenmäßigen Zustands im Grundwasser. Gleichzeitig gilt es, eine weitere Verschlechterung zu verhindern. Die WRRL enthält detaillierte Vorgaben für die Gewässerbewertung und die Verpflichtung zu einem ökologisch ausgerichteten, flusseinzugsgebietsbezogenen Gewässermanagement.

2 Bewertung des ökologischen Zustands

Mit der Wasserrechtsnovelle 2003 wurde die EU-Wasserrahmenrichtlinie in nationales Recht umgesetzt und grundlegende Aspekte der Bewertung und Überwachung der Oberflächengewässer geändert. Vor Inkrafttreten der WRRL konzentrierte sich die Überwachung der Oberflächengewässer auf chemische und stoffliche Verunreinigungen. Die Wassergüteeerhebungsverordnung verlangte in Fließgewässern zusätzlich zu chemischen und mikrobiologischen Untersuchungen die Ermittlung der saprobiologischen Güteklasse auf Basis von Beprobungen des Makrozoobenthos und des Phytobenthos. Seit 2003 fordert das Wasserrechtsgesetz (WRG, i.d.g.F. BGBl. I Nr. 82/2003) entsprechend den Vorgaben der WRRL eine gesamtheitliche Betrachtung der Gewässersysteme, was in der Bezeichnung „ökologischer Zustand“ Ausdruck findet. Bewertet werden neben Auswirkungen stofflicher Verunreinigungen auch andere Eingriffe, welche die Funktion der Gewässer als Lebensraum verändern. Es sind dies vor allem hydromorphologische Veränderungen im Zuge verschiedenster Nutzungen der Gewässer und ihres Umlandes.

Die WRRL enthält eine klar definierte Zielvorgabe für alle europäischen Gewässer: die Erreichung bzw. die Erhaltung des guten ökologischen Zustandes, der als geringfügige Abweichung vom gewässertypischen Referenzzustand (Zustand bei Abwesenheit menschlicher Einflüsse – also der nahezu natürliche Zustand) definiert ist. Der ökologische Zustand wird mittels fünf Zustandsklassen eingeteilt (sehr gut, gut, mäßig, unbefriedigend, schlecht). Gleichzeitig gilt es, eine weitere Verschlechterung zu verhindern. Die WRRL enthält in Art. 4 (7) Ausnahmebestimmungen zu diesem generellen Verschlechterungsverbot (siehe §104a WRG) und auch die Bandbreite der einzelnen Zustandsklassen erlaubt gewisse Abweichungen. Sie berücksichtigt damit die Nutzungsanforderungen der Menschen an das Ökosystem.

In der Qualitätszielverordnung Ökologie Oberflächengewässer (QZV-Ökologie OG BGBl. II Nr. 99/2010 i.d.g.F.) werden die ökologischen Zustandsklassen für alle relevanten biologischen und allgemein physikalisch-chemischen Qualitätselemente genauer definiert. Die Verordnung beinhaltet alle dafür erforderlichen Festlegungen wie typspezifische Referenzzustände, Grenzen zwischen den fünf Zustandsklassen, Vorgaben für die Bewertung von Wasserkörpern. Die zur Bewertung des ökologischen Zustands zu berücksichtigenden national relevanten spezifischen synthetischen und nichtsynthetischen Schadstoffe sind in der Qualitätszielverordnung Chemie Oberflächengewässer (QZV-Chemie OG BGBl. II Nr. 96/2006 i.d.g.F.) rechtlich verankert.

Durch die Bewertungsverfahren werden Auswirkungen von Eingriffen in Gewässer direkt an den Lebensgemeinschaften gemessen, wobei eine gesamtheitliche Sicht des Ökosystems in seiner Funktionalität als Lebensraum im Vordergrund steht. Während für den chemischen Zustand EU-weit einheitliche Qualitätsziele vorliegen, hat die Festlegung des ökologischen Zustandes (mit Ausnahme der spezifischen synthetischen und nichtsynthetischen Schadstoffe) typspezifisch zu erfolgen. Die Gewässer sind dafür nach naturräumlichen Gegebenheiten in Gewässertypen einzuteilen und die für die verschiedenen Gewässertypen relevanten Referenzbedingungen, die dem sehr guten Zustand entsprechen, zu beschreiben.

Bei der Bewertung des ökologischen Zustands werden neben den national relevanten Schadstoffen und den unterstützenden hydromorphologischen und allgemeinen physikalisch-chemischen Qualitätskomponenten mehrere biologische Qualitätselemente herangezogen. Für die Fließgewässer sind dies Fische, Makrozoobenthos, Phytobenthos und Makrophyten. Diese biologischen Qualitätselemente unterscheiden sich in ihrer Empfindlichkeit für die verschiedenen stofflichen und hydromorphologischen Belastungen, sie sind daher unterschiedlich gute Indikatoren. Gemeinsam decken sie alle in Frage kommenden Belastungssituationen ab. Diese indikative Aussagekraft der einzelnen biologischen Qualitätskomponenten wurde bereits bei der Methodenentwicklung berücksichtigt. So ist beispielsweise die Bewertung der Fischfauna im Wesentlichen auf die Beurteilung von Veränderungen in der Hydromorphologie ausgerichtet. Bei den Qualitätskomponenten Makrozoobenthos und Phytobenthos wurden einzelne Bewertungsmodule entwickelt, die jeweils auf unterschiedliche Belastungen ausgerichtet sind (z. B. saprobielle Belastung, trophische Belastung, Rithralisierung/Potamalisierung, usw.).

Dementsprechend erfolgt auch die Anwendung der Bewertungsmethoden in der operativen Überwachung. So wird etwa nur jene Qualitätskomponente mit der höchsten indikativen Aussagekraft im Hinblick auf eine bestimmte Belastung untersucht, da anzunehmen ist, dass die anderen Qualitätskomponenten schlechtere Indikatoren sind und einen besseren Zustand anzeigen würden. Auch bei der Beurteilung von neuen Eingriffen in Gewässer ist die indikative Aussagekraft der einzelnen biologischen Qualitätskomponenten zu berücksichtigen. Es sind jene Qualitätselemente heranzuziehen, die sowohl in Hinblick auf die jeweilige neue Belastung als auch hinsichtlich schon bestehender Vorbelastungen aussagekräftig sind. Die Aussagekraft der einzelnen Qualitätskomponenten ist in Anlage B der QZV Ökologie dargestellt.

3 Überblick über die Bewertungsmethoden für Fließgewässer

3.1 Biologische Qualitätskomponenten

3.1.1 Fische

Fische sind durch ihre Lebensdauer, ihren Lebenszyklus und aufgrund ihrer unterschiedlichen Habitatansprüche ein guter Anzeiger für den ökologischen Zustand eines Gewässers. Speziell für hydromorphologische Belastungen ist die Fischbiozönose das maßgebliche Qualitätselement. Für den Fischindex Austria (HAUNSCHMID et al. 2006, 2016) werden Artenzusammensetzung, Abundanz, Biomasse und Altersstruktur ausgewertet. Basis der Bewertung sind Leitbildzönosen, in denen für jeden Gewässertyp die Leitarten, typischen und seltenen Begleitarten definiert sind. Der Index selbst umfasst die Bewertung der Artenzusammensetzung im Vergleich zum Leitbild (relative Anteile der Leit- und Begleitarten, Anzahl fehlender Strömungs- und Reproduktionsgilden), Fischregionsindex und Alterstruktur der Leit- und typischen Begleitarten. Die Biomasse wird als „k.o.-Kriterium“ verwendet, sie wird dann bewertungsrelevant, wenn natürlicherweise zu erwartende Werte dramatisch unterschritten werden.

Der Fischindex Austria ist gezielt auf die Erfassung hydromorphologischer Belastungen (Eingriffe in Gewässerstrukturen und Abflussverhältnisse, Wanderhindernisse) ausgerichtet, für stoffliche Belastungen sind andere Qualitätselemente aussagekräftiger.

3.1.2 Makrozoobenthos

Durch das Makrozoobenthos können stoffliche Belastungen aber auch Auswirkungen verschiedener anderer Stressoren (Degradation der Gewässermorphologie, Stau, Restwasser, Nutzung im Einzugsgebiet) erfasst werden. Für das Makrozoobenthos wurde ein zweistufiges System („Screening-Methode“ und „Detaillierte MZB – Methode“) mit unterschiedlicher Auflösung entwickelt - die Erhebung bzw. Probenahme für beide Stufen basiert auf dem Multi-Habitat-Sampling (MOOG et al. 2006). In der detaillierten-MZB (OFENBÖCK ET.AL 2005, 2016) – Methode, werden folgende stressorspezifische Module verwendet.

Modul Saprobie: Das Modul Saprobie beschreibt die Reaktion des Makrozoobenthos auf organische Belastung. Mit diesem Modul wurde das seit etwa 40 Jahren erfolgreich angewendete Saprobien-system in den Bewertungsansatz aufgenommen und an die Vorgaben der WRRL angepasst. Basis ist der Saprobienindex nach ZELINKA & MARVAN (1961), die

leitbildbezogene Bewertung erfolgt durch Bezugnahme auf saprobielle Grundzustände (STUBAUER & MOOG 2003). Der saprobielle Grundzustand repräsentiert die natürliche Referenzsituation unbelasteter Gewässer in Bezug auf leicht abbaubare organische Substanzen. Die traditionelle 7-stufige Einteilung der Gewässergüteklassen wurde in eine 5-stufige referenzbezogene Bewertung des Moduls Saprobie übergeführt.

Modul Allgemeine Degradation: Das Modul Allgemeine Degradation spiegelt die Auswirkungen verschiedener Stressoren wider und besteht – je nach Gewässertyp – aus ein bis zwei multimetrischen Indices, die drei grundlegende Problemkreise berücksichtigen:

- Potamalisierende Effekte: insbesondere Beeinträchtigungen durch Erwärmung (z.B. thermische Abwässer oder untypische Sonnenexposition), Rückstaueffekte (z.B. durch Wehranlagen oder andere Querbauwerke), Nährstoffbelastung, Feinsedimenteinträge. Geeignete Kennwerte: funktionelle Metrics (z.B. Ernährungstypen-Verteilung), Artendefizite, Artenzusammensetzung, Rückgang sensibler Faunenelemente
- Rhithralisierende Effekte: Beeinträchtigungen durch Abkühlung (Einleitung von hypolimnischen Speicherwasser), Strukturverarmung (technisch „harte“ Verbauung, Sohlpflasterung, Begradigung). Geeignete Kennwerte: Artendefizite, Artenzusammensetzung, Rückgang sensibler Faunenelemente
- Toxische Belastungen: Geeignete Kennwerte: vorwiegend Artendefizite, Artenzusammensetzung, Rückgang sensibler Faunenelemente

Um auszuloten, inwieweit auch Schadstoffbelastungen anhand des Moduls Allgemeine Degradation angezeigt werden können, wurde an ausgewählten GZÜV-Messstellen in landwirtschaftlich genutzten Einzugsgebieten mit möglicher Belastung durch Pflanzenschutzmittel die Bewertungsmethode SPEAR (engl. SPEcies At Risk) getestet. SPEAR ist ein stressor-spezifisches Bioindikator System, das auf Basis der Reaktion von biologischen Merkmalen des Makrozoobenthos auf die Auswirkungen bestimmter Stressoren und deren Regeneration entwickelt wurde. Er geht davon aus, dass die Artenzusammensetzung in Fließgewässern - neben anderen Stressoren - durch die Belastung von Schadstoffen geprägt sein kann, wobei sich mit zunehmender Schadstoffbelastung der Anteil sensibler Arten grundsätzlich verringert (LIESS & VON DER OHE, 2005). SPEAR beruht auf einem merkmalsbasierten Konzept, das sensitive Taxa anhand von Artmerkmalen wie Physiologie, Lebenszyklus oder Verhalten ausweist. Derzeit umfasst das SPEAR System

zwei Indikatoren, für zwei verschiedene Arten von Verunreinigungen – den $SPEAR_{pesticides}$ und den $SPEAR_{organic}$.

$SPEAR_{pesticides}$ ist eine Maßzahl für die Veränderung der Invertebraten-Gemeinschaft durch eine kurzzeitige, gepulste Belastung durch Insektizide und, in geringerem Maße, durch Fungizide und andere Pflanzenschutzmittel (LIESS & VON DER OHE, 2005; BETEKOV et al., 2009). Die Invertebratenfauna wird dafür an Hand ihrer ökologischen Eigenschaften in sensitive Arten (SPECIES At Risk) und insensitive Arten (SPECIES At No Risk) eingeteilt. Unter Berücksichtigung der Abundanz wird der Anteil der sensitiven Arten in einer Probe bestimmt. Unbelastete Referenzstellen weisen im Mittel einen $SPEAR_{pesticides}$ -Wert von > 40 auf. An stärker belasteten Untersuchungsstellen ist im Mittel mit einem Wert < 20 zu rechnen.

An den untersuchten Stellen werden nach der MZB-Methode gemäß QZV Ökologie OG Ökologische Zustandsklassen von „gut“ bis „schlecht“ indiziert. 18 % (sechs Messstellen) weisen einen guten ökologischen Zustand auf, 82 % (28 Messstellen) einen mäßigen oder schlechteren Zustand. Die Ergebnisse des Index $SPEAR_{pesticides}$ zeigen, dass an keiner der Untersuchungsstellen Werte über 40 erreicht werden und demnach gemäß der Einstufung für sämtliche Stellen eine mögliche Belastung durch Pflanzenschutzmittel während Runoff-Ereignissen indiziert wird. An 47 % der Stellen liegen die Werte des Datensatzes sogar unter 20, was entsprechend der $SPEAR_{pesticides}$ Bewertung, auf eine hohe Belastung hindeutet.

Ein Vergleich der Ergebnisse der beiden Bewertungsverfahren, $SPEAR_{pesticides}$ Index und ökologische Zustandsklasse gemäß der detaillierten MZB Methode, weist über die Abnahme des $SPEAR_{pesticides}$ -Wertes mit zunehmender Klassenverschlechterung einen deutlichen Zusammenhang.

Die detaillierte MZB Methode beruht auf der Bewertung verschiedener Module und diese wiederum auf verschiedenen Einzelmetrics. Weiterführende Analysen zur Klärung, welche Module und hierbei welche Metrics besonders mit dem $SPEAR_{pesticides}$ korrelieren, zeigen eine signifikante Korrelation für das Einzelmodul Multimetrischer Index 1 (MMI 1) mit den Ergebnissen des $SPEAR_{pesticides}$ Index (siehe Abbildung 1).

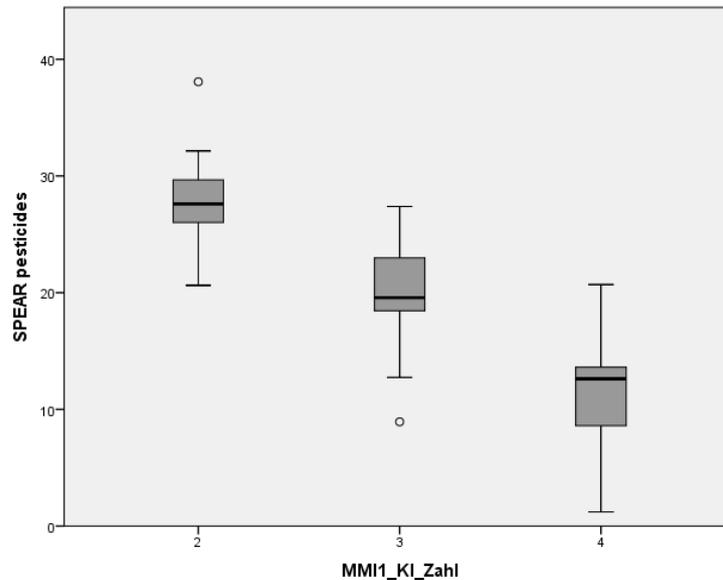


Abbildung 1: SPEAR_{pesticides} pro MMI1-Klasse (2=gut, 3=mäßig, 4=unbefriedigend); Boxplot

Auf Ebene einzelner Metrics zeigen sich bei zahlreichen Metrics höchst signifikante Korrelationen. Am stärksten ist die Korrelation des SPEAR_{pesticides} mit dem Metric %ETP-Taxa, dem Anteil an Ephemeroptera, Plecoptera und Trichoptera Taxa an der Gesamttaxazahl ($r^2=0,754$).

Wie sich nun die beiden Ergebnisse MMI 1(EQR) und SPEAR_{pesticides} im Verhältnis zu den mittleren Gesamtpestizidkonzentrationen pro Messstelle verhalten ist in Abbildung 2 dargestellt. Beide Bewertungssysteme zeigen einen deutlichen Zusammenhang mit den dargestellten Schadstoffkonzentrationen, d.h. mit zunehmender mittlerer Gesamtpestizidkonzentration sinken die Indexwerte.

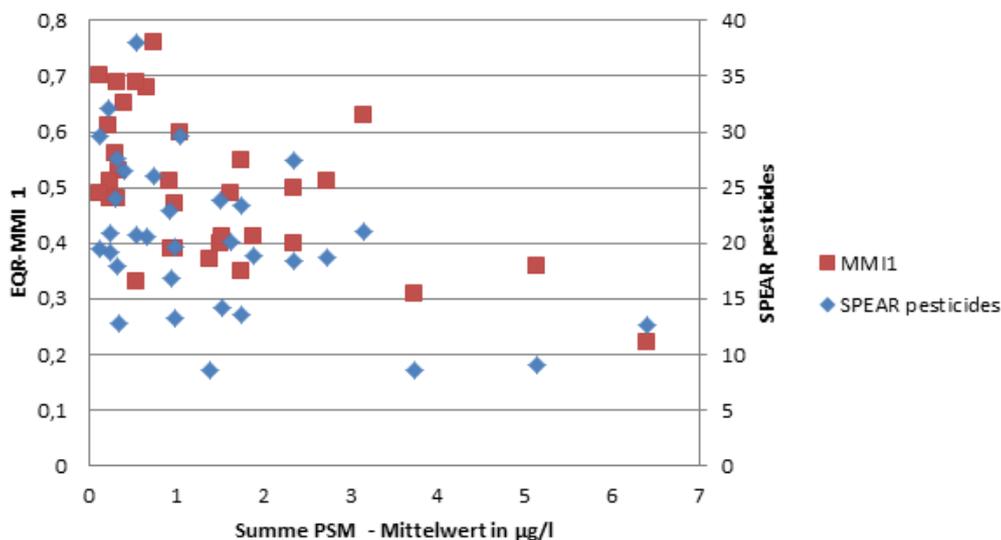


Abbildung 2: Mittlere Gesamtpestizidkonzentration, MZB-Multimetrischer Index 1/EQR, SPEAR_{pesticides} pro Messstelle

Die Auswertungen zeigen, dass das Makrozoobenthos-Bewertungssystem gemäß QZV Ökologie OG auf Schadstoffbelastungen reagiert und dass bei geringen Konzentrationen die Erreichung eines guten ökologischen Zustands möglich ist. Ob allerdings bei Erreichung eines guten ökologischen Zustands dem erforderlichen Vorsorgegedanken (Schutz der sensibelsten Organismen) ausreichend Rechnung getragen wird, darüber ist keine Aussage möglich. Mögliche negative Auswirkungen auf einzelne Gruppen von Wasserlebewesen lassen sich damit nicht ausschließen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die biologischen Bewertungen auch die Auswirkungen anderer Stressoren, wie z.B. Degradation der Gewässermorphologie, Stau, Restwasser oder Feinsedimentbelastung widerspiegeln. Ein nicht guter Zustand kann somit vielfältige Ursachen haben.

Die Notwendigkeit der Einbeziehung des SPEAR_{pesticides} als gesondertes Bewertungsmodul zur Erfassung von pulsierenden Schadstoffbelastungen kann anhand der vorliegenden Auswertungen jedoch weitgehend ausgeschlossen werden, da das Modul „Allgemeine Degradation“ die Defizite bereits sehr deutlich aufzeigen kann. Weitere Details zum angeführten Sondermessprogramm sind im Jahresbericht „Wassergüte in Österreich 2013-2015“ (BMNT, 2018) angeführt.

3.1.3 Phytobenthos:

Das Phytobenthos eignet sich sehr gut, um stoffliche Belastungen in Fließgewässern anzuzeigen (sowohl durch organische Substanzen als auch durch Nährstoffe). Auch Eingriffe in das hydrologische Regime (Ausleitung, Schwall, Rückstau) lassen sich bis zu einem gewissen Grad abbilden, während Eingriffe in die Morphologie nur sehr bedingt maßgeblichen Einfluss auf die Artenzusammensetzung der Auswuchsalgen ausüben. Die Bewertung des ökologischen Zustands für das Phytobenthos ((PFISTER & PIPP 2005, 2016) basiert auf einem multimetrischen Ansatz und beinhaltet drei Module:

Modul Trophie: Das Modul Trophie bewertet die Nährstoffbelastung und beruht auf dem Trophie-Index nach ROTT et al. (1999). Maß für die Bewertung ist die Abweichung des festgestellten Trophiezustandes vom bioregionsspezifischen trophischen Grundzustand.

Modul Saprobie: Das Modul Saprobie bewertet die organische Belastung und beruht auf dem Saprobie-Index nach ROTT et al. (1997). Maß für die Bewertung ist die Abweichung des festgestellten saprobiellen Zustandes vom bioregionsspezifischen saprobiellen Grundzustand.

Modul Referenzarten: Das Modul Referenzarten bewertet die Abweichung der vorgefundenen Artengemeinschaft von der zu erwartenden Referenzbiozönose und zeigt Synergieeffekte zwischen Nährstoffbelastung und organischer Belastung sowie Veränderungen anderer Umweltbedingungen wie etwa Versalzung, Versauerung, Hydromorphologie und toxische Belastungen eines Gewässers. Maß für die Bewertung ist der Anteil der Referenzarten an der jeweils festgestellten Gesamtabundanz bzw. Gesamtartenzahl der Aufwuchsalgen.

Die der Methodenentwicklung zugrundeliegenden Einstufungslisten der Algentaxa nach ROTT et al. basieren mit ihrer Taxonomie und den abgeleiteten trophischen und saprobiellen Indikationswerten auf einem fast 20 Jahre alten Kenntnisstand und einer dementsprechenden Datenbasis. Die Taxonomie vieler Fließgewässer-Phytobenthosorganismen hat sich in diesem Zeitraum entscheidend verändert und darüber hinaus konnten inzwischen auch eine ganze Reihe von Arten neu in Österreich nachgewiesen werden. Aus den Erfahrungen der letzten 15 bis 20 Jahre bzw. nach aktuellem autökologischen Kenntnisstand hat sich für eine ganze Reihe von Arten auch abgezeichnet, dass die artspezifischen Einstufungen nach ROTT et al. jedenfalls optimierungsbedürftig sind. Auch Rückmeldungen zu nicht plausiblen Ergebnissen (z.B. Studie zum „Einfluss der Almwirtschaft auf Phytobenthoszönosen“ im Bereich der Südalpen, SCHÖNHUBER, 2015) machten eine Überprüfung und Aktualisierung der Indikationslisten unumgänglich. Eine Weiterverwendung der bestehenden Indikationslisten würde zu bewertungstechnischen Problemen (viele Arten nicht eingestuft) und zu fehlerhaften Bewertungen führen. Die Aussagekraft bzw. Plausibilität der Bewertungsergebnisse wäre stark eingeschränkt.

In der Überarbeitung Bewertungsmethode für das Phytobenthos (PFISTER et al. 2016) wurden sowohl die Taxalisten als auch die Einstufungswerte der Algentaxa aktualisiert. Auch das dritte Bewertungsmodul „Referenzarten“ wurde überarbeitet, womit die Gesamtbewertungsmethode auf den aktuellen Wissenstand gebracht werden konnte.

Der für die Überarbeitung zur Verfügung stehende Datensatz umfasste biologische Daten (Phytobenthos-Artenlisten) und korrespondierende chemische Daten (v.a. belastungsrelevante Umweltparameter) aus Fließgewässern in Deutschland und Österreich vor allem aus dem Zeitraum seit Implementierung der Wasserrahmenrichtlinie (ab etwa 2003). Die Datenbasis umfasste 13.223 Algenaufnahmen, wovon 5.098 aus Österreich und 8.125 aus Deutschland stammen. Die Anzahl der zur Verfügung stehenden Datensätze ist somit um ein

Vielfaches höher als bei ROTT et al. 1997 und 1999. Eine hohe Repräsentativität des vorliegenden Gesamtdatensatzes ist auf Grund der großen Anzahl an Einzeldaten gegeben (alle Bundesländer, Fließgewässertypen, Bioregionen, Höhenstufen, Gewässergrößen, Belastungsszenarien sind in ausreichender Zahl vertreten).

Für die Überarbeitung bzw. Neudefinition von artspezifischen Trophie- und Saprobiewerten und der jeweiligen Indexgewichtungen biologische Daten (Phytobenthos-Artenlisten) und korrespondierende chemische Daten (v.a. belastungsrelevante Umweltparameter) verwendet. Die Methodik zur Indexfindung (soweit möglich numerische Ableitung der Werte aus den Umweltvariablen Gesamtphosphor und Biochemischer Sauerstoffbedarf) erfolgte in weitgehend analoger Weise zu ROTT et al. 1997, 1999.

Die aktualisierte Indikationsliste umfasst nun insgesamt 798 Phytobenthosarten, von denen 654 einen artspezifischen Trophiewert und 699 einen artspezifischen Saprobiewert zugewiesen haben. Im Vergleich zum System nach ROTT et al. (1997, 1999) ist dies im Fall der Trophiewerte eine geringere Anzahl und im Fall der Saprobiewerte eine merklich höhere.

Die Ergebnisse der vergleichenden Auswertungen haben hinsichtlich der alten und neuen Indikationswerte, zumindest teilweise nennenswerte Unterschiede ergeben, die auch bewertungstechnisch relevant sind. Vor allem bei der Trophiebewertung haben sich teilweise deutliche Unterschiede zu den bisherigen artspezifischen Trophieeinstufungen ergeben, die insgesamt auch zu maßgeblichen Veränderungen der berechneten Trophieindizes der Algenaufnahmen im Datensatz führten (im neuen System merklich niedriger/bessere Indizes). Um eine dadurch bedingte unrealistisch starke Verbesserung der trophischen Bewertung auszugleichen, erfolgte als erste methodische Anpassung eine Neufestlegung der bei ROTT et al. (1999) definierten allgemeinen Grenzen für die einzelnen Trophieklassen. In einem weiteren Schritt erfolgte auch eine zusätzliche Anpassung der Zustandsklassengrenzen im Trophiemodul.

Beim Saprobie-Modul waren bewertungstechnische Anpassungen nicht erforderlich, als wesentliche Vereinfachung hat sich aber gezeigt, dass bei der neuen Saprobiebewertung keine Differenzierung mehr zwischen den Auswertungen nach allen Algengruppen und den reinen Kieselalgenauswertungen gemacht werden muss.

Beim Modul Referenzarten wurde die Referenzartenliste deutlich erweitert (von ursprünglich 366 auf 583 Taxa), die Indizes im neuen System sind über den

gesamten Wertbereich maßgeblich höher/besser als im alten System, was eine entsprechende Anpassung der Zustandsklassengrenzen erforderlich machte.

Für die Gesamtzustandsbewertung Phytobenthos kommt es insgesamt zu einer Verbesserung der Einstufungen, vor allem die Anzahl an sehr guten Aufnahmen steigt im neuen System merklich an. Die Anzahl an Aufnahmen mit Handlungsbedarf (Zustandsklassen mäßig bis schlecht) nimmt dagegen nur relativ geringfügig ab. Stark beeinträchtigte Aufnahmen (unbefriedigend und schlecht) stellen wie bisher keine nennenswerte Rolle dar bzw. nehmen im neuen System insgesamt sogar noch ab

Insgesamt erfordern die Änderungen eine Novellierung der QZV Ökologie, da die Änderungen beim Modul Trophie und Referenzarten auch die Festlegung der Klassengrenzen betreffen.

3.1.4 Makrophyten

Aquatische Makrophyten können zur Beurteilung der stofflichen Belastung von Fließgewässern herangezogen werden. Als pflanzliche Organismen sind sie dabei vor allem sehr gute Trophie-Indikatoren. Sie reagieren aber auch deutlich auf andere anthropogen bedingte Veränderungen der natürlichen Bedingungen im Fließgewässer. So können Eingriffe in das Abflussregime, wie z.B. Potamalisierung und Stau hervorragend indiziert werden. Die Ausprägung der Makrophytenvegetation spiegelt auch deutlich die strukturellen Bedingungen im Gewässer, wie z.B. Substratdiversität und –dynamik oder den Verbauungsgrad der Ufer und zum Teil auch der Gewässersohle wider. Das auf Makrophyten basierende Bewertungsschema (PALL & MOSER 2006, 2016) bezieht sich auf die Abweichung der vorgefundenen Artengemeinschaft von der Referenzartengemeinschaft. Der Bewertung wird allerdings keine konkrete Referenzbiozönose zu Grunde gelegt, sondern es wird davon ausgegangen, dass sich Arten mit ähnlichen ökologischen Ansprüchen ersetzen können. Ausgehend von der Charakterisierung der abiotischen Verhältnisse im Referenzzustand werden die Arten in Hinblick auf Trophie, Gewässertyp, Geologie und Höhenlage in 4 Gruppen eingestuft. Diese Gruppen entsprechen der Amplitude von Referenzarten bis zu Störzeigern. Aus der Verrechnung der Abundanz der einzelnen vorgefundenen Arten ergibt sich die Zuordnung zur ökologischen Zustandsklasse.

3.2 Chemische und physikalisch-chemische Qualitätskomponenten

3.2.1 Allgemeine physikalisch-chemische Qualitätskomponenten

Bei der ökologischen Bewertung kommt den biologischen Komponenten besondere Bedeutung zu, da die Biozönose sämtliche Einwirkungen auf ein Gewässer integriert und somit die wesentliche Kenngröße darstellt, um mögliche Wechsel- und Summationswirkungen zu erfassen. Chemisch-physikalische Eigenschaften des Wassers und der Sedimente wie auch die Hydrologie und Morphologie des Gewässers sind verantwortlich für die charakteristische Ausprägung der aquatischen Lebensgemeinschaften. Diese Rahmenbedingungen werden gemäß den Vorgaben der WRRL als „unterstützende“ Qualitätskomponenten bezeichnet, für die Grenzwerte für den sehr guten Zustand und Richtwerte für den guten Zustand festzulegen sind.

Die Grenzwerte für den sehr guten Zustand haben gemäß den normativen Beschreibungen der WRRL Anh. V. 1.2.1 vollständig oder nahezu vollständig den Werten zu entsprechen, die bei Abwesenheit störender Einflüsse zu verzeichnen sind. Ein Überschreiten der Werte führt zu einer schlechteren Bewertung als „sehr gut“.

Die Richtwerte für den guten Zustand dürfen nicht über den Bereich hinausgehen, innerhalb dessen die Funktionsfähigkeit des Ökosystems und die Einhaltung der Werte für die biologischen Qualitätskomponenten gewährleistet sind. Die Bewertung des guten ökologischen Zustandes hinsichtlich der Belastung der allgemeinen Bedingungen der physikalisch-chemischen Qualitätskomponenten erfolgt über die biologischen Qualitätskomponenten. Im Gegensatz zum sehr guten Zustand liegt eine Zielverfehlung des guten Zustandes der allgemeinen Bedingungen der physikalisch-chemischen Qualitätskomponenten erst dann vor, wenn die Werte für den guten biologischen Zustand nicht erreicht werden. Die Verfehlung der allgemeinen physikalisch-chemischen Bedingungen stellt für sich genommen keine Zielverfehlung dar.

Zur Beurteilung der allgemeinen Bedingungen der physikalisch-chemischen Parameter sind in der QZV Ökologie OG typspezifisch Grenz- und Richtwerte für die Parameter Temperatur, BSB₅, DOC, PO₄-P und NO₃-N festgelegt. Für die Parameter Sauerstoffsättigung, pH, und Chlorid erfolgt keine typspezifische Differenzierung.

Die Ableitung der Grenz- und Richtwerte erfolgte in enger Wechselwirkung mit den für die Belastung indikativsten biologischen Qualitätselementen.

Für die Parameter zur Beschreibung des Sauerstoffhaushaltes wurde vor allem die Wechselwirkung mit dem Makrozoobenthos (Saprobienindex), für die

Nährstoffverhältnisse und die Versalzung die Wechselwirkung mit den Algen berücksichtigt.

Die Grenz- bzw. Richtwerte der Parameter BSB₅, PO₄-P und NO₃-N wurden im Wesentlichen aus statistischen Auswertungen von Messdaten der WGEV (Wassergüte-Erhebungsverordnung) aus den Jahren 2003 - 2005 abgeleitet. Zu diesem Zeitpunkt lagen bereits die Typisierung der Gewässer sowie Ergebnisse der neuen Bewertungsmethoden für Makrozoobenthos und Phytobenthos vor. Für den Qualitätszielvorschlag „sehr guter Zustand“ wurden für jeden Gewässertyp jene Messstellen ausgewählt, die auf Grund der typspezifischen biologischen Bewertungen (Saprobienindex - SI bzw. Trophieindex - TI) gerade noch als „sehr guter Zustand“ bewertet wurden. Für den Qualitätszielvorschlag „guter Zustand“ wurden jene ausgewählt, die auf Grund der biologischen Bewertungen (SI bzw. TI) gerade noch als „guter Zustand“ bewertet wurden. Für jene Gewässertypen, für die keine entsprechenden Messergebnisse vorlagen, wurden auf Basis von Clusteranalysen systematische Zusammenhänge zu anderen Gewässertypen aufgezeigt, deren Werte dann für diese übernommen wurden. Eine detaillierte Beschreibung der Methode liegt mit KREUZINGER (2007) vor.

Zur Beschreibung der Temperaturverhältnisse in Fließgewässern sind Fische jene Organismen der Gewässerbiozönose, die am sensibelsten auf Veränderungen der Temperatur reagieren. Bei der Festlegung der Qualitätsziele war unter anderem zu berücksichtigen, dass Fische in ihrem Lebenszyklus unterschiedliche Temperaturansprüche haben. Neben maximal zulässigen Temperaturen bei kurzer Dauer in den Sommermonaten sind die Temperaturansprüche der verschiedenen Fischarten zur Laichzeit zu beachten. Die Zielvorgaben für den sehr guten Zustand wurden daher basierend auf den fischökologischen Standardleitbildern in den Bio- und Fischregionen sowie den oberen Optimaltemperaturen jeder Fischart abgeleitet. Die Richtwerte des guten Zustands basieren auf den Vorgaben der Fischgewässer-Richtlinie (RL 78/659 RL über die Qualität von Süßwasser) und wurden einem expert-judgement unterzogen.

3.2.2 National relevante Schadstoffe

Die Bewertung der national relevanten Schadstoffe, d.h. jener synthetischen und nicht-synthetischen Schadstoffe, für die national nach den Vorgaben der WRRL Qualitätszielvorgaben abzuleiten sind, ist Teil des ökologischen Zustands. In Österreich sind in der QZV Chemie OG (Anlage B) für 35 Stoffe bzw. Stoffgruppen Umweltqualitätsnormen in Wasser festgelegt. Es handelt sich

hierbei um Grenzwerte, eine Überschreitung führt zu einem nicht guten ökologischen Zustand.

Die Qualitätszielableitung erfolgte nach einem in der WRRL angeführten, definierten Prozedere unter Berücksichtigung von Endpunkten ökotoxikologischer Testverfahren von 3 trophischen Niveaus und der Verwendung von Sicherheitsfaktoren (Details hierzu siehe BMLFUW, 2003)

Auch die beiden Stickstofffraktionen, Ammonium und Nitrit, sind als national relevante Schadstoffe zu bewerten. Grund hierfür ist, dass beide Verbindungen neben ihrer indirekten Wirksamkeit als Nährstoff für das Pflanzenwachstum, auch eine direkte, ökotoxikologische Wirkung aufweisen. Diese toxikologische Wirkung kann bereits bei Konzentrationen auftreten, wo selbst in stickstofflimitierten Gewässern keine trophischen Auswirkungen sichtbar wären.

3.3 Plausibilitätsüberprüfung

Bei allen Bewertungsergebnissen der einzelnen Qualitätskomponenten (biologische, physikalisch-chemische und hydromorphologische Qualitätskomponenten) ist eine Plausibilitätsprüfung durchzuführen.

Die Plausibilitätsprüfung umfasst neben der Prüfung der Einhaltung der methodischen Vorgaben und eventueller typologischer Besonderheiten auch eine Plausibilitätsprüfung unter Berücksichtigung der relevanten physikalisch-chemischen und hydromorphologischen Qualitätskomponenten und Belastungsinformationen (Einzelbelastungen und Belastungskombinationen). Hilfestellungen für die Auswahl der relevanten Komponenten und der Vorgehensweise sind in der QZV Ökologie OG (Anlage B) und in der GZÜV (Anlage 5) angeführt.

Die Parametergruppen Belastungssituation, biologische Ergebnisse und die Ergebnisse der unterstützenden Parameter (hydromorphologische/physikalisch-chemische Parameter) dienen der gegenseitigen Kontrolle der Plausibilität der Bewertung. Jede Gruppe kann durch die beiden anderen kontrolliert werden.

Bei Ungereimtheiten zwischen den einzelnen Qualitätskomponenten sind die Ursachen zu prüfen. Ergibt die Plausibilitätsprüfung, dass ein Bewertungsergebnis unter Berücksichtigung aller relevanten Informationen nicht plausibel ist, so ist es von der Gesamtbewertung auszuschließen. Je nach Ursache kann eine Wiederholung der Messung oder eine Expertenbeurteilung erforderlich sein.

4 Ergebnisse der Zustandsbewertung

Die Ergebnisse Überwachungsprogramme zeigen, dass derzeit ca. 60% der Fließgewässer das Ziel des guten ökologischen Zustands verfehlen, 23% weisen einen guten und 15% einen sehr guten Zustand auf, 2% erreichen ein gutes ökologisches Potential. Ursache dafür sind überwiegend Eingriffe in die Gewässerstrukturen und Abflussverhältnisse, zu einem geringeren Teil Probleme mit der Wasserqualität.

Die Karte „Biologischer Zustand bzw. Potential der Oberflächengewässer bezüglich stofflicher Belastungen“ des Nationalen Gewässerbewirtschaftungsplans 2015 (BMLFUW 2017) ermöglicht einen Vergleich mit den traditionellen Gütekarten. Für die Kartenerstellung werden die Ergebnisse des Moduls Saprobie für das Makrozoobenthos, die Ergebnisse der Module Saprobie und Trophie für das Phytobenthos und die Ergebnisse der Makrophyten herangezogen. Neben diesen biologischen Daten werden auch Informationen über physikalisch-chemische Parameter sowie Ergebnisse der Risikoanalyse (Informationen zur Belastungssituation, z.B. Abwassereinleitungen, diffuse Belastungen, Modellierungen) einbezogen.

Bei rund 22% der Gewässer wird aufgrund organischer Verschmutzung oder Nährstoffbelastung der gute Zustand verfehlt. Ursache dafür sind vor allem diffuse Einträge in landwirtschaftlich, vor allem ackerbaulich intensiv genutzten Gebieten. Organische Belastungen aus Punktquellen sind nur in weniger als 2% der Gewässer für die Zielverfehlung verantwortlich. Dabei handelt es sich zum überwiegenden Anteil um Anlagen, die in kleinere abflussschwache Gewässer einleiten.

Bezüglich der national relevanten Schadstoffe zeigen die im 2. NGP angeführten Ergebnisse der Risikoabschätzung und Überwachungsprogramme, dass unter Anwendung der in der Qualitätszielverordnung Chemie Oberflächengewässer verankerten Umweltqualitätsnormen fast alle Wasserkörper einen guten oder besseren Zustand betreffend der im ökologischen Zustand enthaltenen nationalen Schadstoffe aufweisen. Nur in insgesamt 18 Wasserkörpern (d.h. deutlich weniger als 1% der Wasserkörper) wird eine Überschreitung von Wasser-Qualitätsnormen festgestellt. Hierbei handelt es zum überwiegenden Teil um Überschreitungen beim Parameter Ammonium. Vereinzelt Überschreitungen sind bei den Parametern Nitrit und EDTA zu beobachten. Auch hier sind vielfach Gewässer in abflussschwachen Gebieten betroffen, bei denen auch die biologischen Qualitätselemente keinen guten Zustand aufweisen.

5 Ausblick

Derzeit ist eine Novelle der QZV Ökologie OG in Bearbeitung. Schwerpunkte sind dabei Adaptierungen der Bewertungsverfahren, die durch die Ergebnisse der europaweiten Interkalibrierung erforderlich sind. Aufgrund von Erfahrungen aus der praktischen Umsetzung der QZV sind zusätzlich einige Klarstellungen erforderlich, die eine einheitlichere Umsetzung unterstützen sollen. Dazu zählt auch eine stärkere Betonung der Plausibilitätsprüfung von Bewertungsergebnissen. Auch die oben angesprochene Überarbeitung der Phytobenthos-Bewertungsmethode soll in die QZV Ökologie aufgenommen werden. Im Bereich der allgemeinen physikalisch-chemischen Qualitätskomponenten werden die bestehenden Grenz- und Richtwerte für DOC gestrichen, da sich gezeigt hat, dass die Wechselwirkungen zu Biologie nicht immer schlüssig sind. Neu wird auch, dass beim Chlorid auf Grund neuerer Erkenntnisse (WOLFRAM et.al., 2014) in Ergänzung zur bisherigen Regelung zum Schutz der aquatischen Lebensgemeinschaft eine zulässige Höchstkonzentration (ZHK) eingeführt wird. Die Richtwerte berücksichtigen somit die Auswirkungen von chronischer und akuter Belastung.

Eine Überarbeitung der nationalen Stoffliste ist für die kommenden Jahre vorgesehen. Die nationale Stoffliste wurde vor mehr als 10 Jahren erstellt und soll im Hinblick auf die Relevanz der Stoffe evaluiert werden.

6 Literatur

- BEKETOV, M., FOIT, K., SCHÄFER, R., SCHRIEVER, C., SACCHI, A., CAPRI, E., BIGGS, J., WELLS, C. & M. LIESS (2009): SPEAR indicates pesticide effects in streams - comparative use of species - and family-level biomonitoring data. *Environmental Pollution* 157: 1841-1848.
- BMLFUW (2003): Wasserrahmenrichtlinie-Qualitätsziele für chemische Stoffe in Oberflächengewässer. Strategiepapier AK-Chemie Überwachung und Ziele. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien
- BMLFUW (2017): Nationaler Gewässerbewirtschaftungsplan 2015. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien.
- BMNT (2018): Wassergüte in Österreich, Jahresbericht (2013-2015). Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus, Wien
- HAUNSCHMID R., SCHOTZKO N., PETZ-GLECHNER R., HONSIG-ERLENBURG W., SCHMUTZ S., UNFER G., WOLFRAM G., SPINDLER T., BAMMER V., HUNDRITSCH L., PRINZ H. & SASANO B. (2016): Leitfaden zur Erhebung der biologischen Qualitätselemente, Teil A1 – Fische, BMLFUW. ISBN: 978-3-85174-059-2

- HAUNSCHMID, R., WOLFRAM, G., SPINDLER, T., HONSIG-ERLENBURG, W., WIMMER, R., JAGSCH, A., KAINZ, E., HEHENWARTER K., WAGNER, B., KONECNY, R., RIEDMÜLLER, R., IBEL, G., SASANO, B., & SCHOTZKO, N. (2006): Erstellung einer fischbasierten Typologie österreichischer Fließgewässer sowie einer Bewertungsmethode des ökologischen Zustands gemäß Wasserrahmenrichtlinie. Schriftenreihe des Bundesamts für Wasserwirtschaft. Band 23.
- KREUZINGER (2007): Grundlagen des guten Zustands nach WRG – Qualitätselement allgemein chemische Parameter. Wiener Mitteilungen 201, 133-180.
- LIESS, M. & VON DER OHE, P.C. (2005): Analyzing effects of pesticides on invertebrate communities in streams. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 954-965.
- MOOG, O. et al. (2006): Standardisierung der habitatanteilig gewichteten Makrozoobenthos-Aufsammlung in Fließgewässern (Multi-Habitat-Sampling; MHS); BMLFUW publ.
- OFENBÖCK T., MOOG O., HARTMANN A. & STUBAUER I. (2016): Leitfaden zur Erhebung der biologischen Qualitätselemente, Teil A2 – Makrozoobenthos, BMLFUW; ISBN: 978-3-85174-060-8
- OFENBÖCK, T., MOOG, O., STUBAUER, I., GRAF, W., HUBER, T. & LEITNER, P. (2005): Entwicklung eines flächendeckend anwendbaren Systems zur Beurteilung des ökologischen Zustandes auf Basis des Makrozoobenthos. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 90 pp.
- PALL K. & MAYERHOFER V. (2016): Leitfaden zur Erhebung der biologischen Qualitätselemente, Teil A4 – Makrophyten, BMLFUW. ISBN: 978-3-85174-062-2
- PALL, K. & MOSER V (2006): Bewertungsverfahren für österreichische Fließgewässer nach EU-Wasserrahmenrichtlinie: Qualitätselement Makrophyten. Endbericht der Studie im Auftrag des Bundesministeriums für Land und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft.
- PFISTER P. & PIPP E. (2016): Leitfaden zur Erhebung der biologischen Qualitätselemente, Teil A3 – Phytobenthos, BMLFUW. ISBN: 978-3-85174-061-5
- PFISTER, P. & EHRENSPERGER, G. (2016): 2. Teil: Überarbeitung des Referenzartenmoduls und weiterführende Auswertungen zu den Änderungen beim Saprobie- und Trophiemodul. i.A. BMLFUW.
- PFISTER, P., & PIPP, E. (2005): Handlungsanweisung für die ökologische Bewertung österreichischer Fließgewässer an Hand des Phytobenthos zur Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie. Studie im Auftrag des Bundesministeriums für Land und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft.
- PFISTER, P., HOFMANN, G. & EHRENSPERGER, G. (2016): 1. Teil Überarbeitung des Trophie- und Saprobie-Bewertungssystems nach ROTT et al. 1997 bzw. 1999. i.A. BMLFUW.
- QZV - ÖKOLOGIE OG: Qualitätszielverordnung Ökologie Oberflächengewässer: Verordnung des Bundesministers für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft über die Festlegung des ökologischen Zustandes für Oberflächengewässer. BGBl. II Nr. 99/2010 i.d.g.F.

- ROTT, E., HOFMANN, G., PALL, K., PFISTER, P. & PIPP, E. (1997): Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation, geochemische Reaktion, toxikologische und taxonomische Anmerkungen. Publ. Wasserwirtschaftskataster, BMLF, 1-248.
- ROTT, E., Van DAM, H., PFISTER, P., PALL, K., BINDER, N. & ORTLER, K. (1999): Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 2: Trophieindikation, geochemische Reaktion, toxikologische und taxonomische Anmerkungen. Publ. Wasserwirtschaftskataster, BMLF, 1-248.
- SCHÖNHUBER, M. (2015): Einfluss der Almwirtschaft auf Phytobenthoszönosen. Kärntner Institut für Seenforschung, BMLFUW.
- STUBAUER, I. & MOOG, O. (2003): Saprobielle Grundzustände österreichischer Fließgewässer.- Wasserwirtschaftskataster, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien)
- WOLFRAM, G., RÖMER, J., HÖRL, C., STOCKINGER, W., RUZICKA, K., MUNTENAU, A. (2014): Chlorid – Auswirkungen auf die Aquatische Flora und Fauna, mit besonderer Berücksichtigung der vier biologischen Qualitätselemente gemäß WRRL. BMNT publ.
- ZELINKA, M. & MARVAN, P. (1961): Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer.- Arch. Hydrobiol. 57: 389-407

Korrespondenz an:

Dr. Karin Deutsch
Mag. Gisela Ofenböck

Bundesministerium für Nachhaltigkeit und Tourismus
Abt. IV/3 Nationale und Internationale Wasserwirtschaft
1030 Wien, Marxergasse 2

Tel.: 01/71100/607127 bzw. 607155

Mail: karin.deutsch@bmnt.gv.at; gisela.ofenboeck@bmnt.gv.at

Ökotoxikologische Biotests zur Beurteilung der Wasser- und Abwasserqualität

Cornelia Kienle, Etienne Vermeirssen, Inge Werner

Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL, Überlandstrasse
133, 8600 Dübendorf, Schweiz

Abstract: Zur Beurteilung der Wasserqualität können ökotoxikologische Biotests eingesetzt werden. Darunter versteht man Analysemethoden, die lebende Zellen, Organismen und Gemeinschaften einsetzen, um ihre Reaktion auf eine Belastung mit Schadstoffen zu messen. Damit lassen sich toxische Wirkungen von Einzelstoffen ebenso wie von Stoffgemischen erfassen. Biotests können, unter anderem, ergänzend zur klassischen Spurenanalytik eingesetzt werden, z.B. wenn die Elimination schädlicher Inhaltsstoffe in bestehenden Abwasserreinigungsverfahren oder neuen Verfahren gemessen werden soll. Damit lässt sich überprüfen, ob neben der Konzentration an Spurenstoffen auch damit verbundene Auswirkungen auf Wasserlebewesen verringert werden können. Zudem können auch Effekte durch Reaktionsprodukte z.B. aus einer Ozonung erfasst werden. Neben der Beurteilung der Abwasserqualität können Biotests u.a. auch zur Beurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Oberflächengewässern eingesetzt werden. Für eine erste Grobbeurteilung solcher Gewässer werden zwei Testverfahren vorgeschlagen um eine Belastung mit östrogen-aktiven und Photosystem II-hemmenden Stoffen zu erfassen. Das Konzept stellt einen ersten Schritt in Richtung ökotoxikologische Beurteilung der Wasserqualität dar. Dabei sind die vorgeschlagenen Biotests als Ergänzung zur üblichen Einzelstoffbeurteilung gedacht. Sie ermöglichen es eine breite Palette organischer Spurenstoffe integrativ zu erfassen.

Key Words: Testorganismus, Ökotoxikologie, Ozonung, Pulveraktivkohle, Gewässerbeurteilung

1 Einleitung

Ökotoxikologische Biotests sind Analysemethoden, die lebende Zellen, Organismen oder Gemeinschaften einsetzen, um deren Reaktion auf eine Belastung mit Schadstoffen zu messen (Fent, 2013). So können toxische Wirkungen von Einzelstoffen oder auch ganzen Stoffgemischen beurteilt werden.

Biotests mit Organismen wie Wasserflöhen, Glanzwürmern oder Fischen erfassen die Wirkung aller Stoffe in einer Wasserprobe, auf die diese Organismen empfindlich reagieren. Je nach Empfindlichkeit des eingesetzten Testorganismus und des gemessenen Endpunkts reagieren Biotests dabei unterschiedlich gut auf verschiedene Stoffgemische. Zudem lässt sich mit einem einzigen spezifischen Biotest die Kombinationswirkung sämtlicher vorhandener Einzelstoffe mit demselben Wirkmechanismus testen. Dies ist vor allem von Vorteil, wenn die Stoffe chemisch-analytisch nur schwer nachweisbar sind, wie z.B. bei östrogen-aktiven Stoffen. Der Einsatz von Biotests kann eine sinnvolle Ergänzung zur klassischen Spurenanalytik darstellen, um beispielsweise die Elimination schädlicher Inhaltsstoffe in bestehenden Abwasserreinigungsverfahren oder neuen Verfahren zu messen. So kann überprüft werden, ob neben den Konzentrationen an Spurenstoffen auch damit verbundene Auswirkungen auf Wasserlebewesen verringert werden können. Des Weiteren können Effekte durch Reaktionsprodukte z.B. aus einer Ozonung erfasst werden.

Je nach dem Ziel einer Untersuchung können die Biotests entweder im Labor unter standardisierten Bedingungen (*in vitro*, *in vivo*) oder im Feld (*in situ*) durchgeführt werden. Der Einsatz der verschiedenen Tests ist abhängig von der Fragestellung:

In vitro-Biotests verwenden Zellkulturen und Einzeller und werden unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt. Sie beruhen auf der Erfassung spezifischer zellulärer Mechanismen und werden häufig mit einer Probenanreicherung kombiniert. Dadurch ermöglichen sie eine sehr empfindliche Bestimmung der Wirkung bestimmter Stoffklassen mit gleichem Wirkmechanismus, wie zum Beispiel östrogen-wirksame oder Photosynthese-hemmende Stoffe (u.a. bestimmte Herbizide), in relativ kurzer Zeit (Stunden bis wenige Tage).

In vivo-Biotests erfassen integrativ Effekte auf ganze Organismen. Hierbei werden oft Testarten aus verschiedenen Ernährungsebenen (Bakterien, Algen, höhere Wasserpflanzen, Wirbellose und Fische) ausgewählt, um eine Nahrungskette abzubilden (siehe Abb. 1). Es werden schädliche Effekte auf Wachstum, Sterblichkeit oder Fortpflanzung der Organismen erfasst. *In vivo*-Biotests werden in der Regel mit nativen, nicht angereicherten Wasserproben durchgeführt. Sie erfassen die Wirkung aller Stoffe einer Wasserprobe auf die die Testorganismen empfindlich reagieren, allerdings können sie keine bzw. nur begrenzt Auskunft darüber geben, welche Stoffklasse(n) für die schädigende Wirkung verantwortlich sind. Hierfür müssen sie meist mit weiteren Untersuchungen spezifischer biochemischer Effekte, sogenannten Biomarkern, kombiniert werden. Ein zusätzlicher wichtiger Aspekt ist die Testdauer: Sollen

die Auswirkungen von Mikroverunreinigungen zeitnah erfasst werden, sind *in vitro*-Biotests mit angereicherten Proben häufig empfindlicher und auch schneller als *in vivo*-Biotests.

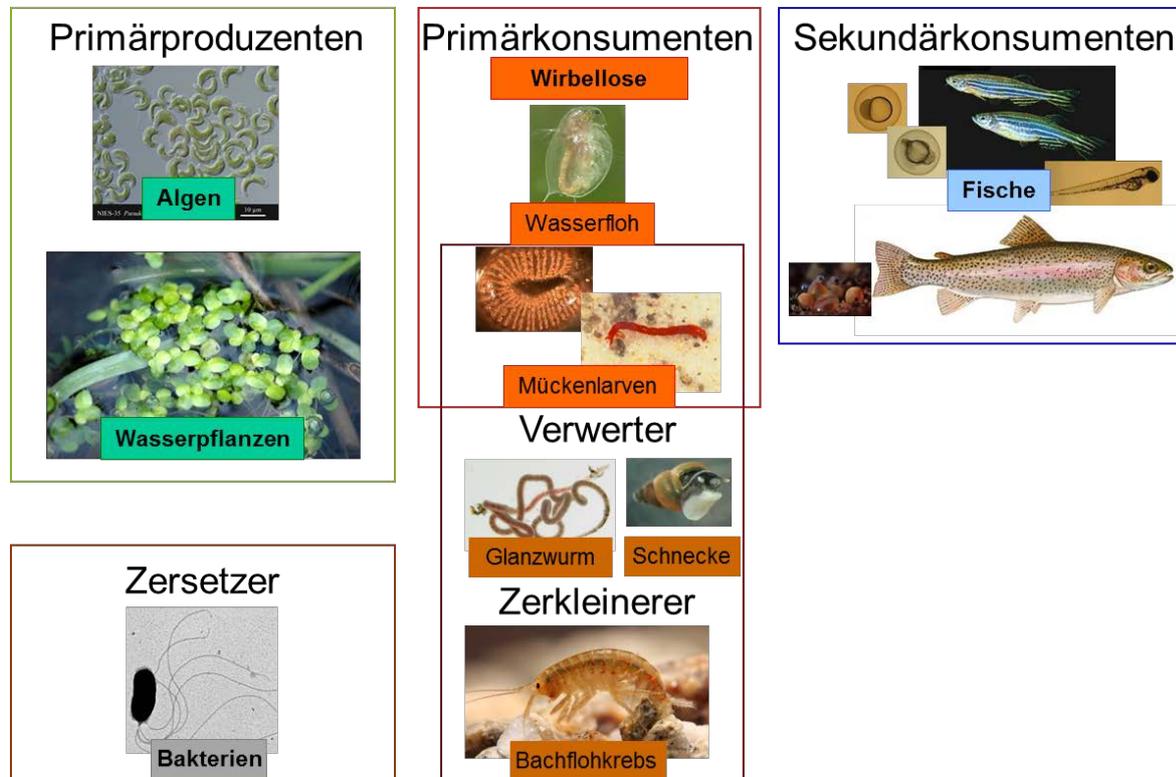


Abbildung 1: Häufig verwendete aquatische Biotestorganismen auf verschiedenen Ernährungsebenen (nach Kienle et al. (2011)).

In situ-Biotests erfassen Effekte auf Organismen direkt im Ökosystem. Es gibt verschiedenste *in situ*-Methoden. Die Organismen werden meist in Käfigen im zu untersuchenden Gewässer ausgebracht oder in Bypässen in Durchfluss-Aquarien gegenüber Flusswasser exponiert. Gemessen wird ihre Reaktion auf vorhandene abiotische Umweltfaktoren, die neben z.B. Temperatur, pH-Wert, Nährstoffen und Sauerstoffgehalt, auch die Belastung mit Umweltchemikalien einschliessen. Die Tests dauern von einer Woche bis zu mehreren Monaten. Hierdurch wird eine hohe ökologische Relevanz gewährleistet. Da die Tests nicht unter kontrollierten Laborbedingungen durchgeführt werden und die gemessenen Effekte zudem verschiedene Ursachen haben können, ist die Interpretation der Ergebnisse solcher Tests schwieriger als bei *in vitro*- und *in vivo*-Biotests. Der finanzielle und personelle Aufwand ist in der Regel relativ hoch, auch ist es schwierig diese Tests zu standardisieren (Connon et al., 2012).

Alle diese Biotests können zur Beurteilung der Wasserqualität eingesetzt werden. Hierbei sollte die Auswahl der Tests auf das Ziel der Untersuchung abgestützt

werden. Sollen spezifische Stoffklassen wie z.B. östrogen-aktive Stoffe erfasst werden, sind *in vitro*-Biotests geeignet. Für eine integrative Untersuchung von Effekten von Wasserproben auf ganze Organismen im Labor sind *in vivo*-Biotests die Methode der Wahl, und soll schliesslich die Wasserqualität unter möglichst realistischen Bedingungen im Gewässer beurteilt werden, bieten sich *in situ*-Biotests an. Bei der Testauswahl ist zu berücksichtigen, dass der finanzielle und personelle Aufwand von den *in vitro*-Biotests bis hin zu *in situ*-Tests deutlich ansteigt.

2 Anwendung von Biotests zur Beurteilung der Elimination von Mikroverunreinigungen in Kläranlagen

2.1 Strategie Micropoll

2.1.1 Überblick

Im Projekt “Strategie Micropoll” des Schweizerischen Bundesamtes für Umwelt (BAFU) wurde eine Strategie bezüglich Mikroverunreinigungen aus kommunalen Abwasser erarbeitet (Abegglen und Siegrist, 2012). Unter anderem im Rahmen von Pilotversuchen wurde die Effizienz von Technologien zur weitergehenden Behandlung von biologisch gereinigtem Abwasser untersucht. Dazu gehören u.a. Ozonung mit nachgeschalteter Sandfiltration, und Pulveraktivkohlebehandlung mit nachgeschalteter Filtration (z.B. einer Sand- oder Ultrafiltration) zur Elimination von Mikroverunreinigungen (im Besonderen polaren, persistenten und bioaktiven Substanzen) aus kommunalem Abwasser. Die Effizienz dieser Technologien wurde in zwei grosstechnischen Pilotstudien auf der Abwasserreinigungsanlage (ARA) Wüeri in Regensdorf (CH) und der ARA Vidy in Lausanne (CH) untersucht. Dies wurde in enger Kooperation mit Experten aus Forschung und Praxis und personeller und finanzieller Unterstützung der kantonalen Umweltschutzämter und der ARA Betreiber durchgeführt (Kienle et al., 2015a).

2.1.2 Methoden

Im Rahmen des Projekts wurden zahlreiche Biotestsysteme auf ihre Eignung untersucht, die Elimination von Mikroverunreinigungen in Kläranlagen zu überprüfen. Einbezogen wurden sowohl zellbasierte (*in vitro*) Biotests als auch organismische (*in vivo*) Biotests, um eine breite Palette von ökotoxikologischen Wirkungen auf Zellen und Organismen verschiedener Ernährungsstufen abzudecken. Es wurden neben angereicherten Wasserproben auch Wasserproben ohne Anreicherung untersucht, um sogenannte „Blind Spots“, die durch den

Verlust von Stoffen bei der Probenaufbereitung entstehen können, zu berücksichtigen (Kienle et al., 2015a).

2.1.3 Schlussfolgerungen

Die Anwendung von Biotests zur Leistungsbeurteilung von weitergehenden Abwasserreinigungsverfahren, wie z.B. Ozonung oder Pulveraktivkohle-Behandlung, hat sich als relevant und nützlich erwiesen. Unter anderem in der Pilotstudie auf der ARA Vidy Lausanne hat sich gezeigt, dass *in vitro*-Biotests, die spezifische Effekte (z.B. Photosynthesehemmung oder östrogene Aktivität) anzeigen, hierfür am geeignetsten sind. Aber auch bestimmte *in vivo*-Biotests wie der *fish early life stage toxicity* Test mit Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) zeigten die Vorteile von Ozonung und PAK-Behandlung. Mögliche Risiken durch biologisch abbaubare Reaktionsprodukte, die bei der Ozonung entstehen, können mit einem abschliessenden Filtrationsschritt mit biologischer Aktivität (z.B. ein Sandfilter) eliminiert werden. Es konnte gezeigt werden, dass durch die weitergehende Abwasserreinigung ein breites Spektrum von ökotoxikologischen Effekten um mehr als 80% entfernt wurde. Dabei waren beide Behandlungsmethoden ähnlich effizient (Kienle et al., 2015a).

Weitere Informationen zur Studie finden sich in Kienle et al. (2011) und Kienle et al. (2015a).

2.2 ReTREAT - Biologische Nachbehandlung von kommunalem Abwasser nach Ozonung

2.2.1 Überblick

Im ReTREAT-Projekt wurde die Effizienz der Ozonung in Kombination mit verschiedenen Nachbehandlungsverfahren zur Reduzierung von labilen Reaktionsprodukten und dadurch von möglichen ökotoxikologischen Wirkungen („Auffälligkeiten“) untersucht. Insbesondere ging es darum zu beobachten, ob anhand der angewendeten Biotests die Leistung (hinsichtlich des Abbaus von labilen Reaktionsprodukten und der damit verbundenen Toxizität) der untersuchten Nachbehandlungsverfahren unterschieden werden kann. Zusätzlich können mit einem Teil der Biotests auch Aussagen über die Leistungsfähigkeit der Ozonung (und der Nachbehandlungen) zur Entfernung von Mikroverunreinigungen gemacht werden. Das vorliegende Projekt wurde auf der ARA Neugut in Dübendorf – der ersten grosstechnischen Ozonungsanlage der Schweiz zur Behandlung von kommunalem Abwasser – durchgeführt. Details zur Studie finden sich in Böhler et al. (2017) und Kienle et al. (2017).

2.2.2 Methoden

Um die Effizienz der Ozonung und der Nachbehandlungen zu evaluieren, wurden Proben vor und nach den verschiedenen Reinigungsstufen auf ökotoxikologische Effekte untersucht. Im Projekt wurden die folgenden Nachbehandlungsverfahren untersucht:

- Sandfilter (volltechnisch)
- Wirbelbett (Pilotmassstab)
- Festbett (Pilotmassstab)
- Granulierter Aktivkohlefilter mit neuer (d.h. nur wenig beladener) Aktivkohle (13'000 bis 20'000 Bettvolumina (BV)) (Pilotmassstab)
- Granulierter Aktivkohlefilter mit stark vorbeladener Aktivkohle (35'000 bis 43'000 BV; siehe dazu Böhler et al. (2017) (Pilotmassstab)

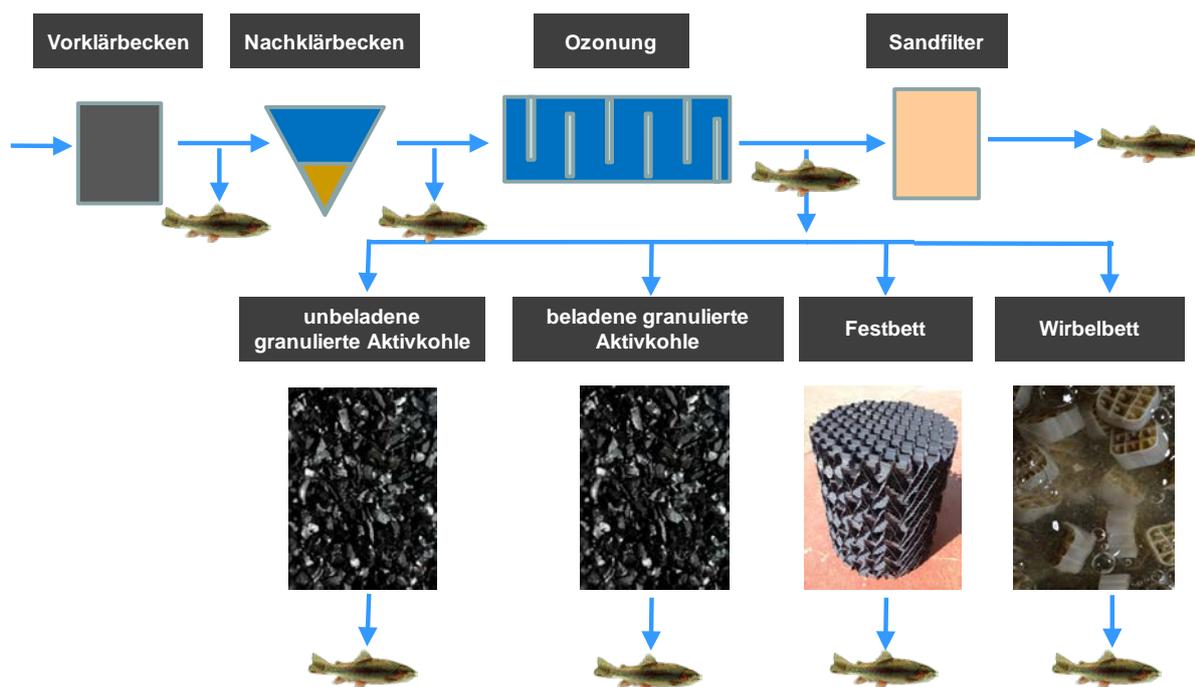


Abbildung 2: Im Projekt ReTREAT untersuchte Abwasserreinigungsstufen und Probenahmestellen für die Biotests (gekennzeichnet durch Fisch-Symbol).

Die Biotests wurden von Februar bis April 2015 durchgeführt. In dieser Zeit wurden die Ozondosis und weitere Betriebsparameter konstant gehalten ($2.7 \text{ g O}_3/\text{m}^3$). Abbildung 3 gibt einen Überblick über die eingesetzten Testverfahren.

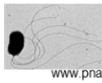
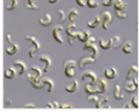
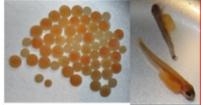
Biotest	Detektion von		
Ames-Test	Mutagenität		<ul style="list-style-type: none"> • im Labor • 3 Kampagnen • mit Probenextrakten
Leuchtbakterientest	Generelle Toxizität auf Bakterien		
Kombinierter Algentest mit Grünalgen	Hemmung der Photosynthese und des Wachstums		
Fortpflanzungstest mit Wasserflöhen	Hemmung der Fortpflanzung		<ul style="list-style-type: none"> • im Labor • 3 Kampagnen • mit nativen Proben
Glanzwurm-Fortpflanzungstest	Hemmung des Wachstums und der Fortpflanzung		<ul style="list-style-type: none"> • Auf der ARA im Durchfluss • über 1 bzw. 3 Monate
<i>Fish early life stage toxicity</i> -Test mit Regenbogenforellen	Überleben, Schlupf, Aufschwimmen, Länge, Gewicht und subletale Biomarker		

Abbildung 3: Im Projekt ReTREAT eingesetzte Biotests.

2.2.3 Ergebnisse

Auffälligkeiten in der Ozonung

Leichte Auffälligkeiten nach der Ozonung wurden in zwei Biotests gemessen, dem Ames-Test und dem Fortpflanzungstest mit Wasserflöhen. Das ozonierte Abwasser hatte keine Auswirkungen auf die Fortpflanzung von Glanzwürmern und die Entwicklung von frühen Lebensstadien von Regenbogenforellen.

Leistungsfähigkeit der Ozonung

Die Leistungsfähigkeit der Ozonung (und teilweise auch der Nachbehandlungen) konnte mit mehreren ökotoxikologischen Biotests gut überprüft werden. Drei Biotests zeigten Verbesserung von ökotoxikologischen Effekten durch die Ozonung auf. Die Toxizität des biologisch gereinigten Abwassers wurde effizient reduziert, um 66% in Leuchtbakterien und um 80% in Grünalgen. Zudem zeigte sich ein verändertes Muster der Genexpression bei Forellen. Insgesamt zeigen die Durchflusstests mit Glanzwürmern und Regenbogenforellen, dass das biologisch gereinigte Abwasser und das ozonierte Abwasser der ARA Neugut kaum toxisch waren.

Leistungsfähigkeit der Nachbehandlungen

Von den getesteten Nachbehandlungen, war die unbeladene granulierte Aktivkohle am effektivsten. Sie reduzierte die geringe verbliebene Toxizität um um 66% bei Grünalgen. Zudem waren die Genexpression und der Gewebezustand der Regenbogenforellen aus dieser Nachbehandlung dem Zustand von Kontrollfischen am ähnlichsten. Beladene granulierte Aktivkohle zeigte ebenfalls eine geringfügige Verbesserung an (im kombinierten Algentest mit Grünalgen). Andere Nachbehandlungen erbrachten keine konsistente Verbesserung

2.2.4 Schlussfolgerungen

Die ARA Neugut ist grundsätzlich ein gut geeigneter Standort für eine Ozonung. Sie reinigt kommunales Abwasser und Industrieabwasser aus der Nahrungsmittelindustrie. Nach Vorabklärungen wurde daher dort die erste volltechnische Ozonung der Schweiz gebaut. Im Projekt ReTREAT konnte bestätigt werden, dass durch die Ozonung keine oder kaum problematische Reaktionsprodukte („Auffälligkeiten“) gebildet wurden und das Toxizitätsniveau direkt nach der Ozonung erwartungsgemäss sehr gering war.

Auch konnte mit den durchgeführten Biotests die Leistungsfähigkeit der Ozonung und teilweise auch der Nachbehandlungen gut beurteilt werden: Durch die zusätzliche Behandlung des biologisch gereinigten Abwassers mit Ozon konnten ökotoxikologische Effekte – wie Algen- und Leuchtbakterientoxizität oder erhöhte Genexpression von schadstoffrelevanten Genen – signifikant verringert und dadurch verbessert werden. Auf Grund des geringen Toxizitätsniveaus direkt nach der Ozonung war ein direkter Vergleich der untersuchten Nachbehandlungsverfahren mit Hilfe der angewandten Biotests schwierig. Einzig bei zwei Biotests im Labor (Leuchtbakterien- und kombinierter Algentest) sowie den subletalen Endpunkten in Langzeitversuchen mit Regenbogenforellen konnten geringfügige Unterschiede in der Effizienz der verschiedenen Nachbehandlungen zur Elimination der Effekte von Spurenstoffen aufgezeigt werden (Kienle et al., 2017).

3 Anwendung von Biotests zur Beurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Oberflächengewässern

3.1 Einleitung

In der Schweiz werden im Rahmen des Projektes Modul-Stufen-Konzept (MSK) (www.modul-stufen-konzept.ch) standardisierte Methoden für die Untersuchung und Bewertung des Zustandes der Fließgewässer erarbeitet, um so strukturelle,

hydrologische, biologische, chemische sowie ökotoxikologische Aspekte der Wasserqualität zu erfassen und gegebenenfalls Massnahmen zur Verminderung dieser Belastung ergreifen zu können (Liechti et al., 1998).

Zielsetzung der Arbeiten im Rahmen eines Moduls Ökotoxikologie innerhalb des MSK war die Entwicklung eines Konzeptes zur routinemässigen Beurteilung der Wasserqualität anhand von ökotoxikologischen Biotests, bestehend aus Probenahme, Probenaufbereitung, Durchführung der Biotests und Beurteilung der Effekte. Die Biotests sollen sensitiv, wirkungsbasiert, einfach durchführbar, kostengünstig und gut interpretierbar sein. Für eine erste Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern mit ökotoxikologischen Biotests werden folgende Schritte vorgeschlagen (Abbildung 4).



Abbildung 4: Elemente des Vorschlags für ein Beurteilungskonzept (Grafik: Eawag).

In einem ersten Schritt wird die Belastung durch kommunales Abwasser abgeschätzt. Übersteigt der Abwasseranteil eine bestimmte Schwelle (10%), sollte eine Untersuchung des Abwassers mit Biotests erfolgen. Eine Abschätzung der Belastung im Fließgewässer erfolgt anschliessend über die Verdünnung des Abwassers im Gewässer. Im Folgenden werden die einzelnen Elemente des Beurteilungskonzeptes kurz beschrieben. Details zur Studie finden sich in Kienle et al. (2015b).

3.2 Elemente des Beurteilungskonzeptes

Probenahme und Probenaufbereitung: Zur Probenahme werden Sammelproben über mindestens 24 Stunden oder (falls ersteres nicht möglich) Stichproben empfohlen. Diese müssen bei 2-8°C transportiert werden. Eine Aufbewahrung bei dieser Temperatur ist für max. 72 h möglich, anschliessend sollten die Proben tiefgefroren werden. Die Probenaufbereitung erfolgt in der Regel mit einer Festphasenextraktion.

Testverfahren für die Untersuchung der Wasserqualität: Für die Grobbeurteilung wurden zwei ökotoxikologisch relevante Stoffgruppen ausgewählt: Photosystem II (PSII)-hemmende und östrogen-aktive Stoffe. Die biologische Wirkung dieser beiden Stoffgruppen kann mit ökotoxikologischen Biotests bestimmt werden. Die Bestimmung der Wasserqualität in Bezug auf PSII-hemmende Stoffe kann mit Hilfe des kombinierten Algentests mit einzelligen Grünalgen (*Raphidocelis subcapitata*) erfolgen. Das Photosystem II spielt eine zentrale Rolle in der Photosynthese der Algen; wird es gehemmt können die Algen nicht mehr wachsen. Der kombinierte Algentest ist einfach und kostengünstig durchführbar und hat in zahlreichen bisherigen Studien gute und robuste Ergebnisse geliefert. Zur Ermittlung der Belastung mit östrogen-aktiven Stoffen im Abwasser ist der Yeast Estrogen Screen (YES), ein Biotest mit genetisch veränderten Hefen (*Saccharomyces cerevisiae*), aufgrund seiner Robustheit gut geeignet. Für diesen Test gibt es mehrere Varianten, für die ISO-Protokoll-Entwürfe zur Zertifizierung durch die International Organization for Standardization (ISO) eingereicht sind. Eine definitive Testempfehlung für beide Biotests ist aufgrund der ausstehenden ISO-Zertifizierungen derzeit noch nicht möglich. Es werden daher erprobte Varianten dieser Tests beschrieben, die für eine Grobbeurteilung eingesetzt werden können. Die Auswertung in beiden Tests erfolgt nach dem BEQ-Prinzip (z.B. (Escher et al., 2008; Escher et al., 2015)). Hierbei wird die Effektkonzentration der Probe in Bezug zur Effektkonzentration einer Referenz (Diuron für Algentest und 17β-Estradiol für den YES) gesetzt und als Diuron-Äquivalenz-(DEQ) oder 17β-Estradiol-Äquivalenz-(EEQ) Konzentration (ng/L) bestimmt.

Beurteilung der Wasserqualität: Die Beurteilung der Messwerte erfolgt, in Anlehnung an die Methoden des MSK, mit Hilfe eines klassenbasierten Zustandsbeurteilungssystems. Hierfür werden verfügbare Vorschläge für chronische Umweltqualitätskriterien von östrogen-aktiven und PSII-hemmenden Stoffen einbezogen. Soll die Einteilung analog zum Modulstufenkonzept (Baumann und

Langhans, 2010; Liechti et al., 1998) anhand von fünf Beurteilungsklassen erfolgen, sähe eine mögliche Einteilung folgendermassen aus (Tabelle 1).

Tabelle 1: Vorschlag für eine Evaluation der Wasserqualität für östrogen-aktive und PSII-hemmende Stoffe basierend auf fünf Zustandsklassen (angepasst nach Götz et al. (2011) und Liechti (2010)). BEQ = bioanalytische Äquivalenzkonzentration, RQ = Risikoquotient = Verhältnis von BEQ zu chronischem Umweltqualitätskriterium

Beurteilung		Bedingung/Beschreibung		Einhaltung Zielvorgabe
sehr gut	BEQ ist mehr als 10 Mal kleiner als das chronische Qualitätskriterium für 17 β -Estradiol/Diuron	RQ < 0.1	Eingehalten	
gut	BEQ ist 1 bis 10 Mal kleiner als das chronische Qualitätskriterium für 17 β -Estradiol/Diuron	$0.1 \leq RQ < 1$		
mässig	BEQ ist kleiner als das 2.5-fache chronische Qualitätskriterium für 17 β -Estradiol/Diuron	$1 \leq RQ < 2.5$	Überschritten	
unbefriedigend	BEQ ist gleich oder grösser als das 2.5-fache chronische Qualitätskriterium für 17 β -Estradiol/Diuron	$2.5 \leq RQ < 10$		
schlecht	BEQ ist gleich oder grösser als das 10-fache chronische Qualitätskriterium für 17 β -Estradiol/Diuron	$RQ \geq 10$		

3.3 Anwendung des Beurteilungskonzeptes im Projekt EcoImpact

3.3.1 Einleitung

Ziel des Projektes EcoImpact der Eawag ist die Untersuchung der Auswirkungen von Mikroverunreinigungen aus Kläranlagenabwasser auf Fließgewässerökosysteme. Hierbei soll sowohl die derzeitige Situation, als auch die Veränderung durch den Ausbau mit weitergehenden Abwasserreinigungsverfahren, wie z.B. eine Ozonung oder Pulveraktivkohlestufe, oder die Abschaltung von Kläranlagen evaluiert werden (weitere Informationen siehe: <http://www.eawag.ch/de/forschung/wasser-fuer-die-oekosysteme/schadstoffe/ecoinpact/>). Im Rahmen dieses Projektes wurden beide vorgeschlagenen Biotests, der YES und der kombinierte Algentest, auf Proben von 12 Kläranlagen mit angrenzenden Fließgewässern angewendet.

3.3.2 Methoden

Sowohl im ARA-Ablauf als auch im Fließgewässer wurden Stichproben genommen. Die Proben wurden jeweils mittels einer Festphasenextraktion aufkonzentriert. Mit allen Proben wurden sowohl der YES als auch der kombinierte Algentest durchgeführt. Da bei diesem Projekt die Belastung direkt im Fließgewässer erfasst wurde, erfolgte die Beurteilung der Belastung mittels der dort gemessenen EEQ- und DEQ-Werte. Diese Werte wurden mit ökotoxikologischen Qualitätskriterien verglichen und anhand des vorgeschlagenen 5stufigen Konzeptes beurteilt.

3.3.3 Ergebnisse

Beim Parameter östrogene Aktivität ebenso wie bei der Hemmung des Photosystems II konnte ein Einfluss der Kläranlage im Allgemeinen gut festgestellt werden: Im Gewässer unterhalb des Kläranlagenablaufs waren die EEQ- ebenso wie die DEQ-Werte aus den Biotests in der Regel höher als davor (Kienle et al., 2015b).

Die Beurteilung der Fließgewässerbelastung mittels der dort gemessenen EEQ- und DEQ-Werte anhand des Vorschlags für ein 5-stufiges Beurteilungskonzept ergab eine gute Wasserqualität bezüglich östrogen-aktiver Stoffe in allen 12 untersuchten Gewässern (Abbildung 5).

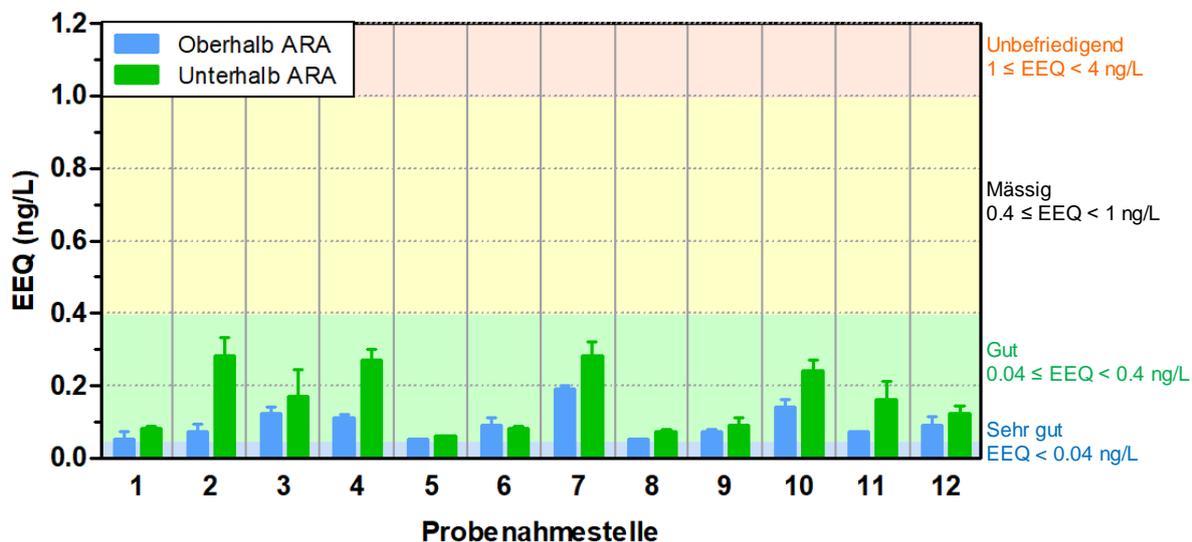


Abbildung 5: Beurteilung der Belastung mit östrogen-aktiven Stoffen in den 12 in EcoImpact untersuchten Fließgewässern anhand des Vorschlags für ein 5-stufiges Beurteilungskonzept. ARA = Abwasserreinigungsanlage, EEQ = 17 β -Estradiol-Äquivalenzkonzentration.

In Bezug auf Photosystem II-hemmende Stoffe zeigte sich eine andere Situation (Abbildung 6).

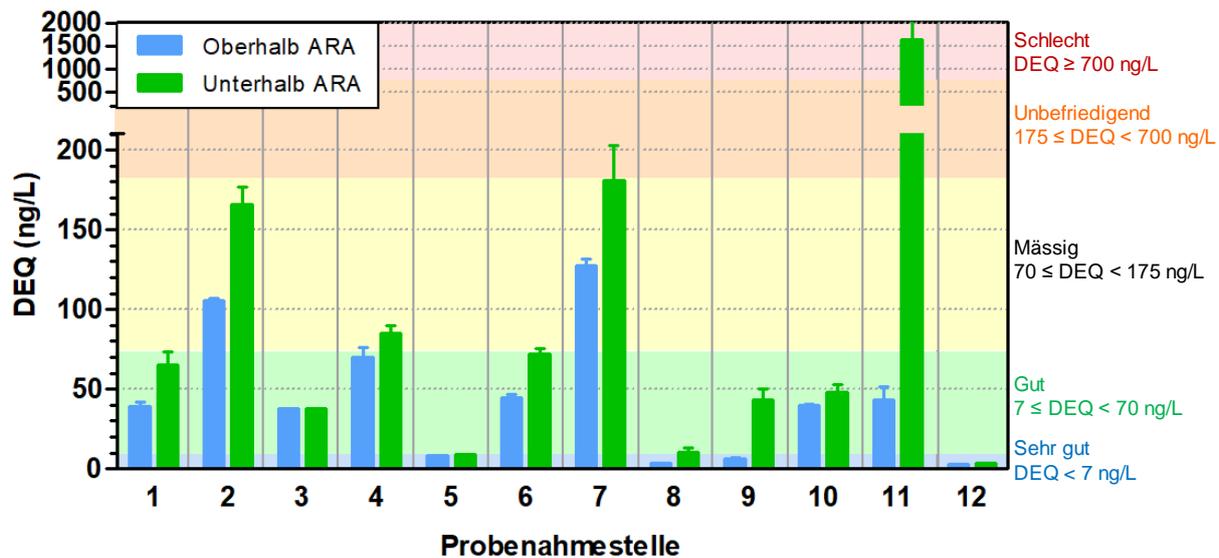


Abbildung 6: Beurteilung der Belastung mit Photosystem II-hemmenden Stoffen in den 12 in EcoImpact untersuchten Fließgewässern anhand des Vorschlags für ein 5-stufiges Beurteilungskonzept. ARA = Abwasserreinigungsanlage, DEQ = Diuron-Äquivalenzkonzentration.

Bei dieser Stoffklasse lag bei 9 Fließgewässern oberhalb der ARA und bei 7 unterhalb der ARA eine sehr gute bzw. gute Wasserqualität vor. Drei Gewässer zeigten oberhalb der ARA eine mässige Wasserqualität. Diese Befunde wurden durch den Einfluss des ARA-Abwassers verstärkt: Unterhalb der ARA waren 3 Gewässer mässiger Qualität, ein Gewässer wurde als unbefriedigend beurteilt und in einem Gewässer war die Wasserqualität bzgl. Photosystem II-hemmender Stoffe schlecht. Hier fand vermutlich zwischen Kläranlagenablauf und Probenahmestelle im Fließgewässer ein Herbizideintrag statt. Das Biotestergebnis wurde durch die chemische Analytik bestätigt, wobei das Herbizid Terbutylazin als der hauptsächlich für den Effekt verantwortliche Stoff identifiziert werden konnte. Die Konzentration unterhalb der ARA lag bei 3000 ng/L, wobei diese Substanz etwa ein Drittel so stark auf das Photosystem II wirkt wie Diuron.

3.4 Schlussfolgerungen

Die vorgestellte Methode ist für die Beurteilung von abwasserbelasteten Gewässern konzipiert und stellt einen ersten Schritt in Richtung integrative ökotoxikologische Beurteilung der Wasserqualität dar. Da die Wirkungen aller in der Wasserprobe vorhandenen Stoffe auf die Bindung an den menschlichen Östrogenrezeptor und die Hemmung des PSII erfasst werden, wird auch eine

Beurteilung der Mischungseffekte beider Stoffklassen ermöglicht. Dadurch kann eine erste Grobbeurteilung der ökotoxikologischen Belastung anhand der ausgewählten Effektgruppen durchgeführt werden. Die vorgeschlagenen Biotests sind als Ergänzung zur üblichen Einzelstoffbeurteilung gedacht und ermöglichen es, eine breite Palette organischer Spurenstoffe integrativ zu erfassen. Die Belastung mit östrogen-aktiven und PSII-hemmenden Stoffen, zwei relevanten Stoffgruppen für Wasserlebewesen, kann möglicherweise stellvertretend für eine Vielzahl weiterer Belastungen ermittelt werden. Über- oder Unterschreitungen von Qualitätskriterien basierend auf ökotoxikologischen Effektdaten können so ermittelt und bewertet werden.

Grundsätzlich stützt sich die Methode auf die Evaluierung der Effekte im Abwasser, die Beurteilung der Wasserqualität im Fließgewässer erfolgt über die Einbeziehung des Verdünnungskoeffizienten. Allerdings kann, wie das Projekt EcoImpact gezeigt hat, zusätzlich zu einer Belastung durch Abwasser auch eine relevante zusätzliche Belastung durch diffuse Quellen auftreten. Dies muss für eine abschliessende Einschätzung der Belastungssituation im Fließgewässer beachtet werden.

Bei der Anwendung des vorgestellten Grobbeurteilungskonzeptes muss ausserdem beachtet werden, dass mit den ausgewählten Tests spezifische ökotoxikologische Potentiale auf suborganismischer Ebene bestimmt werden können. Indirekt können damit auch Rückschlüsse auf weiterreichende Wirkungen, wie die Fortpflanzung von Fischen oder das Wachstum von Algen und weiteren Primärproduzenten getroffen werden (z.B. Jobling et al., 2006; Kidd et al., 2007; Langer et al., 2017).

Für die weitere Entwicklung von Konzepten zur Beurteilung der Wasserqualität anhand ökotoxikologischer Biotests werden die folgenden Schritte empfohlen:

- *Standardisierung:* Für die Finalisierung des Grobbeurteilungskonzeptes ist eine aktive Beteiligung der Schweiz an den Arbeiten zur Teststandardisierung und ISO-Zertifizierung essentiell. Dies wird durch das Oekotoxzentrum mit verschiedenen Partnern derzeit aktiv unterstützt.
- *Erweiterung um andere Wirkmechanismen:* Nach und nach sollten geeignete Tests für weitere Wirkmechanismen bzw. Stoffgruppen in ein Beurteilungskonzept einbezogen werden. Vom Oekotoxzentrum wurde hierfür ein Methodenüberblick mit Vorschlägen für vielversprechende Biotests erarbeitet (Kienle et al., 2015).
- *Erweiterung für die Beurteilung von diffusen Belastungen:* Das vorgestellte Konzept ist im Moment nur für die Anwendung auf Punktquellen (kommunale Abwässer) ausgelegt. Um die Gesamtbelastung im Gewässer

zu erfassen, wäre es sinnvoll und zu empfehlen, das Konzept in den nächsten Jahren um die Beurteilung der Gewässerbelastung mit Mikroverunreinigungen aus diffusen Quellen zu erweitern (analog BAFU-Projekt „Mikroverunreinigungen aus diffusen Quellen“ (Wittmer et al., 2014)).

4 Synthese

Die oben vorgestellten Projekte haben gezeigt, dass Mikroverunreinigungen negative Auswirkungen auf Wasserlebewesen haben können. Ökotoxikologische Biotests sind geeignet um diese Auswirkungen und deren Verringerung, z.B. durch die Aufrüstung von Kläranlagen mit weitergehenden Reinigungsmethoden wie Ozonung oder Aktivkohlebehandlung, zu messen. Verschiedenste Studien haben gezeigt, dass sich Wirkungen auf Wasserlebewesen mit solchen weitergehenden technischen Verfahren verringern bzw. eliminieren lassen. Damit lässt sich ein verbesserter Schutz der Gewässerökosysteme erreichen.

5 Danksagung

Die Autoren möchten den Mitarbeitern der verschiedenen Kläranlagen, den Mitgliedern der Begleitgruppen im Projekt „Strategie Micropoll“ und im „Modul Ökotoxikologie“, sowie allen Projektpartnern der verschiedenen Projekte für Ihren Einsatz danken. Ein grosser Dank gilt auch unseren Kollegen von Oekotoxzentrum und Eawag. Die Projekte wurden vom Bundesamt für Umwelt, der EU (FP7 Projekt DEMEAU, No. 308339) und dem Oekotoxzentrum finanziert.

6 Literatur

- Abegglen C, Siegrist H, 2012. Mikroverunreinigungen aus kommunalem Abwasser. Verfahren zur weitergehenden Elimination auf Kläranlagen. In: Bundesamt für Umwelt Bern, editor. Umwelt-Wissen Nr 1214, 210 S.
- Baumann P, Langhans SD, 2010. Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fliessgewässer. Synthese der Beurteilungen auf Stufe F (flächendeckend). Umwelt-Vollzug: Bundesamt für Umwelt, Bern. p. 47.
- Böhler M, Blunschi M, Czekalski N, Fleiner J, Kienle C, Langer M, McArdell CS, Teichler R, Siegrist H, 2017. Biologische Nachbehandlung von kommunalem Abwasser nach Ozonung - ReTREAT, Abschlussbericht für das Bundesamt für Umwelt (Bafu) im Rahmen eines Projektes der Technologieförderung, Eawag, Dübendorf.

- Connon RE, Geist J, Werner I, 2012. Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. *Sensors* 12:12741-12771.
- Escher BI, Bramaz N, Mueller JF, Quayle P, Rutishauser S, Vermeirssen ELM, 2008. Toxic equivalent concentrations (TEQs) for baseline toxicity and specific modes of action as a tool to improve interpretation of ecotoxicity testing of environmental samples. *Journal of environmental monitoring : JEM* 10:612-621.
- Escher BI, Neale PA, Leusch FDL, 2015. Effect-based trigger values for in vitro bioassays: Reading across from existing water quality guideline values. *Water Res* 81:137-148.
- Fent K, 2013. *Ökotoxikologie, Umweltchemie - Toxikologie - Ökologie*, 4 ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Götz CW, Kase R, Hollender J, 2011. Mikroverunreinigungen - Beurteilungskonzept für organische Spurenstoffe aus kommunalem Abwasser. Studie im Auftrag des BAFU: Eawag, Dübendorf. p. 108.
- Jobling S, Williams R, Johnson A, Taylor A, Gross-Sorokin M, Nolan M, Tyler CR, van Aarle R, Santos E, Brighty G, 2006. Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environ Health Perspect* 114 Suppl 1:32-39.
- Kidd KA, Blanchfield PJ, Mills KH, Palace VP, Evans RE, Lazorchak JM, Flick RW, 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:8897-8901.
- Kienle C, Kase R, Schärer M, Werner I, 2015a. Ökotoxikologische Biotests - Anwendung von Biotests zur Evaluation der Wirkung und Elimination von Mikroverunreinigungen. *Aqua & Gas* 7/8:18-26.
- Kienle C, Kase R, Werner I, 2011. Evaluation of bioassays and wastewater quality - In vitro and in vivo bioassays for the performance review in the project "Strategy Micropoll". Swiss Centre for Applied Ecotoxicology Eawag-EPFL, Dübendorf.
- Kienle C, Langer M, Ganser B, Gut S, Schifferli A, Thiemann C, Vermeirssen E, Werner I, 2017. Biologische Nachbehandlung von kommunalem Abwasser nach Ozonung – ReTREAT: Teilprojekt Biotests. Studie im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt (BAFU). Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL, Dübendorf.
- Kienle C, Vermeirssen E, Kunz PY, Werner I, 2015b. Grobbeurteilung der Wasserqualität von abwasserbelasteten Gewässern anhand von ökotoxikologischen Biotests. Studie im Auftrag des BAFU Schweizerisches Zentrum für angewandte Ökotoxikologie, Eawag-EPFL, Dübendorf.
- Langer M, Junghans M, Spycher S, Koster M, Baumgartner C, Vermeirssen E, Werner I, 2017. Hohe Ökotoxikologische Risiken in Bächen. *Aqua & Gas* 97(4):58-68.
- Liechti P, 2010. Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fliessgewässer. Chemisch-physikalische Erhebungen, Nährstoffe. *Umwelt-Vollzug: Bundesamt für Umwelt (BAFU), Bern*. p. 44.

Liechti P, Sieber U, von Blücher U, Willi HP, Bundi U, Frutiger A, Hütte M, Peter A, Göldi C, Kupper U, Meier W, Niederhauser P, 1998. Methoden zur Untersuchung und Beurteilung der Fliessgewässer in der Schweiz, ModuI-Stufen-Konzept. Mitteilungen zum Gewässerschutz Nr 26: Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft, Bern.

Wittmer I, Junghans M, Singer H, Stamm C, 2014. Mikroverunreinigungen – Beurteilungskonzept für organische Spurenstoffe aus diffusen Einträgen. Studie im Auftrag des BAFU. Eawag, Dübendorf.

Korrespondenz an:

Cornelia Kienle

Schweizerisches Zentrum für Angewandte Ökotoxikologie Eawag-EPFL
Überlandstrasse 133, 8600 Dübendorf, Schweiz

Tel.: 0041 76 710 55 63

Mail: cornelia.kienle@oekotoxzentrum.ch

„Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung“ – Vorstellung der Neubearbeitung des Blauen Buches

Wilfried Pinther

Bayerisches Landesamt für Umwelt, Augsburg

Abstract: Das Landesamt für Umwelt (LfU) aktualisiert derzeit den Informationsbericht 1/99 „Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung“ (Blaues Buch). Diese bewährte Arbeitshilfe zur Erfassung und Bewertung der Biozönose in Kläranlagen mit Hilfe des Mikroskops wird um neue verfahrenstechnische und abwasserbiologische Erkenntnisse ergänzt (unter anderem molekularbiologische Nachweisverfahren von Mikroorganismen). Neue Fotos zu den Indikatororganismen sowie überarbeitete Bestimmungsschlüssel sollen deren Erkennung erleichtern. Ein Excel-Tool zur Dokumentation und Bewertung der Biozönose wird das bisherige EDV-Programm ersetzen.

Key Words: Mikroskopisches Bild, Blaues Buch, Biozönose Abwasser, Indikatororganismen, Belebtschlamm, Gensonden

1 Aktualisierung Blaues Buch - Veranlassung

Betrieb und Steuerung von biologischen Abwasserreinigungsanlagen (Kläranlagen) werden zum einen mittels einer Vielzahl von technischen und chemisch-physikalischen Daten (Zu-/Abflussmengen, BSB, CSB, Temperatur u.a.m.) bewerkstelligt. Zum anderen gilt es, auch die biologischen Prozesse – das eigentliche Wirkprinzip der Abwasserreinigung – zum Abbau der organischen Inhaltsstoffe (Zucker, Fette, Proteine u.a.m.) im Abwasser zu erfassen. Hierzu wurde 1999 in Bayern der LfW-Informationsbericht 1/99 „Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung“ (Blaues Buch) vom damaligen Landesamt für Wasserwirtschaft (LfW), jetzt Landesamt für Umwelt (LfU), herausgegeben. Dieses Werk fand im gesamten deutschsprachigen Raum und damit weit über Bayern hinaus Anwendung und Anerkennung. Es bietet eine praxisorientierte Handlungsanleitung zur mikroskopischen Untersuchung von Belebtschlamm auf Indikatororganismen

(Bakterien, Pilze, einzellige und mehrzellige Mikroorganismen), um die Reinigungsprozesse und den Betriebszustand einer Kläranlage beurteilen zu können. Mittlerweile sind zur Abwasserbiologie neuere Erkenntnisse (u.a. zusätzliche Indikatororganismen) gewonnen sowie verbesserte Analyse- und Bewertungsinstrumente entwickelt worden, die im aktualisierten Blauen Buch verarbeitet wurden. Es soll weiterhin eine praxisingerechte Arbeitshilfe für das Kläranlagenpersonal darstellen.

1.1 Arbeitshilfe in gedruckter Fassung

Wie bisher soll die aktualisierte Version des Blauen Buchs, mit hochwertigen Grafiken und Fotos ausgestattet, als praxistaugliches Arbeitshilfe neben dem Mikroskop im Abwasserlabor liegen. Insbesondere sollen die Bestimmungsschlüssel sowie die Ausführungen zu den Indikatororganismen eine zielgerichtete einfache Erkennung der im Mikroskop gesichteten Mikroorganismen ermöglichen, damit eine korrekte Erfassung der Biozönose und daraus eine für den Anlagenbetrieb hilfreiche Bewertung abgeleitet werden kann. Im Normalbetrieb ergibt sich ein anlagentypischer mikrobiologischer „Steckbrief“, dessen Wiedererkennung in der Routine schnell und einfach sein soll und, in Einklang mit den korrespondierenden chemisch-physikalischen Daten, eine gesicherte Zustandsbewertung liefert. Bei Abweichungen vom Normalbild können dann entsprechende Schlüsse abgeleitet werden, die eine schnelle Reaktion auf eine eventuell vorliegende Betriebsstörung ermöglichen.

1.2 Arbeitshilfe im Internetauftritt

Ergänzend zur gedruckten Version soll eine elektronische pdf-Ausgabe des Blauen Buches im Internetportal des LfU verfügbar werden, einschließlich eines Excel-Tools, das die Erfassung und Bewertung der Biozönose mit einfachen Schritten ermöglichen wird. Dieses Tool löst die Programmversion ab, die mit der 1999er Ausgabe ausgeliefert und als lauffähiges Programm nur bis zur Betriebssystemversion Windows 7 unterstützt wurde.

Auf diesem Internetportal sollen weitergehende und aktuelle Informationen zum mikroskopischen Bild, vor allem Foto- und Videomaterial, bereitgestellt werden, die nicht im gedruckten Blauen Buch enthalten sein können. Damit wird eine noch breitere Basis für die Erkennung der Indikatororganismen geschaffen, um die Durchführung und Anwendung des Mikroskopischen Bildes zu erleichtern. Insbesondere können Videos arttypische Bewegungsmuster bzw. morphologische Details gegebenenfalls besser zeigen als Fotos.

2 Aufbau des neuen Blauen Buches

Mit der Berücksichtigung von etlichen Neuerungen bzw. Weiterentwicklungen sowohl in der Abwassertechnik als auch in der zugrundeliegenden Biologie ist der Aufbau des Blauen Buches leicht abgewandelt worden. Die Gliederung in Stickworten:

- **Einleitung:** Einführung und Veranlassung der Aktualisierung
- **Abwasserreinigungsverfahren:** aktueller Stand in der biologischen Abwasserreinigung, mit Fokus auf die Belebungsverfahren
- **Abwasserbiologische Grundlagen:** Basisdaten zu den im Abwasser „arbeitenden“ Mikroorganismen; technische Reinigungsverfahren
- **Indikatorfunktionen der Mikroorganismen:** umfassende Beschreibung der Indikatororganismen und deren Aussagekraft
- **Fadenbildende Bakterien:** aufgrund ihrer Bedeutung bei Betriebsstörungen durch Bläh-/Schwimmschlamm bzw. Schaumbildung erfolgt eine nähere Betrachtung in eigenem Kapitel
- **Bestimmungsschlüssel:** nach wie vor wichtige Hilfe zur Bestimmung der im Mikroskop gefundenen Indikatororganismen. Erweitert um Bestimmungsschlüssel zu Fadenbakterien
- **Dokumentation und Auswertung:** Formblätter sind ergänzt und überarbeitet, werden zukünftig in ein Excel-Tool eingebettet
- **Interpretationen und empfohlenen Maßnahmen im Kläranlagenbetrieb:** sollen bei Abweichungen vom Normalbetrieb wie bisher Hilfestellungen bei Abwehrmaßnahmen liefern
- **Das Mikroskop:** Erläuterungen zum Instrument
- **Probenahme, Präparateherstellung und Mikroskopieren:** sachgerechtes Vorgehen wird erörtert
- **Weitergehende Untersuchungen (FISH, Gensonden, Fluoreszenzmarkierungen):** neu aufgenommen, behandelt aktuelle Methoden zur Identifikation von Mikroorganismen
- **Fachausdrücken/Glossar** sowie **Literatur**

Nachfolgend werden exemplarisch einige der Neuerungen gezeigt.

3 Bestimmungsschlüssel

Der Bestimmungsschlüsselteil wurde um neue Organismen ergänzt, an einigen Stellen korrigiert bzw. um fachliche Erläuterungen und um den Bereich Fadenbakterien erweitert. Insbesondere bei den Vorticelliden sind detailliertere

Darstellungen nötig geworden, um die Unterschiede zwischen den Arten herauszuarbeiten. Neu aufgenommen wurden beispielsweise *Plagiocampa*, *Pyxidicula* und *Thuricola*. Exemplarisch werden hier im Entwurf der Übersichtsschlüssel und ein Ciliatenschlüssel gezeigt.

Tafel I: Bestimmungsschlüssel Übersicht



Abbildung 1: Entwurf Bestimmungsschlüssel neu, Tafel I Übersicht

Tafel VI/2: Frei schwimmende Wimpertiere (Fortsetzung Tafel VI/1)

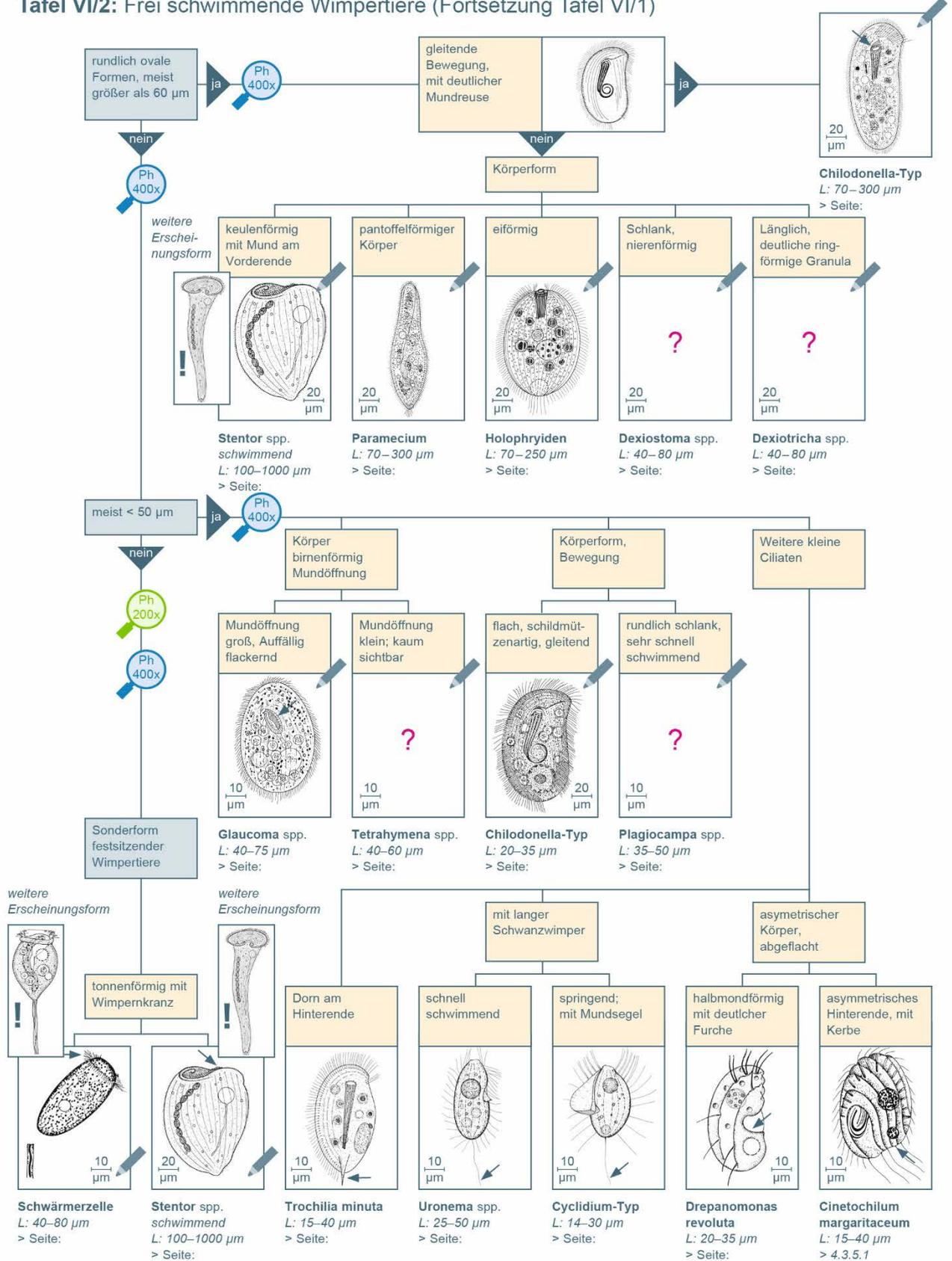


Abbildung 2: Entwurf Bestimmungsschlüssel neu, Tafel VI/2 frei schwimmende Ciliaten

4 Neue Organismen, Fotos, Videos

Die Neuauflage soll dem Kläranlagenpersonal weiterhin als praktische Arbeitshilfe eine Erfassung und Bewertung des mikroskopischen Bildes ermöglichen. Mittels Digitalfotografie können inzwischen Bilder und Videos in einer Qualität aufgenommen werden, mit der die Indikatororganismen noch besser und eindeutiger bestimmt werden können.

Im Folgenden sind beispielhaft Fotos von neu aufgenommenen Indikatororganismen zu sehen.



Abbildung 3: Vasentierchen (*Thuricola spp.*), mit einem ausgestreckten Köpfchen



Abbildung 4: Zwei Vasentierchen (*Thuricola spp.*), unterschiedlich ausgestreckt in ihrem Gehäuse



Abbildung 5: Zwei kleine Schalenamöben (*Pyxidicula* spp.)



Abbildung 6: Kleines frei schwimmendes Wimpertierchen (*Plagiocampa* spp.)...



Abbildung 7: ... das räuberisch andere Wimpertierchen (hier *Vorticella* spp.) anfällt und ingestiert.

5 Excel-Tool

Mit dem neu entwickelten Excel-Tool wird das Begleitprogramm ersetzt, das mit der Version des Blauen Buches 1999 bzw. 2002 als CD-ROM separat entwickelt wurde. Ziel war und ist es, wahlweise zur Erfassung der im Mikroskop vorgefundenen Biozönose ein Protokoll in Papierform zu verwenden oder dies EDV-gestützt vorzunehmen. Da eine Fortentwicklung des alten Programms sehr aufwändig wäre, wurde beschlossen, ein Excel-Tool auf Basis der gewohnten Formblätter zu entwickeln. Zusätzlich zu den Formblättern 1 (Erfassung, wie bisher) und 2 (Bewertung, wie bisher) wird es ein Formblatt zur Erfassung der Fadenbakterien sowie ein Auswertblatt geben, das aufbauend auf den Eintragungen in Formblatt 1 eine weitergehende zusammenfassende Auswertung sowie einen mikrobiologischen Index („MiBi-Index“) liefert, der den biologischen Zustand der Anlage charakterisiert. Damit ergibt sich ein anlagentypischer mikrobiologischer „Steckbrief“, der den Regelfall der betreffenden Anlage abbildet. Bei Änderungen in der Biozönose können gegebenenfalls notwendige Abhilfemaßnahmen leichter und schneller veranlasst werden. Insgesamt soll mit diesem Tool erneut ein Arbeitsinstrument geschaffen werden, das den Pflichten im Rahmen der Eigenüberwachung genügt, aber auch zielführende Informationen für den optimalen Anlagenbetrieb liefert.

In der nachfolgenden Abbildung wird der Entwurf des neuen Formblatts 1 zur Erfassung der mikroskopischen Befunde gezeigt. Bei Eintragung der im Mikroskop gefundenen Mikroorganismen wird der Befund blau hinterlegt, was dann bei Abschluss der Bestandsaufnahme ein optisch typisches Muster ergibt („Steckbrief“). Nach wie vor ist zur statistischen Absicherung das Mikroskopieren von drei verschiedenen Präparaten vorgesehen. In der Spalte „Präparat 1“ sind die Eintragungen für Vorkommen (V) und Fädigkeit (F) jetzt mit einer Auswahlliste verknüpft; die Umrechnung in Ziffern für die weiteren Rechenschritte erfolgt automatisch. Auch andere Angaben werden mit Auswahllisten hinterlegt sein.

Der anschließend gezeigte Entwurf des Formblatts 2 gibt eine Befundauswertung an, wobei wie gewohnt der Abgleich der gefundenen Indikatororganismen mit der Bewertungsmatrix abgebildet wird. Das Ergebnis der spaltenweisen Summierung der Treffer wird jetzt direkt unter der Informationszeile zum Betriebszustand angesiedelt, was die Befunderstellung erleichtern soll. Zudem sind die relevanten Ergebnisse farblich markiert, wobei die Farbe eine abgestufte Qualitätsaussage (blau, grün, rot) beinhaltet.

„Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung“ – Vorstellung der Neubearbeitung des Blauen Buches

Das mikroskopische Bild der biologischen Abwasserreinigung								
Formblatt 1: Dokumentation der mikroskopischen Untersuchung								
Kläranlage: Beispielanlage		Anlagentyp:		Probendatum: 16.07.2017				
Probenahmestelle: BB1		Mikroskopiert am: 17.07.2017 von: Wittling		Anzahl Präparate: 1				
Organismen	Häufigkeit (H) Vorkommen (V) Fädigkeit (F)	Präparat 1		Präparat 2		Präparat 3		Mittelwert
		Anzahl	Stufe	Anzahl	Stufe	Anzahl	Stufe	
BAKTERIEN								
Gesamtfädigkeit	F	mäßig=2	2					2
Freie Bakterien	V	einzelne	1					1
Schwefelbakterien	V							
Spirillen	V							
Spirochaeten	V	einige	2					2
Zoogloea spp.	H							
FESTSITZENDE CILIATEN (Filtrierer)								
Carchesium spp.	H	4	1					1
Epistylis spp.	H	15	3					3
Opercularia spp.	H							
Stentor spp.	H							
Sauginfusorien (Suctoria)	H	4	1					1
Thuricola spp.	H							
Vorticella campanula	H							
Vorticella aquadulcis-Typ	H	8	2					2
Vorticella convallaria-Typ	H							
Vorticella infusionum-Typ	H	4	1					1
Vorticella microstoma-Typ	H							
Vorticella octava-Typ	H							
Zoothamnium spp.	H							
SCHREITENDE CILIATEN (Weidegänger)								
Aspidisca cicada	H	15	3					3
Aspidisca lynceus	H							
Euplotes spp.	H							
SCHWIMMENDE/GLEITENDE CILIATEN (Räuber/Filtrierer)								
Amphileptiden	H	4	1					1
Chilodonella-Typ	H	8	2					2
Coleps spp.	H							
Colpidium spp./Dexiostoma spp.	H							
Cyclidium spp.	H							
Dexiotricha spp.	H							
Glaucoma spp.	H							
Glockentiere (abgelöste "Köpfchen")	H							
Holophryiden	H	4	1					1
Metopus spp.	H							
Paramecium spp.	H							
Plagiocampa spp.	H							
Schwärmerzellen	H							
Spirostomum spp.	H							
Tetrahymena spp.	H							
Uronema spp.	H							
Weitere kl. Ciliaten (Trochilia, Cinetochilum, Uronema...)	H							
AMÖBEN								
Große Schalenamöben (<i>Arcella, Euglypha, Trinema</i>)	H	4	1					1
Nacktamöben (< 50 µm)	V	einzelne	1					1
Pyxidicula spp.	V	einzelne	1					1
FLAGELLATEN								
Farblose Augenflagellaten (<i>Peranema, Anisonema</i>)	H	4	1					1
Kleine Zooflagellaten < 10 µm (<i>Bodo</i>)	V	einzelne	1					1
Weitere Zooflagellaten >10 µm (<i>Hexamitus, Trigonomonas</i>)	H							
SONSTIGE								
Dauerzellen	H							
Leere Glockentierstiele	H							
MEHRZELLER								
Pilzfäden	F							
Rädertiere	H	4	1					1
Bärtierchen	H							
Bauchhärlinge	H							
Nematoden	H	4	1					1
Oligochaeten	H							
Weitere Organismen:								
Sonst. Bemerkungen:								
Sonstige Feststellungen zur Probe: Geruch: <input type="radio"/> frisch <input type="radio"/> muffig <input type="radio"/> faulig <input checked="" type="radio"/> sonstiges: Farbe: <input type="checkbox"/> bräunlich <input type="checkbox"/> grau <input checked="" type="checkbox"/> schwärzlich <input type="checkbox"/> sonstiges: Einschlüsse: <input type="checkbox"/> Gasblasen <input type="checkbox"/> Partikel <input type="checkbox"/> Faser <input type="checkbox"/> sonstiges: Feststellungen/Bemerkungen: <input type="checkbox"/> Schwimmschlamm/Schaum <input checked="" type="checkbox"/> sonstiges: Sonstige Anlagenbezogene Bemerkungen:		Flockenbeschaffenheit						
		Flocke (X):	abgerundet					
		Siehe Abb. XY Seite XX	unregelmäßig					
			fest	x				
			locker	x				
			vernetzt					
			groß (>500µm)					
	mittel (>150µm)	x						
	klein (<150µm)							
	Flockenzerfall	x						
		<input checked="" type="checkbox"/> Simultanfällung					Bearbeitet:	

Abbildung 8: Entwurf Excel-Tool Formblatt 1: Bestandsaufnahme Indikatororganismen

Das mikroskopische Bild der biologischen Abwasserreinigung																
Formblatt 2: Schlussfolgerungen aus dem mikroskopischen Bild für Belebungs- und SBR- und Biofilm-Anlagen																
	Häufigkeit Vorkommen	Allgemeine Betriebsverhältnisse							Spezielle Betriebsverhältnisse							
		Abwasserzusammensetzung			Betriebsstabilität				Schlammbelastung B _{TS} [kg TS/kgd]		O ₂ -Konzentration mg/l			Nitrifikation		
		Sulfide vorhanden	NH ₄ ⁺ -konz. hoch/ NH ₄ ⁺ -Stoßbel.	C:N:P-Verh. gestört	stabil	instabil	Schädigung der Biozönose	Hemmung, Vergiftung	> 0,15	< 0,15	> 2	1-2	< 1	Schlammalter hoch	Schlammalter niedrig	Denitrifikation stabil
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Anzahl der Markierungen:	22	0	1	0	12	0	0	0	4	9	4	14	2	14	0	3
davon Übertrag Fadenbakterien	3	0	0	0	0	0	0	3	0	1	1	2	0	0	0	
BAKTERIEN																
Gesamtfähigkeit	2			4				4						3		
Freie Bakterien	1	4	4				4	4	4	3		3	4		3	3
Schwefelbakterien		1	2					3	2						2	2
Spirillen		2	2				2	3	2			2			2	2
Spirochaeten*	2	4	4				4					3		3		2
Zoogloea spp.**		2	2				2	3	1			2	2		2	
FESTSITZENDE CILIATEN (Filterierer)																
Carchesium spp.	1				1					1		1		1		2
Epistylis spp.	3				1					1		1		1		2
Opercularia spp.					1					1	1	1		1		
Stentor spp.					1					1	1			1		
Suctorina (Sauginfusorien)	1				1					1		1		1		
Thuricola spp.					1				1		1	1		1		
Vorticella campanula					1				2		1			1		
Vorticella aquadulcis Typ	2				1					1	1	1		1		
Vorticella convallaria-1 typ					1					1	1	1		1		2
Vorticella infusionum-1 typ	1		2		1				3		2			1		2
Vorticella microstoma-1 typ			2			1		3	1		1	1		2	2	2
Vorticella octava-Typ					1					1	1			1		
Zoothamnium spp.					1				2		1	1		1		
SCHREITENDE CILIATEN (Weidegänger)																
Aspidisca cicada	3				2					1	1	1		1		
Aspidisca lynceus					1					2		1		1		
Euplotes spp.					1					1	1	1		1		
SCHWIMMENDE/GLEITENDE CILIATEN (Räuber/Filterierer)																
Amphileptiden	1				1				1			1	1	1		1
Chilodonella-Typ	2		2		1				2			1		1		
Coleps spp.					1					1	1			1		
Colpidium spp./Dexiostoma spp.		1	1	1		1	3		1			1		1		1
Cyclidium spp.			3			3			1			2		2		2
Dexiotricha spp.		2	2			2			2			1		2		2
Glaucocoma spp.		1	1	1		1	3		2			1		2		2
Glockentiere (abgelöste "Köpfchen")		3	2	2		2	3	3				3		2		2
Holophryiden	1	2	2		1				1			1		1		
Metopus spp.		1	1						1			1		1		1
Paramecium spp.**		1	1	1		1	2		1			1		1		1
Plagiocampa spp.					1					1	1			1		
Schwärmerzellen**		3	2	2		2	3		1			2		2		
Spirostomum spp.		1	1			1	3		1			1	1	1		
Tetrahymena** spp.		1	1	1		1	3		2			1		2		2
Uronema** spp.		2	2			2			2			1		2	2	2
Weitere kleine Ciliaten									1			1		1		
Amöben																
große Schalenamöben	1				1				3		1	1		1		
Nacktamöben (< 50 µm)	1	3	2			3	3		2			3		3		
Pyxidicula* spp.	1					2						1				
Flagellaten																
Farblose Augenflagellaten	1					2			2			1			2	
Kleine Zooflagellaten	1	4	4	3		3	4		3			3		2		
Weitere Zooflagellaten (>10µm)		1	1			2	2		1			1		1	1	1
SONSTIGE																
Dauerzellen		1	1	1			1		1			1		1		1
Leere Glockentierstiele**			2			2	2	2				2				
MEHRZELLER																
Pilzfäden				1		2			2			2			2	
Rädertiere	1				1					1	1	1		1		
Bärtierchen					1					1	1			1		
Bauchhärlinge					1					1	1			1		
Nematoden	1				1				1			1		1		
Oligochaeten					1					1	1			1		
Flockenbeschaffenheit																
Flocke:	vernetzt		x	x		x										
	Flockenzerfall	x	x	x		x	x	x	x			x		x		
	MiBi-Index:	88														
Bemerkungen:																
Kläranlage:			Probenahmestelle:							Probendatum:						

Abbildung 9: Entwurf Excel-Tool Formblatt 2: Bewertung der Bestandsaufnahme

6 Ergänzende Informationen

6.1 Abwassertechnik

Die Abwasserreinigung bei größeren Kläranlagen (ab ca. 10.000 EW) entwickelt sich immer mehr hin zu Belebungsanlagen mit Nitrifikation/Denitrifikation und anaerober Schlammstabilisierung/Faulung. Mit der anlagenspezifisch angepassten Rückführung von Belebtschlamm aus der Nachklärung bzw. anderen Reinigungsstufen in die Belebungsstufe zurück wird eine komplex zusammen gesetzte Biozönose geschaffen, die ein breites physiologisch-biochemisches Reinigungspotenzial bewältigen muss. Mit ihrem Artenspektrum ergibt sich ein typisches Bild der jeweiligen Kläranlage („mikrobiologischer Steckbrief“). Die Anlagen, die hauptsächlich mit Tropf-/Tauchkörpern bzw. Festbett-/Wirbelschwebbettverfahren eine primär auf Biofilmen beruhende Abwasserreinigung bewältigen, werden seltener bzw. werden bei speziellen Abwässern eingesetzt. Die heute verfügbaren Überwachungsmethoden erlauben eine fast lückenlose zeitliche Erfassung der chemisch-physikalischen Parameter an beliebigen Stationen im Betrieb. In Kombination mit dem mikroskopischen Bild ergibt sich ein umfassendes Gesamtbild zur Bewertung des Anlagenzustandes. Somit können Abweichungen vom „Normalbetrieb“ frühzeitig erkannt sowie zielgerichtete Abhilfestrategien eingeleitet werden.

6.2 Molekularbiologische Nachweisverfahren (Gensonden)

Bei einer hohen Gesamtfädigkeit bietet das aktualisierte Blaue Buch ein neues Formblatt zur Auswertung der enthaltenen Fadenbakterien. Die sich daraus ergebenden Hinweise liefern Erkenntnisse zur Abwasserbeschaffenheit und helfen im Falle von Blähschlamm und Schwimmschlamm bei der Konzeption von gegebenenfalls notwendigen Abhilfemaßnahmen.

Gerade bei der Erkennung und Interpretation von Fadenbakterien haben sich inzwischen gentechnische Nachweisverfahren etabliert. Mit genspezifischen Sonden, die z.B. mit Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt sind, lassen sich verschiedene Arten zeitgleich in einem Präparat nachweisen (FISH, Fluoreszenz in situ Hybridisierung). Damit sind Erkenntnisse sowohl zur Artenzusammensetzung als auch zum physiologischen Zustand besser möglich. Die Anwendung dieser Nachweisverfahren ist derzeit noch nicht weit verbreitet und oft auf spezielle Fragestellungen beschränkt. Inwieweit sie zukünftig in die Routineanalytik integriert werden kann, wird diskutiert. Im Blauen Buch sollen dennoch diese neuen Methoden vorgestellt und ihre Anwendungsmöglichkeiten erörtert werden.

7 Literatur

Das mikroskopische Bild bei der biologischen Abwasserreinigung, Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft (jetzt Landesamt für Umwelt), Informationsberichte Heft 1/99, München, März 1999 (vergriffen, nur noch als pdf verfügbar im Publikationsshop des Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz, mit dem Suchbegriff „lfw_was_00043“)

Danksagung

Die Aktualisierung des Blauen Buches kann, unter Federführung des Autors dieser Publikation, nur mit Unterstützung vieler weiterer Fachkolleginnen und – kollegen aus dem LfU und von außerhalb bewältigt werden. Aus der bayerischen Wasserwirtschaftsverwaltung arbeiten Dirk Klos und Olav König (beide Wasserwirtschaftsamt Kempten) und Thomas Wittling (Regierung von Schwaben) intensiv mit. Als externe Expertengruppe hat sich die DWA-AG KA 6.1 „Mikrobiologie in der Abwasserreinigung“ unter Vorsitz von Dr. Marina Ettl ebenfalls entscheidend eingebracht und bedeutende Beiträge beigesteuert. Auch der Erfahrungsaustausch mit Praktikern auf den Kläranlagen, die das mikroskopische Bild als wertvolles Instrument betrachten und einsetzen, hat wichtige Impulse geliefert. Allen Beteiligten gebührt größter Dank für die geleistete Arbeit.

Korrespondenz an:

Dr. Wilfried Pinther

Bayerisches Landesamt für Umwelt
Referat 67 „Gewässerschutz bei der kommunalen und häuslichen Abwasserentsorgung
Bürgermeister-Ulrich-Straße 160, D-86179 Augsburg

Tel.: +49-(0)821-9071-5765

Mail: Wilfried.Pinther@lfu.bayern.de

Molekularbiologische Methoden in der Klärwerkspraxis

Edith Nettmann, Marc Wichern

Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft und Umwelttechnik
Ruhr Universität Bochum

Abstract: Die Abwasserreinigungsbetriebe stehen immer wieder neuen Herausforderungen gegenüber – sei es durch neue Industrieprodukte und deren Abfallstoffe (u.a. Problematik der Spurenstoffe) oder durch biologische Vorfälle (u.a. die vermehrte Verbreitung von wasserbürtigen Krankheitserregern wie u.a. Legionellen, Novoviren und Antibiotika-resistenten Keimen wie u.a. MRSA, *E. coli*). Um diesen Herausforderungen gerecht zu werden, müssen neue, innovative Verfahren zur Abwasseraufbereitung, aber auch neue Analysemethoden für die Prozessüberwachung entwickelt bzw. eingesetzt werden. In den letzten Jahren hat sich die Fluoreszenz *in Situ* Hybridisierung (FISH) zum Nachweis und zur Quantifizierung prozessrelevanter Mikroorganismen (Nitrifikanten, Methanbildende Bakterien etc.) in der Klärwerkspraxis etabliert. Darüber hinaus können weitere, DNS-basierende Methoden, wie die realtime PCR und ihre Modifikationen, zum quantitativen Nachweis verschiedenster Mikroorganismen eingesetzt werden.

Key Words: Molekularbiologische Methoden, Fluoreszenz *in Situ* Hybridisierung, FISH, Immunfluoreszenz, quantitative realtime PCR, qPCR, Viabilitäts-quantitative realtime PCR

1 Einleitung

Zu den Aufgaben eines Klärwerks gehört die Reduktion von Keimen, CSB, Stickstoff und Phosphat aus kommunalen und industriellen Abwässern, um dieses gereinigt dem Wasserkreislauf wieder zu zuführen. Die Abwasserreinigung bedient sich hierzu biologischer Verfahren, also dem gezielten Einsatz von Mikroorganismen, deren Stoffwechselleistung die Abwasserreinigung bedingt. Ferner wird vielerorts der Überschussschlamm einer biologischen Konversion zugeführt, sprich in Faulbehältern zu Biogas vergärt, welches in einem BHKW zur Stromerzeugung genutzt wird.

Zur Prozessüberwachung werden die chemischen (u.a. CSB, N, P, CH₄) und biologischen Parameter (Saprobienindex und Belebtschlamm-Charakteristika) regelmäßig überwacht.

Im Folgenden soll die biologische Prozessüberwachung mittels molekularbiologischer Methoden näher betrachtet werden. Neben der Erläuterung ausgewählter molekularbiologischer Methoden soll zunächst auf folgende Fragen eingegangen werden:

Wo liegt der Handlungsbedarf für den Einsatz molekularbiologischer Analyseverfahren in der Klärwerkspraxis?

2 Warum molekularbiologische Analyseverfahren in der Klärwerkspraxis einsetzen?

Die Klärwerke stehen immer wieder vor neuen Herausforderungen, die auf neuen Entwicklungen in der Industrie beruhen, wie neuartige Produkte und Medikamente und deren Abfallprodukte, die es gilt aus dem Abwasserstrom zu eliminieren. Ein wichtiger Einsatz für molekularbiologische Analysen ist die begleitende Überwachung der biologischen Abbauprozesse in der Belebung oder Faulung. Durch regelmäßige Kontrollen der Nitrifikanten, wie die ammoniumoxidierenden (AOB) und nitritoxidierenden Bakterien (NOB), Denitrifikanten und Phosphatakkumulierenden Bakterien können Prozessstörungen schnell erkannt werden. Eine Unterscheidung der einzelnen Bakteriengruppen ist lichtmikroskopisch jedoch kaum möglich.

Auch können neue, innovative biologische Verfahren zur Abwasserreinigung, den Einsatz neuer Analysemethoden notwendig machen. Hierzu zählen Bioelektrische Systeme (BES) wie die mikrobielle Brennstoffzelle (MBZ) zur parallelen Abwasserreinigung und Energiegewinnung (Hiegemann et al. 2016 und 2018) oder auch der Einsatz von Anammox Bakterien (Ma et al. 2016, Jetten et al. 1999) zum anaeroben Abbau von Ammonium. Bei beiden Verfahren treten neue Bakteriengruppen in den Fokus der Prozessüberwachung. Diese sind entweder in Biofilmen (BES) oder in Zellaggregaten (Anammox) assoziiert, so dass eine lichtmikroskopische Analyse nicht möglich ist. Ferner wurden neue Verfahren zur Spurenstoffelimination entwickelt, wie u.a. der Einsatz von Pulveraktivkohle (Evers et al. 2017, Luo et al 2014) oder die Ozonung (Margot et al 2013, Ikehata et al. 2006); letztere wird auch zur Desinfektion eingesetzt. Hier können molekularbiologische Methoden entschieden zur Prozessüberwachung beitragen.

Neue Herausforderungen können auch auf biologische Ereignisse zurückzuführen sein, wie z.B. die vermehrte Verbreitung von wasserbürtigen Krankheitserregern (u.a. Legionellen, Novoviren) und Antibiotika-resistenten Keimen (u.a. MRSA, *E. coli*). In diesem Zusammenhang muss die Frage gestellt

werden, ob wirklich alle Erreger mit den bislang verwendeten Standardanalyseverfahren, die auf dem Nachweis von Indikatororganismen beruhen, auch erfasst werden. Lassen die Ergebnisse derartiger Verfahren wirklich Rückschlüsse über das (Nicht-)Vorhandensein anderer pathogener Keime zu?

Bislang werden kultivierungsabhängige Nachweisverfahren für sogenannte Indikatororganismen eingesetzt, um die biologische Reinheit des aufbereiteten Abwassers zu überprüfen. Hierzu zählen u.a. *E. coli*, Enterokokken und Bacteriophagen, die als Indikatoren für eine fäkale bzw. virale Verunreinigung des Wassers herangezogen werden. Zur Ermittlung der Keimzahl, also der Menge an Keimen pro 100 ml Wasser, werden entweder die Kolonien bildenden Einheiten (KBE) erfasst oder das Verfahren der Most Probable Number (MPN) nach DIN 38411-6, DIN EN ISO 9308-1 bis 3 eingesetzt (Abb. 1).

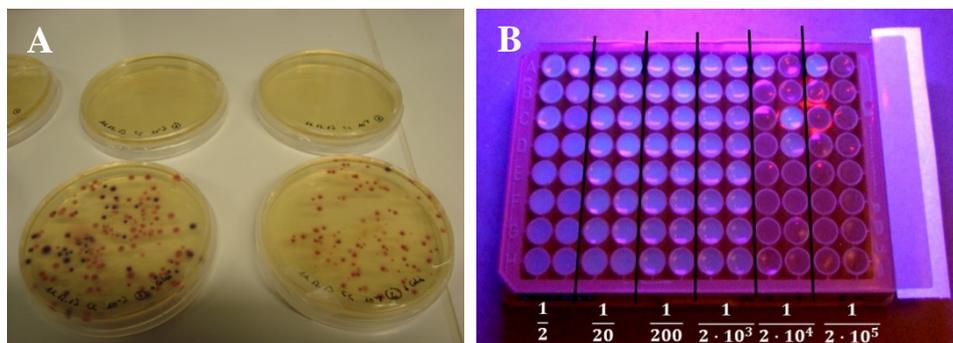


Abbildung 1: Kultivierungsabhängige Indikatornachweisverfahren. Kolonien bildende Einheiten (KBE) am Beispiel Enterokokken (A) und Most Probable Number (MPN) am Beispiel *E. coli*. Zahlen in (B) stehen für die Verdünnung der Probe (Quelle: A. Rademacher, RUB).

Beide Verfahren können eine Keimbelastung durch entsprechende Bakterien anzeigen, sind leicht in der Handhabung und reproduzierbar. Sie liefern jedoch keine Auskunft über weitere pathogene Keime im Wasser.

Zu den wasserbürtigen Krankheitserreger zählen u.a.:

- *Legionella* spp. (Legionärskrankheit/Legionellose),
- Enterohemorrhagische *Escherichia coli* (EHEC),
- *Campylobacter* spp. (übertragbare Durchfallerkrankungen),
- *Pseudomonas aeruginosa* („Krankenhauskeim“ verursacht verschiedene Infektionen, kann Multiresistenzen gegen Antibiotika aufweisen),
- *Staphylococcus aureus* (MRSA, Antibiotika-resistenter Stamm, der verschiedene Infektionen auslösen kann),
- Novovirus (übertragbare Durchfallerkrankungen),

- Coxsackie-Virus (Hand-Fuß-Mund-Krankheit, aber auch Hirnhautentzündungen),
- *Giardia lamblia* (Protozoa, die Durchfallerkrankungen auslösen)

Am Beispiel Legionellen soll die Problematik der standardisierten Indikatornachweisverfahren veranschaulicht werden. Allein die Tatsache, dass die Eliminationsrate von z.B. *E. coli* im Abwasserstrom hoch ist, kann noch nicht bedeuten, dass auch andere Keime, insbesondere Pathogene, ebenfalls aus dem gereinigten Abwasser eliminiert werden konnten. Aufgrund dessen, dass der Indikatororganismus *E. coli* und ein anderer Keim z.B. *Legionella pneumophila* unterschiedliche Ansprüche an ihre Nahrung (Kohlenhydrate vs. Proteine), andere Wachstumsbedingungen (fakultativ anaerob vs. obligat aerob) und auch einen anderen Lebenszyklus besitzen (Legionellen überdauern und vermehren sich vornehmlich in Wirtszellen), kann es zu einem „Versagen“ dieser Analyseverfahren kommen.

Darüber hinaus sind nur wenige Bakterien kultivierbar und das Vorhandensein von Begleitflora, wie im Belebtschlamm gegeben, erschwert zusätzlich ihre Kultivierung (Abb. 2).

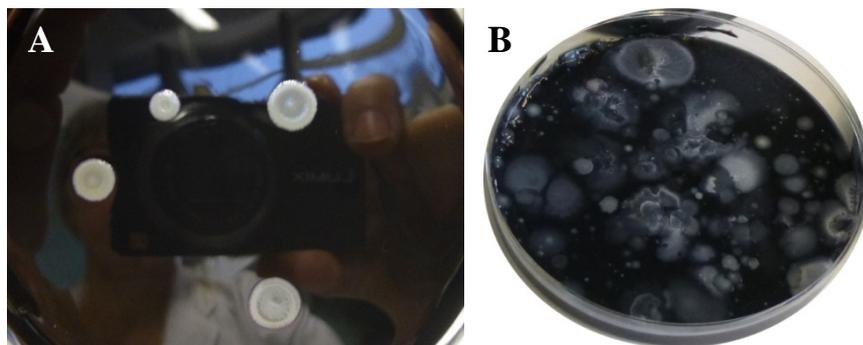


Abbildung 2: Kultivierung von *Legionella* spp. auf BCYE-Medium. A. Reinkulturen von *Legionella pneumophila* mit klar umgrenzten Kolonien. B. Probe aus Belebungsflora, wo das Wachstum von Begleitflora eine eindeutige Zuordnung der Legionella-Kolonien nicht gestattet (Quelle: A. Rademacher, RUB).

Die bisher eingesetzten Methoden zur mikrobiellen Analyse im Bereich der Abwasserreinigung genügen den heutigen hohen Anforderungen an die Wasserqualität in weiten Teilen nicht mehr. Daher ist eine Etablierung von kultivierungsunabhängigen Methoden auf Basis molekular-biologischer Analyseverfahren auf Dauer unabdingbar.

3 Molekularbiologische Analyseverfahren und ihr Einsatz in der Klärwerkspraxis

Neben dem Nachweis und der Quantifizierung von möglichen pathogenen Keimen im Abwasserstrom, kommen molekularbiologische Analysemethoden auch in der Überwachung der biologischen Prozesse zum Einsatz. Im Folgenden werden einige Methoden vorgestellt, die bereits Einzug gehalten haben in den Analysealltag auf einem Klärwerk, aber auch Methoden, die zukünftig zur Prozessüberwachung eingesetzt werden könnten.

3.1 Fluoreszenz *in Situ* Hybridisierung (FISH)

Viele Mikroorganismen ähneln sich in ihrem Aussehen und sind somit im Lichtmikroskop nicht unterscheidbar (Abb. 3). Die Fluoreszenz *in Situ* Hybridisierung (FISH) kann u.a. eingesetzt werden, um spezifische Organismengruppen in einer Umweltprobe zu identifizieren und auch zu quantifizieren (Wagner und Heider 2012, Nielsen et al. 2009, Nettmann et al. 2008 und 2010, Crocetti et al. 2006, Daims et al. 1999, Raskin et al. 1994, Amann et al. 1990).

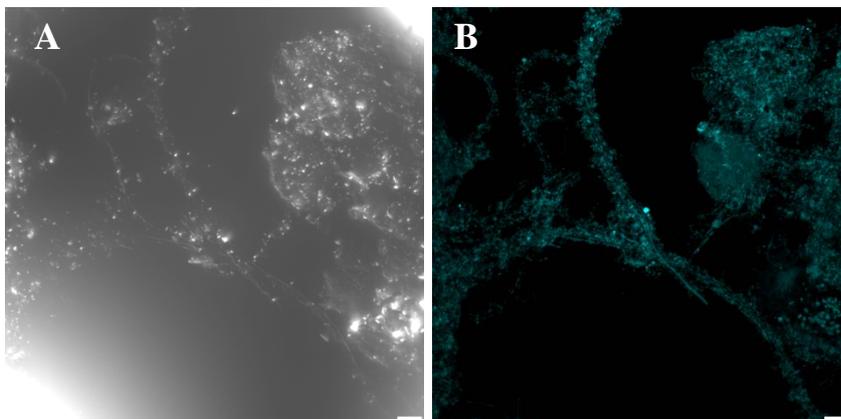


Abbildung 3: Mikroskopische Aufnahmen von Belebtschlamm. A. Durchlicht; B. Zellen wurden mit dem DNS interkalierenden Fluoreszenzfarbstoff DAPI sichtbar gemacht. Maßstab unten rechts: 10 µm. (Quelle: E. Nettmann, A. Rademacher; RUB).

Die FISH beruht auf der spezifischen Hybridisierung von künstlich hergestellten Oligonukleotiden (FISH-Sonden) mit einer Zielsequenz (DNS oder RNS) direkt in einer Zelle, ohne deren Morphologie zu verändern (Abb. 4). In der Mikrobiologie dient vor allem die 16S rRNS¹ aufgrund ihrer vieltausendfachen

¹ Die 16S rRNA ist ein Strukturelement der Ribosomen, welche die Orte der Proteinbiosynthese in einer Zelle sind. Daher sind diese Moleküle gerade in stoffwechselaktiven Zellen in sehr hohen Mengen vorhanden.

Präsenz in jeder stoffwechselaktiven Zelle als Zielsequenz (Amann et al. 1990 und 1995). DeLong et al. wendeten 1989 erstmals fluoreszenzmarkierte Oligonukleotide für den Nachweis von einzelnen Zellen an. Seitdem wurde die FISH fortlaufend optimiert. Die eingesetzten Oligonukleotidsonden (FISH-Sonden) sind mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert, die bei der Belichtung mit einer für sie spezifischen Wellenlänge des Lichts die aufgenommene Energie in Form von Fluoreszenz in einer für sie spezifischen Wellenlänge emittieren.

Die gängigsten Fluoreszenzfarbstoffe sind Fluorescein-Derivate wie Fluoresceinisothiocyanat (FITC) oder Cyanine wie Cy3 und Cy5. Mittlerweile gibt es aber eine Vielzahl synthetischer Fluoreszenzfarbstoffe wie u.a. die Alexa-, ATTO oder BODIPY-Farbstoffe, die sich durch eine wesentlich höhere Photostabilität und Leuchtkraft auszeichnen.

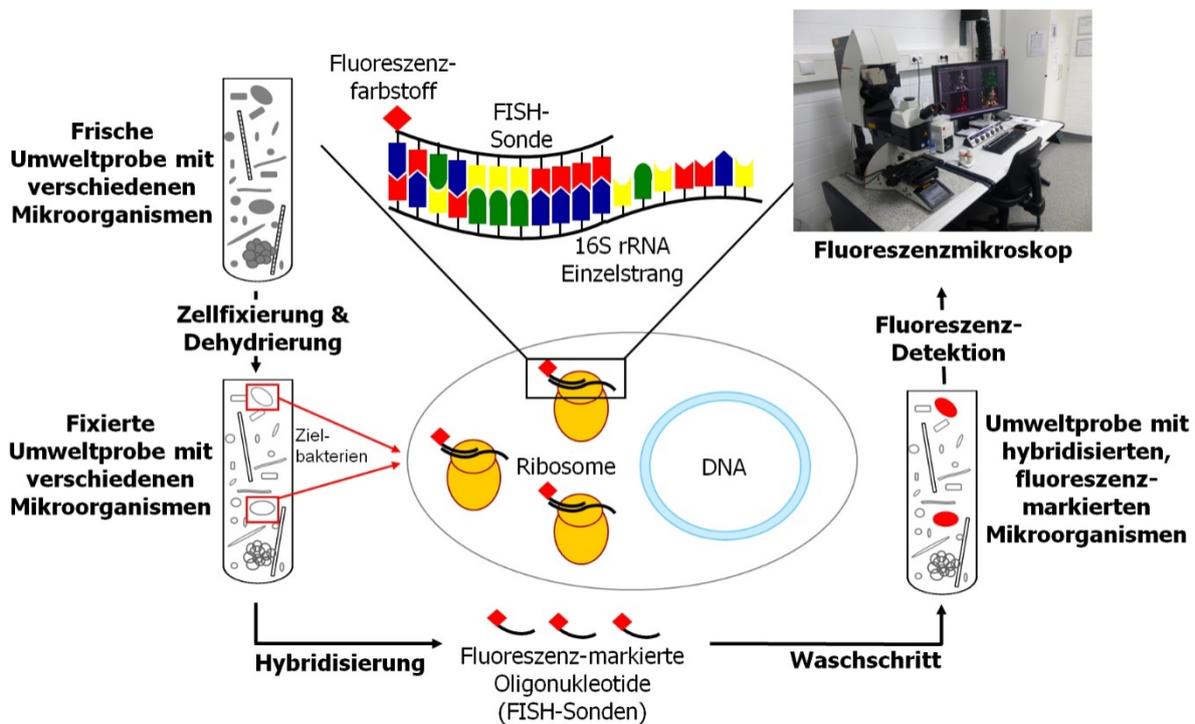


Abbildung 4: Prinzip der Fluoreszenz *in Situ* Hybridisierung (Quelle: E. Nettmann, RUB).

In der Abbildung 4 sind die einzelnen Schritte der FISH schematisch dargestellt. Vor der eigentlichen Hybridisierung werden die Zellen des biologischen Ausgangsmaterials mit Ethanol (für Gram-positive Mikroorganismen) bzw. Formaldehyd² oder Paraformaldehyd² (für Gram-negative Mikroorganismen) möglichst zeitnah nach der Probenahme fixiert. Für die Hybridisierung wird Formamid² in einer für die einzusetzende FISH-Sonde spezifischen Konzentration verwendet. Die Hybridisierung zwischen FISH-Sonde und Zielmolekül in der Zelle findet für 2 bis 5 Stunden bei 46°C statt. Nach der

² Gefahrstoffe: Arbeiten müssen unter einem Gefahrstoffabzug durchgeführt werden!

Hybridisierung erfolgt ein Waschschrift, um überschüssige Sonden und ungebundene Fluoreszenzfarbstoffe zu entfernen.

Die Detektion der Fluoreszenz-markierten Zielorganismen kann sowohl mit einem Epifluoreszenzmikroskop als auch mit einem konfokalen Laserscanningmikroskop durchgeführt werden. Letzteres besitzt den Vorteil, optische Schnitte von einem Präparat erzeugen zu können, die dann mittels geeigneter Software zu einem dreidimensionalen Abbild oder einer maximalen Projektion zusammengesetzt werden können. Dadurch wird die Analyse der räumlichen Struktur, z.B. von Biofilmen, ermöglicht.

Die Auswertung der Aufnahmen erfolgt mittels geeigneter Software. Neben käuflich erwerbbarer Software, werden auch Open Source Softwares angeboten. Zu letzteren gehört u.a. ImageJ (<https://imagej.net/Welcome>), die eine Vielzahl an Auswertefunktionen anbietet. So können u.a. einzelne Zellen quantifiziert oder die prozentualen Anteile verschiedener Biofilmbestandteile ermittelt werden.

Die FISH zeichnet sich durch ihren geringen Zeitaufwand aus, da ihre Durchführung nicht mehr als ca. 1 Stunde zuzüglich der Fixierungs- und Hybridisierungszeit (s.o.) benötigt. Ferner können die Oligonukleotidsonden mit unterschiedlicher Spezifität (z.B. Art-, Gattungs-, Familien- oder Ordnungsebene) eingesetzt werden. Daher hat sich gerade im Bereich der Routineanalyse des Beleb- und Faulschlamm die FISH bereits neben der lichtmikroskopischen Analyse etabliert. Hier steht die Quantifizierung der de- und nitrifizierenden sowie der methanbildenden Bakterien im Vordergrund der Analysen (Abb. 4 und 5).

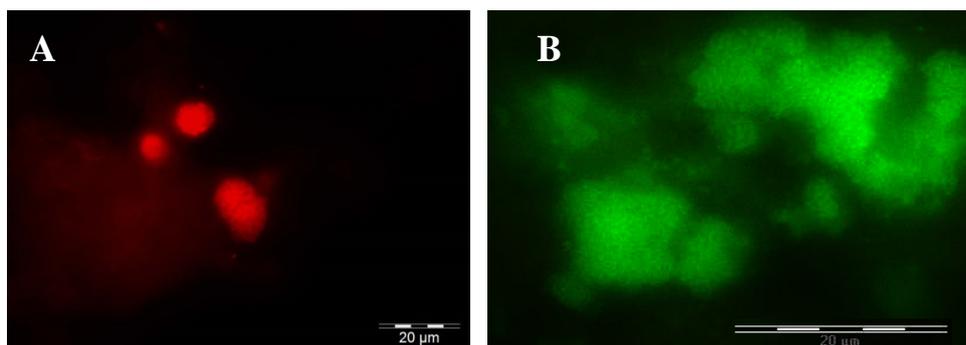


Abbildung 4: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer FISH-Analyse von ammoniumoxidierenden (A; rot) und nitritoxidierenden (B; grün) Bakterien aus der Belebung. (Quelle: K. Heinig, Berliner Wasserwerke).



Abbildung 5: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme einer FISH-Analyse von einer Faulbehälterprobe. Die Abbildung ist eine Überlagerung verschiedener parallel erstellter Aufnahmen von stoffwechselaktiven Bakterien (gelb) und methanbildenden Archaea (magenta). Alle Zellen wurden mit dem DNS-bindenden Fluoreszenzfarbstoff DAPI (hellblau) markiert. Mit den weißen Pfeilen sind einige der methanbildenden Archaea markiert (*Quelle: E. Nettmann, A. Rademacher; RUB*).

Eine weitere Einsatzmöglichkeit für die FISH ist die Prozessüberwachung bioelektrischer Systeme zur Abwasserreinigung (u.a. mikrobielle Brennstoffzellen, MBZ). In diesen Systemen spielen hauptsächlich die elektroaktiven Bakterien (EAB) eine wichtige Rolle. Sie sind in Biofilmen assoziiert, die sich an die Anode der MBZ bilden und für die Erzeugung des Stroms verantwortlich sind. Neben dem Biofilmwachstum stehen besonders der Nachweis und die Quantifizierung der EAB, wie u.a. *Geobacter spp.* (Abb. 6), im Fokus der Prozessüberwachung der BES.

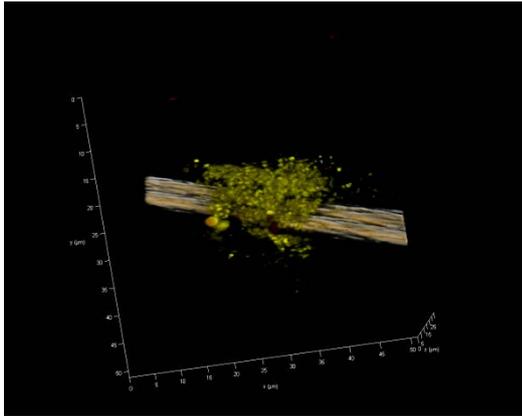


Abbildung 6: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme eines Anodenbiofilms aus einer mikrobiellen Brennstoffzelle (MBZ). Es wurde eine FISH mit einer für *Geobacter spp.* spezifischen Sonde durchgeführt. Die Abbildung ist eine Überlagerung parallel erstellter 3D-Aufnahmen von *Geobacter spp.* (gelb) und Reflexionssignalen (grau). (Quelle: E. Nettmann, A. Rademacher RUB).

Mittels FISH werden fast ausschließlich stoffwechselaktive Zellen nachgewiesen. Mittlerweile sind auch kommerziell erhältliche FISH-Kits für die wichtigsten, prozessrelevanten Bakterien erhältlich. Zudem stehen auf der Internetseite von probeBase des *Department of Microbial Ecology* der Universität Wien Informationen zu über 2.700 FISH-Sonden zur Verfügung (<http://131.130.66.201/probebase%5Fold/>).

Obwohl die FISH prinzipiell einfach durchzuführen ist, ist für die mikroskopische Auswertung ein sehr gutes Fachwissen und Erfahrung in der Mikroskopie notwendig.

3.2 Immunfluoreszenz

Die Immunfluoreszenz verbindet die Fluoreszenzmikroskopie mit der sehr hohen Spezifität von Antikörpern (Schlapp et al. 2011, Brady et al. 2007, Sonne-Hansen und Ahring 1997). Antikörper sind Moleküle, welche die für sie spezifischen Proteine, z.B. auf der Zelloberfläche, erkennen und an diesen binden (Abb. 7). Diese Membranproteine können wiederum artspezifisch sein, so dass ganz bestimmte Bakterien, z.B. Legionellen, Nitrosomonas, Methanosaeta etc., mit dieser Methode hoch spezifisch nachgewiesen und quantifiziert werden können.

Es ist jedoch zu beachten, dass mit der Immunfluoreszenz, im Gegensatz zur FISH, alle Organismen der zu untersuchenden Bakterien, also die lebenden, toten, stoffwechselaktiven und –inaktiven, erfasst werden. Zudem ist sie im Vergleich zur FISH durch die hohen Kosten für die Herstellung der Antikörper sehr teuer. Daher eignet sich diese Methode weniger für die

Prozessüberwachung als vielmehr für den quantitativen Nachweis von Pathogenen im Abwasserstrom.

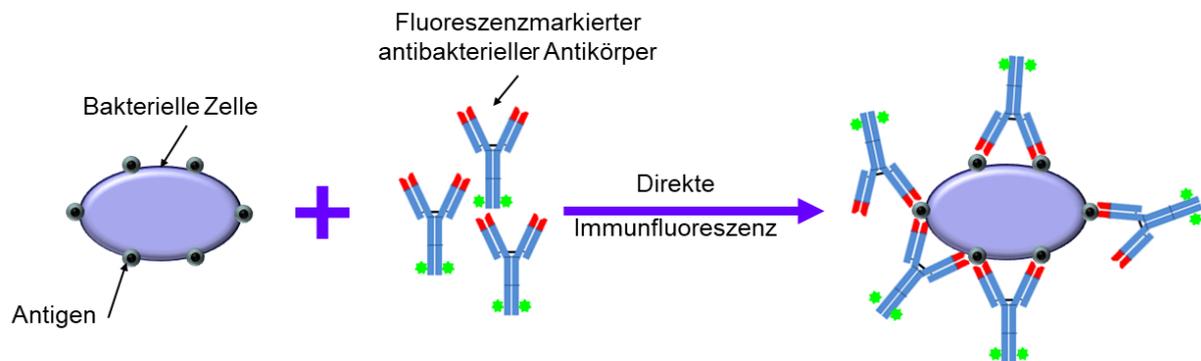


Abbildung 7: Prinzip der Immunfluoreszenz (Quelle: E. Nettmann, RUB).

3.3 Quantitative realtime Polymerasekettenreaktion

Fluoreszenzmikroskopische Analyseverfahren konnten sich bereits in der Routineanalyse zur Prozessüberwachung in der Klärwerkspraxis etablieren. Weitere molekularbiologische Analysemethoden sind im Vormarsch, um den neuen Herausforderungen eines Klärwerks gerecht zu werden. Hierzu zählen DNS-basierte Methoden, die auf der Polymerasekettenreaktion (engl. *Polymerase Chain Reaction*, PCR) beruhen.

3.3.1 Polymerasekettenreaktion (PCR) – das Prinzip

Die Polymerasekettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction*, PCR) dient in erster Linie dazu, bestimmte DNS-Abschnitte in definierter Länge und mit hoher Spezifität in großen Mengen zu vervielfältigen, um danach detaillierte Untersuchungen durchführen zu können (Mullis et al. 1986). Heute gibt es eine große Vielzahl von PCR-Varianten, von denen zwei im Folgenden näher betrachtet werden sollen. Aber zunächst soll das Prinzip der PCR kurz erläutert werden (Abb. 8).

Anfangs bedarf es einer DNS-Isolierung aus dem Probenmaterial. Man spricht hier von genomischer DNS, welche die gewünschte Zielsequenz mit einer definierten Länge von der zu untersuchenden Bakteriengruppe enthält. Die PCR wird in sogenannten Thermocycler durchgeführt und ist in drei Phasen gegliedert (Abb. 8):

Phase 1 (Denaturierung): Zunächst muss die doppelsträngige DNS denaturiert werden, damit Einzelstränge vorliegen. Dies geschieht mit einer Erhöhung der Temperatur auf ca. 92-96°C. Die beiden Einzelstränge fungieren als Vorlagen für das Enzym Polymerase, welches einen ergänzenden Strang synthetisiert, damit eine neue doppelsträngige DNS entsteht.

Phase 2 (Anhybridisierung): Dem Reaktionsgemisch wurden sogenannte Primer zugegeben, die passend zu den Enden des zu vervielfältigen DNS-Stücks sind und dort bei der für sie spezifischen Temperatur binden. Diese Primer dienen für die Polymerase als Starter.

Phase 3 (Synthese): Sogenannte Nukleotide dienen als Bausteine für den neu zu synthetisierenden DNS-Strang. Diese Synthese, vermittelt durch eine Polymerase, findet bei Temperaturen von ca. 72-74°C statt.

Die drei Phasen der PCR werden in einem Zyklus zusammengefasst. Normalerweise werden 25-40 solcher Zyklen benötigt, um eine ausreichende Menge an Kopien der Ziel-Sequenz zu bekommen. Es handelt sich dabei um eine exponentielle Vervielfältigung der Zielsequenz.

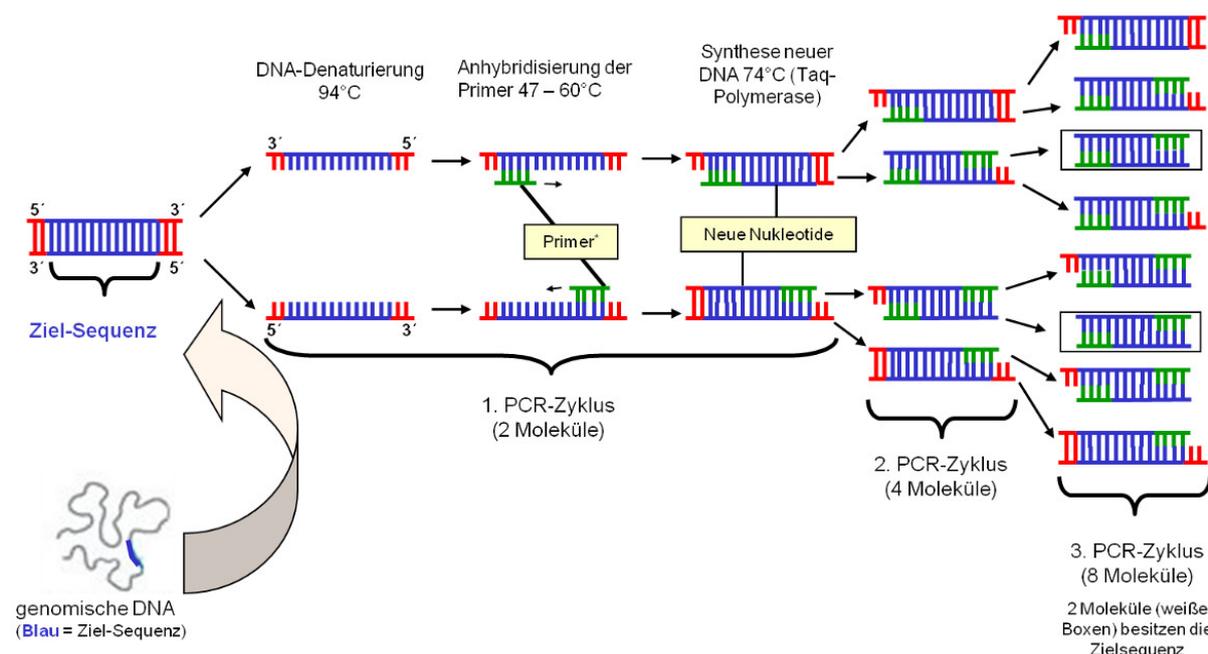


Abbildung 8: Prinzip der Polymerasekettenreaktion - PCR (Quelle: E. Nettmann, RUB).

Bei Verwendung des entsprechenden Equipments dauert ein PCR-Lauf je nach Zyklenanzahl zwischen 2 und 4 Stunden. Dies bedeutet, dass die Ergebnisse PCR-basierender Analyseverfahren spätestens einen Tag nach Probenahme schon vorliegen können. Daher sind diese Analysen für die biologische Routineüberwachung im Klärwerk sehr interessant.

3.3.2 Quantitative realtime PCR (qPCR)

Hierbei handelt es sich um eine Modifikation der PCR. Das Prinzip der zyklischen, exponentiellen Vervielfältigung ausgewählter DNS-Bereiche (Zielsequenz) findet auch hier seine Anwendung. Zusätzlich werden entweder Fluoreszenzfarbstoffe, u.a. SYBR®Green (Chen et al. 2015, Sotres et al. 2016)

oder spezifische, Fluoreszenz-markierte Sonden, u.a. TaqMan Sonden (Nettmann et al. 2010; Yu et al. 2005), eingesetzt.

Beide Varianten führen dazu, dass direkt während der PCR, also in Echtzeit („*realtime*“) die exponentielle Vervielfachung der Zielsequenz beobachtet/detektiert werden kann. Da die Fluoreszenzintensität proportional zu den gebildeten Kopien der Ziel-DNS ist, kann so die Ausgangsmenge der Ziel-DNS berechnet werden, die wiederum Auskunft über die Anzahl der jeweiligen Bakterien in einer Umweltprobe gibt. Somit ist eine Quantifizierung von Organismen mittels der qPCR möglich.

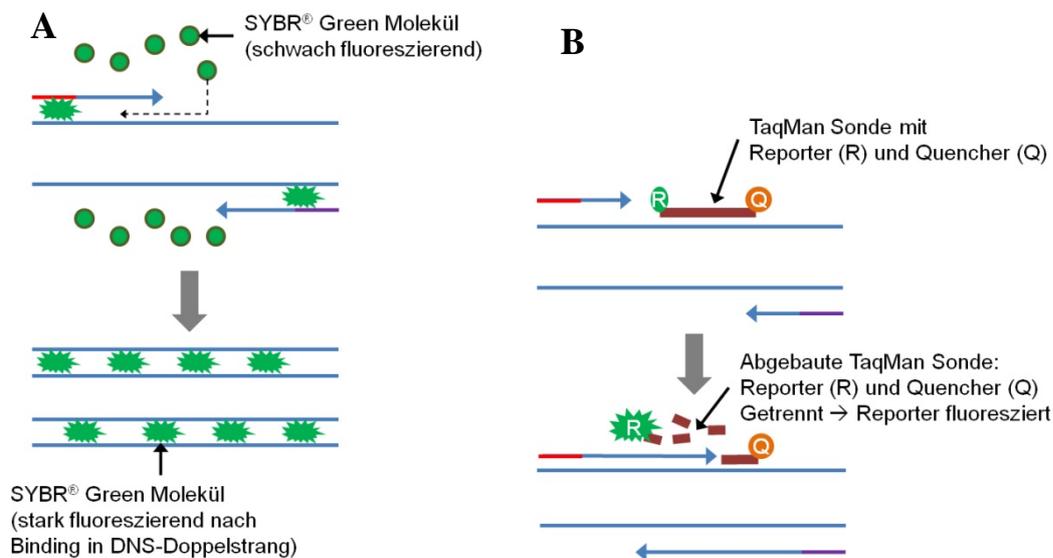


Abbildung 9: Prinzip quantitativen realtime PCR. A. SYBR®Green Ansatz und B. TaqMan Ansatz (Quelle: E. Nettmann, RUB).

Durch die schnelle Generierung der Ergebnisse (ca. 1 Tag), ist die qPCR bestens für die Routineüberwachung der biologischen Prozesse geeignet. Jedoch kann mit dieser PCR-Modifikation keine Unterscheidung zwischen stoffwechselaktiven und -inaktiven bzw. lebenden und toten Organismen getroffen werden. Darin unterscheidet sich die qPCR von der FISH, mit der überwiegend nur stoffwechselaktive Organismen nachgewiesen werden können. Ferner ist für die Durchführung dieser Analyse ein spezielles Equipment und Fachwissen erforderlich.

3.3.3 Viabilitäts-Quantitative realtime PCR (V-qPCR)

Eine weitere Modifikation der PCR, die es ermöglichen soll zwischen lebenden und toten Organismen in einer Umweltprobe unterscheiden zu können und diese auch zu quantifizieren, ist die Viabilitäts-qPCR (Barbau-Piednoir et al. 2014; Varma et al. 2009). Hierzu ist eine Vorbehandlung der Proben mit Propidium Monoazid (PMA) oder Ethidium Monoazid (EMA) notwendig (Abb. 10). Die

entscheidende Eigenschaft von PMA bzw. EMA ist, dass sie keine intakten Zellmembranen durchdringen können. Daher können sie nur in Zellen mit beschädigter Zellmembran, also tote Zellen, eindringen. Zudem verhindern PMA und EMA bei Anheftung an die DNS, dass diese mittels PCR vervielfältigt und somit auch nicht quantitativ erfasst werden kann.

Zur Durchführung dieser Methode wird die Probe halbiert und eine Hälfte mit PMA bzw. EMA vorbehandelt und die andere Hälfte bleibt als Kontrolle unbehandelt. Dadurch kann eine Aussage über den Anteil von toten und lebenden Organismen in einer Probe getroffen werden. Je nach Spezifikation kann diese Methode zur Quantifizierung spezieller Arten (z.B. *Nitrosomonas spp.*) oder ganze Bakteriengruppen (u.a. AOB, NOB etc.) genutzt werden.

Nach Zugabe von PMA bzw. EMA und einer Inkubationszeit folgt die Photoaktivierung dieser Moleküle, wodurch sie eine stabile Verbindung mit jedem DNS-Molekül eingehen, auf die sie Zugriff haben. Während der anschließenden qPCR können die an PMA bzw. EMA gebundenen DNS-Moleküle nicht mehr vervielfältigt werden, sondern nur die DNS von intakten, lebenden Zellen (Abb. 10).

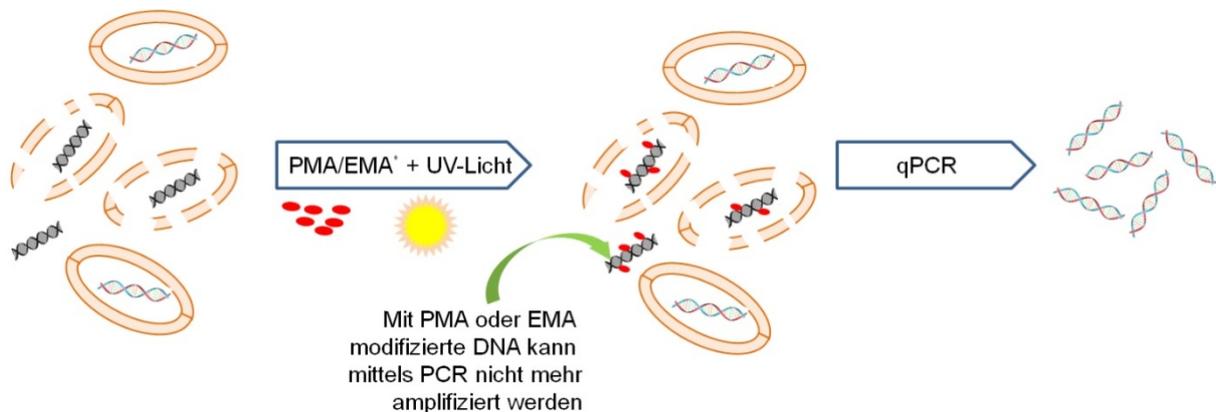


Abbildung 10: Prinzip der Viabilitäts-quantitative realtime PCR (V-qPCR) (Quelle: E. Nettmann, RUB).

Diese Methode kann als Nachweismethode von lebenden Organismen in Umweltproben angewendet werden, insbesondere für den Nachweis und der Quantifizierung von lebenden Pathogenen im Abwasserstrom. Ihr Vorteil liegt in der enormen Schnelligkeit der Analyse, da bereits einen Tag nach der Probenahme die Ergebnisse vorliegen können. Daher ist sie auch bestens für die Routineanalyse von prozessrelevanten Organismen, u.a. AOB, NOB etc., geeignet. Aber auch hier ist ein spezielles Equipment und Fachwissen erforderlich.

4 Was ist zu beachten bei der Anwendung molekularbiologischer Methoden

Prinzipiell sind alle o.g. molekularbiologischen Analyseverfahren für die Routinekontrolle in einem Klärwerk einsetzbar. Generell sind folgende Aspekte bei der Verwendung molekularbiologischer Methoden zu beachten:

- Nachweis und Quantifizierung verschiedenster Mikroorganismengruppen oder –arten ist möglich
- Molekularbiologische Methoden sind extrem sensitiv, genau und besitzen eine hohe Reproduzierbarkeit
- Es sollten immer Triplikate einer Probe analysiert werden
- Es sollten immer Positiv- und Negativkontrollen parallel zur Probe durchgeführt werden
- Mit der FISH werden meist nur stoffwechselaktive Zellen nachgewiesen
- Mit DNS-basierten Methoden kann in der Regel nicht zwischen stoffwechselaktiven und –inaktiven bzw. lebenden und toten Organismen unterschieden werden (Ausnahme: Viabilitäts-qPCR)
- Besonders im Abwasser und Faulbehälter können zahlreiche Stör- bzw. Hemmstoffe vorhanden sein, die sich negativ auf die DNS-Extraktion und weiterführenden Analysen auswirken oder bei der FISH Fehlsignale verursachen können
- Häufig ist eine Optimierung der Methoden an eine neue Umweltprobe notwendig
- Für ein optimales Quantifizierungsergebnis der FISH ist die Verwendung DNS-bindender Fluoreszenzfarbstoffe notwendig, um alle Organismen in einer Probe quantifizieren zu können und Fehlsignale auszuschließen
- Fehlsignale bei der Fluoreszenzmikroskopie können zur Verwechslung mit den Fluoreszenzsignalen der Sonde führen und somit die Ergebnisse der Quantifizierung verursachen
- Da die Primer und FISH-Sonden in der Regel auf Grundlage von DNS-Sequenzen bereits bekannter Organismen hergestellt werden, besteht die Möglichkeit, dass nicht alle zu untersuchenden Organismen (Wildtypen) in einer Umweltprobe erfasst werden.

Es sei abschließend angemerkt, dass diese Analysen nur von Fachpersonal durchzuführen sind und spezielles Equipment benötigt wird. Hierzu zählen ein

Epifluoreszenzmikroskop für die Auswertung der FISH und diverse Geräte für die Hybridisierung, u.a. Gefahrstoffabzug und Hybridisierungsöfen. Für die quantitative realtime PCR werden neben diversen Kleingeräten für die DNS-Extraktion ein spezielles Gerät (Thermocycler mit Fluoreszenzeinheit) benötigt. Daher ist die Durchführung dieser Analysen mit erhöhten Anschaffungs- und Personalkosten verbunden. Mittlerweile gibt es aber viele Analyselabore, welche die o.g. Verfahren anbieten.

5 Literatur

- Amann, R.; Krumholz, L., Stahl, D. A. (1990). Fluorescence-Oligonucleotide Probing of Whole Cells for Determinative, Phylogenetic, and Environmental Studies in Microbiology. *Applied and Environmental Microbiology* 172 (2): 762-770.
- Amann, R. I.; Ludwig, W.; Schleifer, K.-H. (1995). Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation, *Microbiological reviews* 59 (1): 143-169.
- Barbau-Piednoir, E.; Mahillon, J.; Pillyser, J.; Coucke, W.; Roosens, N. H.; Botteldoorn, N. (2014). *Journal of Microbiological Methods* 103: 131-137.
- Brady, R. A.; Leid, J. G.; Kofonow, J.; Costerton, J. W.; Shirtliff, M. E. (2007). Immunoglobulins to Surface-Associated Biofilm Immunogens Provide a Novel Means of Visualization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (20): 6612-6619.
- Chen, Q.; Ni, J.; Ma, T.; Liu, T., Zheng, M. (2015). Bioaugmentation treatment of municipal wastewater with heterotrophic-aerobic nitrogen removal bacteria in a pilot-scale SBR. *Bioresour Technol* 183: 25-32.
- Crocetti, G.; Murto, M.; Björnsson, L. (2006). An update and optimisation of oligonucleotide probes targeting methanogenic Archaea for use in fluorescence in situ hybridisation (FISH). *Journal of Microbiological Methods* 65: 194-201.
- Daims, H.; Brühl, A.; Amann, R.; Schleifer, K.-H.; Wagner, M. (1999). The Domain-specific Probe EUB338 is Insufficient for the Detection of all *Bacteria*: Development and Evaluation of a more Comprehensive Probe Set. *Systematic and Applied Microbiology* 22: 434-444.
- DeLong, E. F.; Wickham, G. S., Pace, N. R. (1989). Phylogenetic Stains: Ribosomal RNA-Based Probes for the Identification of Single Cells. *Science* 243: 1360-1363.
- Evers, M.; Lange, R.-L.; Jagemann, P.; Teichgräber, B.; Heinz, E.; Lübken, M.; Wichern, M. (2017). Vergleichende Untersuchungen zur Direktodosierung und nachgeschalteten Dosierung von Pulveraktivkohle. *KA Korrespondenz Abwasser, Abfall* 2017 64 (12): 1067-1073
- Hiegemann, H.; Herzer, D.; Nettmann, E.; Lübken, M.; Schulte P.; Schmelz, K.-G.; Gredigk-Hoffmann, S.; Wichern, M. (2016). An integrated 45 L pilot microbial fuel cell system at a full-scale wastewater treatment plant. *Bioresour Technol* 218: 115-122.

- Hiegemann, H.; Lübken, M.; Schulte, P.; Schmelz, K.-G.; Gredigk-Hoffmann, S.; Wichern, M. (2018). Inhibition of microbial fuel cell operation for municipal wastewater treatment by impact loads of free ammonia in bench- and 45L-scale. *Science of the Total Environment* 624: 34-39.
- Ikehata, K.; Naghashkar, N. J.; El-Din, M. G. (2006). Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review. *Ozone: Science and Engineering* 28 (6): 353-414.
- Luo, Y.; W. Guo; H. H. Ngo; L. D. Nghiem; F. I. Hai; J. Zhang; S. Liang und X. C. Wang (2014): A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *The Science of the total environment*, 473-474:619–641.
- Margot, J.; C. Kienle; A. Magnet; M. Weil; L. Rossi; L. F. de Alencastro; C. Abegglen; D. Thonney; N. Chèvre; M. Schäfer und D. A. Barry (2013): Treatment of micropollutants in municipal wastewater: ozone or powdered activated carbon? *The Science of the total environment*, 461-462:480–498.
- Mullis, K.; Faloona, f.; Scharf, S.; Saiki, r.; Horn, G.; Erlich, H. (1986). Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. In: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Band 51, Nr. 1, S. 263-273.
- Nettmann, E.; Bergmann, I.; Mundt, K.; Linke, B.; Klocke, M. (2008). Archaea diversity within a commercial biogas plant utilizing herbal biomass determined by 16S rDNA and mcrA analysis. *Journal of Applied Microbiology* 105: 1835-1850.
- Nettmann, E.; Bergmann, I.; Pramschüfer, S.; Mundt, K.; Plogsties, V.; Hermann, C.; Klocke, M. (2010). Polyphasic Analyses of Methanogenic Archaeal Communities in Agricultural Biogas Plants. *Applied and Environmental Microbiology* 76 (8): 2540-2548.
- Nielsen, P. H.; Daims, H.; Lemmer, H. (2009). *FISH Handbook for Biological Wastewater Treatment. Identification and quantification of microorganisms in activated sludge and biofilms by FISH*. IWA Publishing, London
- Raskin, L.; Stromley, J. M.; Rittmann, B. E.; Stahl, D. A. (1994). Group-Specific 16S rRNA Hybridization Probes To Describe Natural Communities of Methanogens. *Applied and Environmental Microbiology* 60 (4): 1232-1240.
- Schlapp, G.; Scavone, P.; Zunino, P. Härtel, S. (2011). Development of 3D architecture of uropathogenic *Proteus mirabilis* batch culture biofilms – A quantitative confocal microscopy approach. *Journal of Microbiological Methods* 87: 234-240.
- Sonne-Hansen, J. und Ahring, B. K. (1997). Anaerobic microbiology of an alkaline Icelandic hot spring. *FEMS Mikrobiology* 23: 31-38.
- Sotres, A.; Cerillo, M.; Vinas, M.; Bonmati, A. (2016). Nitrogen removal in a two-chambered microbial fuel cell: Establishment of a nitrifying-denitrifying microbial community on an intermittent aerated cathode. *Chemical Engineering Journal* 284: 905-916.
- Varma, M.; Field, R.; Stinson, M.; Rukovets, B.; Wymer, L.; Haufland, R. (2009). Quantitative real-time PCR analysis of total and propidium monoazide-resistant fecal indicator bacteria in wastewater. *Water Research* 43 (19): 4790-4801.

- Wagner, M. und Amann, R. (1996). Die Anwendung von in-situ-Hybridisierungssonden zur Aufklärung von Struktur und Dynamik der mikrobiellen Biozönosen in der Abwasserreinigung. Ökologie der Abwasserorganismen, Hrsg. Lemmer, H.; Griebe, T., Flemming, H.-C., Springer Verlag 93-110.
- Wagner, M. und Haider, S. (2012). New trends in fluorescence *in situ* hybridization for identification and functional analyses of microbes. Current Opinion in Biotechnology 23: 96-102.
- Yu, Y.; Lee, C.; Kim, J., Hwang, S. (2005). Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. Biotechnology and Bioengineering 89: 670-679.

Korrespondenz an:

Dr. Edith Nettmann

Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft und Umwelttechnik
Fakultät für Bau- und Umweltingenieurwissenschaften
Ruhr-Universität Bochum
Universitätsstraße 150
44780 Bochum
Deutschland

Tel: 0049/234/32-29856

Fax: 0049/234/32-14503

www.ruhr-uni-bochum.de/siwawi/

Mail: edith.nettmann@rub.de

Auswertungen mikroskopischer Belebtschlammuntersuchungen in Salzburg

Andreas Unterweger

Amt der Salzburger Landesregierung, Abteilung Wasser, Referat Gewässerschutz

Abstract:

Um Aussagen über die Qualität des Belebtschlammes bzw. die Verhältnisse in den Belebungsbecken über einen längeren Zeitraum zu erhalten werden seit 1985 bei den vom Gewässerschutz Salzburg vorgenommenen Fremdüberwachungen der kommunalen Kläranlagen mikroskopische Belebtschlammuntersuchungen durchgeführt. Pro Jahr werden ca. 75 – 100 Belebungsbecken von ausgewiesenen Fachleuten untersucht; der Schwerpunkt liegt dabei in der Determination der tierischen Mikroorganismen (v.a. Ciliaten) und der fädigen Bakterien. Für alle untersuchten Becken liegen auch die spezifischen Belastungsdaten sowie die wesentlichen chemisch-physikalischen Abwasserparameter einer umfassenden Fremdüberwachung vor.

Auswertungen von Ganner et al. (2002) haben unter anderem gezeigt, dass die Ciliatenarten *Holophrya discolor*, *Plagiocampa rouxi* und *Spirostomum teres* signifikant mit stabil denitrifizierenden Anlagen korrelieren.

Ein erster Vergleich der Daten von Ganner et al. (2002) mit Daten aus den Jahren 2014 – 2017 zeigt, dass sich die Organismen- und insbesondere die Ciliatengemeinschaft signifikant verändert hat, die Individuenzahlen und auch die Taxazahlen pro Probe (Belebungsbecken) steigen, die Taxazahl aber insgesamt konstant ist. Weitere Auswertungen sollen folgen.

Key Words: mikroskopische Belebtschlammuntersuchung, Indikatorarten, Ciliaten, Protozoen, kommunale Kläranlagen

1 Einleitung

Im Land Salzburg werden seit 1985 – angeregt durch Veranstaltungen von Prof. Wilhelm Foissner - parallel zu den einmal pro Jahr vom Referat Gewässerschutz des Amtes der Salzburger Landesregierung an allen kommunalen Kläranlagen durchgeführten umfassenden Fremdüberwachungen mikroskopische Belebtschlammuntersuchungen durchgeführt.

schlammuntersuchungen durchgeführt. Damit können in Ergänzung der Zulauf- und Ablaufparameter sowie der spezifischen Belastungs- und Schlammdaten die Qualität des Belebtschlammes und die Verhältnisse in den Belebungsbecken rückblickend über längere Zeiträume (zumindest mehrere Wochen) beurteilt werden. Für jeden mikroskopischen Befund liegen daher auch alle relevanten Parameter der Kläranlagenüberwachung vor (über 2.000 Datensätze). Eine erste systematische Auswertung dieser Daten erfolgte durch Ganner et al. (2002). Seit 2005 werden diese Untersuchungen von Dr. Helmut Berger, einem der renommiertesten Protozoologen Österreichs, durchgeführt.

2 Methodik

2.1 Untersuchungszeitraum und -umfang

Die mikroskopische Belebtschlammuntersuchung (qualitativ bzw. semiquantitativ, teilweise auch quantitativ) durch ausgewiesene Spezialisten der Protozoologie erfolgte von 1991 bis 2004 durch Dr. Bruno Ganner, seit 2005 von Dr. Helmut Berger. Etwa 80 Belebungsbecken der kommunalen Kläranlagen im Land Salzburg wurden und werden dabei im Zuge der umfassenden Fremdüberwachung durch den Gewässerschutz des Landes pro Jahr untersucht. Insgesamt stehen damit (beginnend mit 1991) über 2.000 umfassende Datensätze zur Verfügung, die auch laufend ergänzt werden. 1991 waren noch 40 Kläranlagen in Betrieb, bis 2017 sank die Zahl (durch Auflassung und Zusammenlegung von Anlagen) auf 33.

2.2 Probennahme

Die Probennahme erfolgte als qualifizierte Stichprobe in ausgewählten, voll durchmischten Belebungsbecken. 500-ml-Schraubdeckeldosen wurden dabei ca. zur Hälfte gefüllt. Während des Transports ins Labor und der Aufbewahrung bis zur unmittelbar anschließenden Untersuchung wurden die Proben gekühlt.

2.3 Mikroskopie

Die Beschreibung der mikroskopischen Analyse folgt Berger (2006).

Die Analyse wurde mit einem mit Hellfeld, Phasenkontrast (40×) und Normarski Differential-Interferenzkontrast (10×, 20×, 40×, 100×) ausgestatteten Olympus BHS Mikroskop durchgeführt. Zur Beurteilung der Farbe und des Geruches wurde der Belebtschlamm im Probengefäß aufgeschüttelt.

Aus der aufgeschüttelten Probe wurden etwa 0,05 ml mittels Kolbenhubpipette mit etwa 2 mm großer Öffnung entnommen und ohne Deckglas die Morphologie

der Flocken (Form, Größe, Struktur) bei 125-facher Vergrößerung (Okular 12,5×, Objektiv 10×) festgehalten. Nach dem Auflegen des Deckglases (20 × 20 mm) wurden die Bakterien, Protozoen und Metazoen unter Verwendung einer adäquaten Vergrößerung (Objektive 10×, 20×, 40×, 100×) bestimmt. Um auch seltenere Arten nachzuweisen, wurden von jeder Probe noch zwei Tropfen zu etwa 0,1 ml (Deckglas 24 × 50 mm) untersucht. Aus jedem Belebungsbecken wurden mehrere Mikrofotos und eine kurze Videosequenz aufgenommen.

Die Abundanzschätzung (Häufigkeit) der Organismen folgt Tabelle 1, wobei auch Zwischenstufen erfasst werden (z.B. 2-3). Fehlen bestimmte Gruppen (z.B. Rädertiere) ist dies in den Artenlisten nicht extra vermerkt.

Von jeder Probe wurden mindestens je zwei Trockenpräparate aus je etwa 0,05 ml Schlamm hergestellt. Die GRAM- und NEISSER-Färbung wurden jedoch erst ab einer geschätzten Fädigkeit von 2–3 (Wagner 1982, Eikelboom & Buijsen 1999) mit den Färbesets von MERCK durchgeführt. Bei Bedarf wurde der Schwefeltest nach Eikelboom & Buijsen (1999) durchgeführt. Für die Bestimmung der Fadenbakterien wurde das Analysenformular von Eikelboom & Buijsen (1999, Anhang 2) verwendet.

Tabelle 1: Skala für die geschätzten Häufigkeiten von Belebtschlammorganismen im mikroskopischen Bild.

Schätzwert	Beschreibung
0	fehlt
E	Einzelfund
1	selten
2	einige
3	häufig
4	massenhaft

Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag dabei auf der Identifikation und Häufigkeitsschätzung der Ciliaten und anderer Protozoen, aber auch Metazoa und fädige Organismen (Bakterien, Pilze) wurden erfasst.

Weitere Details zur Methodik, insbesondere der quantitativen Untersuchungen nach Augustin et al. (1989) bzw. Madoni (1994), und der verwendeten Bestimmungsliteratur finden sich in Ganner et. al. (2002) und Berger (2006).

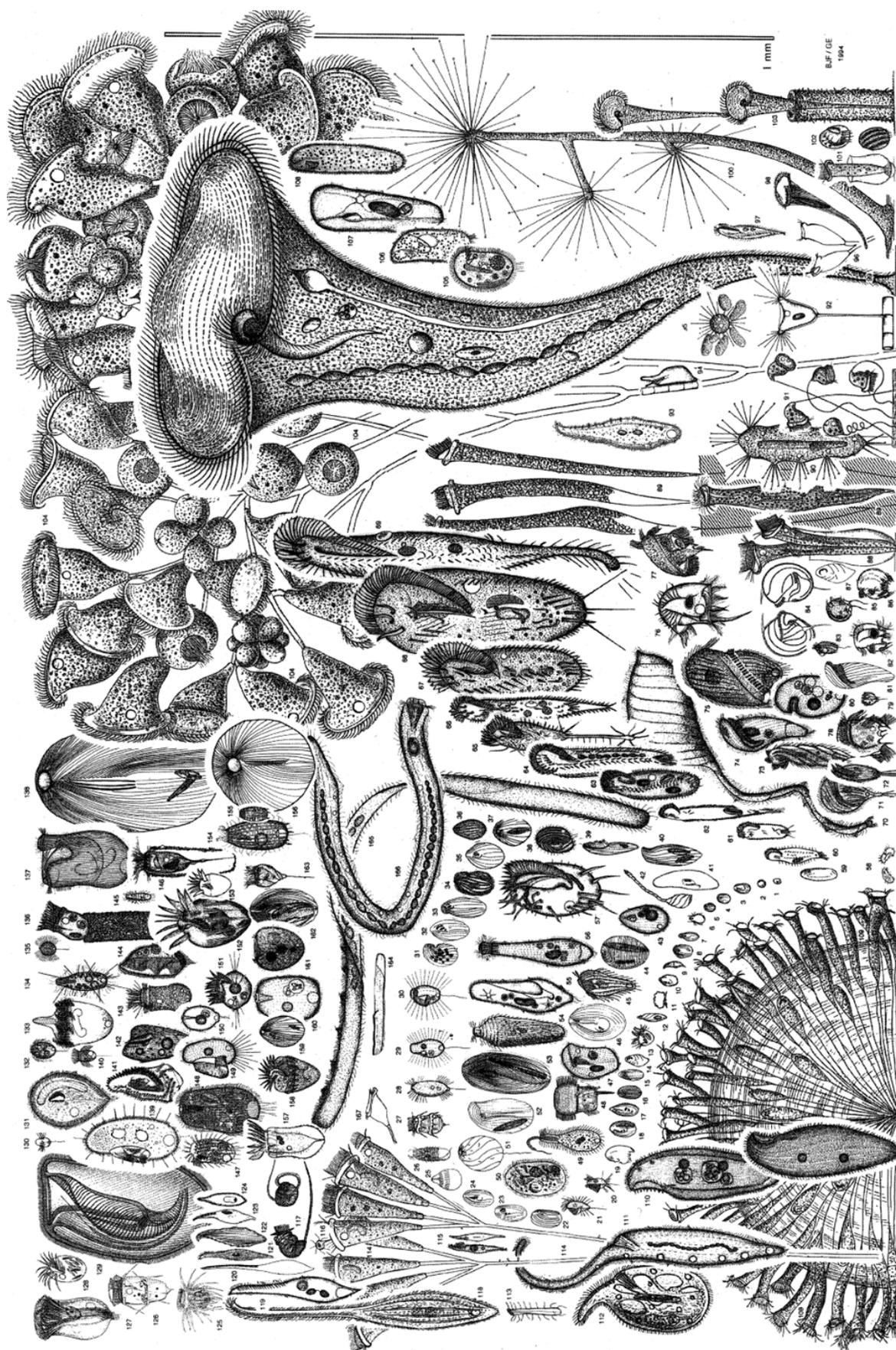


Abbildung 1: Repräsentative Auswahl aus der Vielfalt freilebender Ciliaten (Finlay et al., 1996; Finlay, 1998).

Artenliste zu Abbildung 1: 1. *Cinetochilum margaritaceum* 2. Halteria n. sp. 3. *Cyclidium citrullus* 4. *Urotricha* sp. 5. *Thigmogaster* sp. 6. *Mesodinium* sp. 7. *Philasterides* sp. 8. *Chilodonella uncinata* 9. *Litonotus uninucleatus* 10. *Cyclidium plouneouri* 11. *Aspidisca cicada* 12. *Lacrymaria* sp. 13. Halteria grandinella 14. *Trimyema* sp. 15. *Zosterodasys* sp. 16. *Glaucoma scintillans* 17. *Ctedectoma wilberti* 18. *Calyptotricha lanuginosa* 19. *Saprodinium* sp. 20. *Cristigera setosa* 21. *Cyclidium* sp. 22. *Pseudomicrothorax dubius* 23. *Sathrophilus muscorum* 24. *Paranophrys* sp. 25. *Askenasia* sp. 26. *Metacystis tessellata* 27. *Hastatella radians* 28. *Balanonema biceps* 29. *Uronema marinum* 30. *Cyclidium glaucoma* 31. *Colpoda cucullus* 32. *Dexiotricha media* 33. *Colpidium campylum* 34. *Placus luciae* 35/36. *Tetrahymena pyriformis*-complex 37. *Placus* sp. 38. *Cinetochilum margaritaceum* 39. *Blepharisma hyalinum* 40. *Loxodes* sp. 41. *Paramecium aurelia*-complex 42. *Lacrymaria olor* 43. *Tetrahymena vorax* 44. *Entosiphon* sp. (euglenid) 45. *Spathidium sulcatum* 46. *Pleuronema coronatum* 47. *Chilodonella* sp. 48. *Urocentrum turbo* 49. *Ileonema dispar* 50. *Nassula tumida* 51. *Sagittaria polygonalis* 52. *Trithigmostoma cucullulus* 53. *Frontonia leucas* 54. *Lacrymaria elegans* 55. *Paramecium caudatum* 56. *Lacrymaria* sp. 57. *Euplotes* sp. 58. *Drepanomonas revoluta* 59. *Tachysoma* sp. 60. *Tachysoma pellionella* 61. *Stylonychia putrina* 62. *Urosoma cienkowski* 63. *Holosticha* sp. 64. *Keronopsis monilata* 65. *Ancystropodium maupasi* 66. *Urosoma cienkowski* 67. *Gastrostyla steinii* 68. *Stylonychia mytilus* 69. *Uroleptus piscis* 70. *Lacrymaria olor* 71. *Metopus striatus* 72. *Metopus undulans* 73. *Tropidoattractus acuminatus* 74. *Metopus* sp. 75. *Brachonella spiralis* 76. *Caenomorpha* sp. 77. *Caenomorpha uniserialis* 78. *Saprodinium dentatum* 79. *Isocyclidium globosum* 80. *Plagiopyla nasuta* 81. *Metopus es* 82. *Saprodinium* sp. 83. *Cyclidium porcatum* 84. *Discomorphella pectinata* 85. *Mylestoma uncinatum* 86. *Saprodinium difficile* 87. *Trimyema compressum* 88. *Vaginicola crystallina* 89. *Ophrydium versatile* 90. *Trichophrya epistylidis* 91. *Vorticella natans* 92. *Acineta* sp. 93. *Loxophyllum helus* 94. *Chilodonella* sp. 95. *Sphaerophrya magna* 96. *Epistylis* sp. 97. *Paruroleptus caudatus* 98. *Stentor* sp. 99. *Stentor polymorphus* 100. *Dendrosoma radians* 101. *Stylocola striata* 102. *Aspidisca costata* 103. *Stentor roeseli* 104. *Epistylis flavicans* 105. *Nassula picta* 106. *Paramecium bursaria* 107. *Frontonia* sp. 108. *Deltopylum rhabdoides* 109. *Ophrydium eichornii* 110. *Loxodes striatus* 111. *Dileptus* sp. 112. *Trachelius ovum* 113. *Arcuospathidium vermiforme* 114. *Epistylis plicatilis* 115. *Kahlilembus attenuatus* 116. *Endosphaera terebrans* 117. *Vorticella mayeri* 118. *Litonotus cygnus* 119. *Amphileptus* sp. 120. *Litonotus cygnus* 121. *Litonotus fasciola* 122. *Loxophyllum helus* 123. *Litonotus fasciola* 124. *Loxophyllum* sp. 125. *Hastatella aesculacantha* 126. *Hastatella radians* 127. *Phascolodon vorticella* 128. *Strombidium velox* 129. *Bursaria truncatella* 130. *Urozoona bütschlii* 131. *Disematostoma gyrans* 132. *Urotricha furcata* 133. *Monodinium balbiani* 134. *Actinobolina* sp. 135. *Urotricha furcata* 136. *Tintinnopsis* sp. 137. *Bursaridium pseudobursaria* 138. *Prorodon palustris* 139. *Histiobalantium majus* 140. *Balanion planctonicum* 141. *Hypotrichidium conicum* 142. *Disematostoma (Leucophrys) tetraedrica* 143. *Tintinnopsis lacustris* 144. *Lembadion* sp. 145. *Enchelyomorpha vermicularis* 146. *Tintinnidium fluviatile* 147. *Platynematum sociale* 148. *Holophrya ovum* 149. *Pleuronema* sp. 150. *Urotricha* sp. 151. Halteria sp. 152. *Strombidium* sp. 153. *Strombidium sulcatum* 154. *Coleps* sp. 155. *Coleps hirtus* 156. *Prorodon discolor* 157. *Codonella cratera* 158. *Strombidium viride* 159. *Prorodon* sp. 160. *Prorodon* sp. 161. *Holophrya gargamellae* 162. *Frontonia acuminata* 163. *Strobilidium adherens* 164. *Spirostomum* sp. 165. *Spirostomum minus* 166. *Homalozoon vermiculare* 167. *Vorticella* sp. (Finlay et al., 1996; Finlay, 1998)

3 Ergebnisse

3.1 Allgemein

Insgesamt konnten in den betrachteten 26 Jahren in über 2.000 untersuchten Proben etwa 100 Ciliaten-Taxa nachgewiesen werden (ca. 75% bis auf Art-Niveau bestimmt). Pro Kläranlage sind über die Jahre etwa 60 Taxa aufgetreten. Für eine Einzeluntersuchung eines Belebungsbeckens ist mit 3 bis mehr als 20 Ciliatentaxa zu rechnen.

Inklusive aller mikroskopisch determinierbaren (mehr oder weniger tierischen) Organismen (Flagellaten, Nacktamoeben, Schalenamoeben, Ciliaten, Nematoden, Rädertierchen, andere Metazoa) wurden ca. 150 Taxa in den Belebtschlammproben gefunden.

In Abbildung 1 soll lediglich die große Vielfalt und Bandbreite freilebender Ciliaten demonstriert werden. Es finden sich Ciliaten unterschiedlichster Größe mit Längen zwischen wenigen μm bis zu 2 mm. Komplexeste Zellorganellen, angepasst an unterschiedlichste Lebens- und Ernährungsweisen kennzeichnen diese faszinierenden einzelligen Tiere.

3.2 Ausgewählte Ergebnisse Untersuchungszeitraum 1991 - 2000

Ganner et al. (2002) haben die Belebtschlammuntersuchungen der Jahre 1991 bis 2000 ausgewertet. Dafür wurden pro Jahr ca. 80 Belebtschlammproben aus 40 Kläranlagen herangezogen. Detaillierte Auswertungen betrafen die Jahre 1997 - 2000, die auch in Kapitel 3.3 für den Vergleich mit aktuellen Daten herangezogen werden.

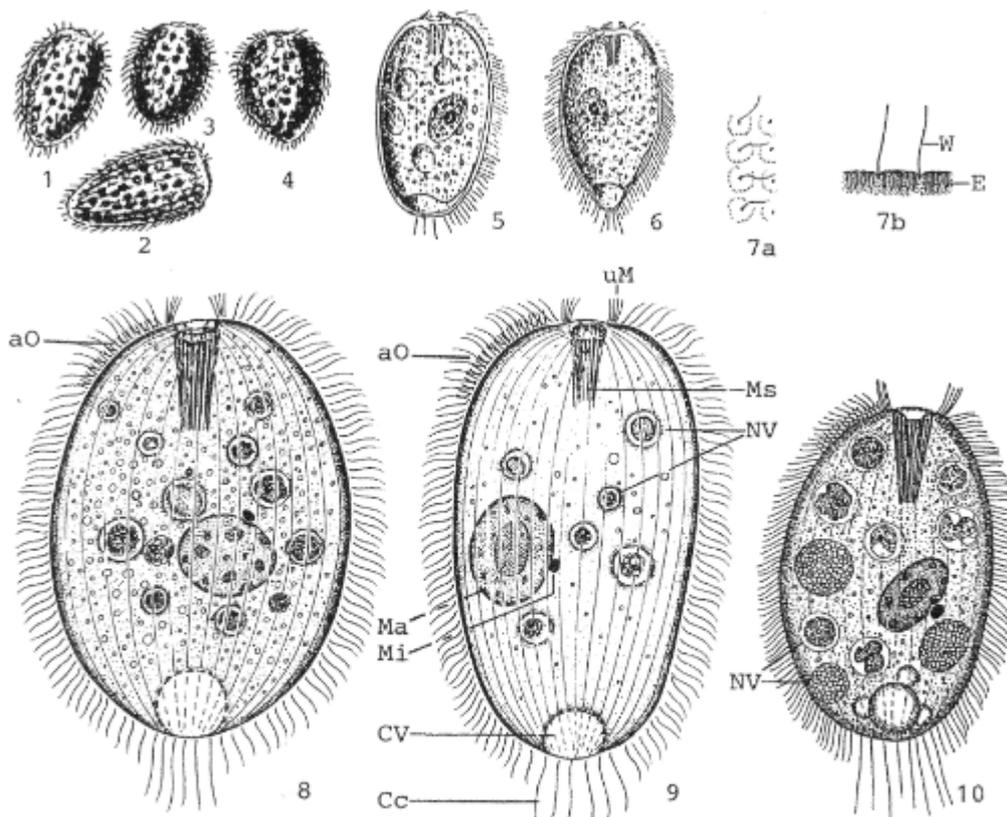
Kurz und tabellarisch zusammengefasst werden die Ergebnisse von quantitativen Belebtschlammuntersuchungen dargestellt (insgesamt 79 Proben aus 37 Kläranlagen in den Jahren 1999 und 2000; Tabelle 2).

Abhängig von zahlreichen Faktoren wie Schlammbelastung, Schlammalter, Sauerstoffversorgung etc. können die Individuenzahlen der verschiedenen Gruppen und auch insgesamt in den Belebungsbecken sehr stark schwanken. Die höchsten Dichten erzielen heterotrophe Flagellaten mit bis zu 750.000 Individuen pro Milliliter; in so besiedelten Belebtschlämmen sind dann allerdings kaum andere Vertreter der Mikrofauna zu finden.

Tabelle 2: Ergebnisse der Organismenzählungen in Belebtschlämmen kommunaler Kläranlagen nach Madoni und Augustin (Individuen pro Milliliter).

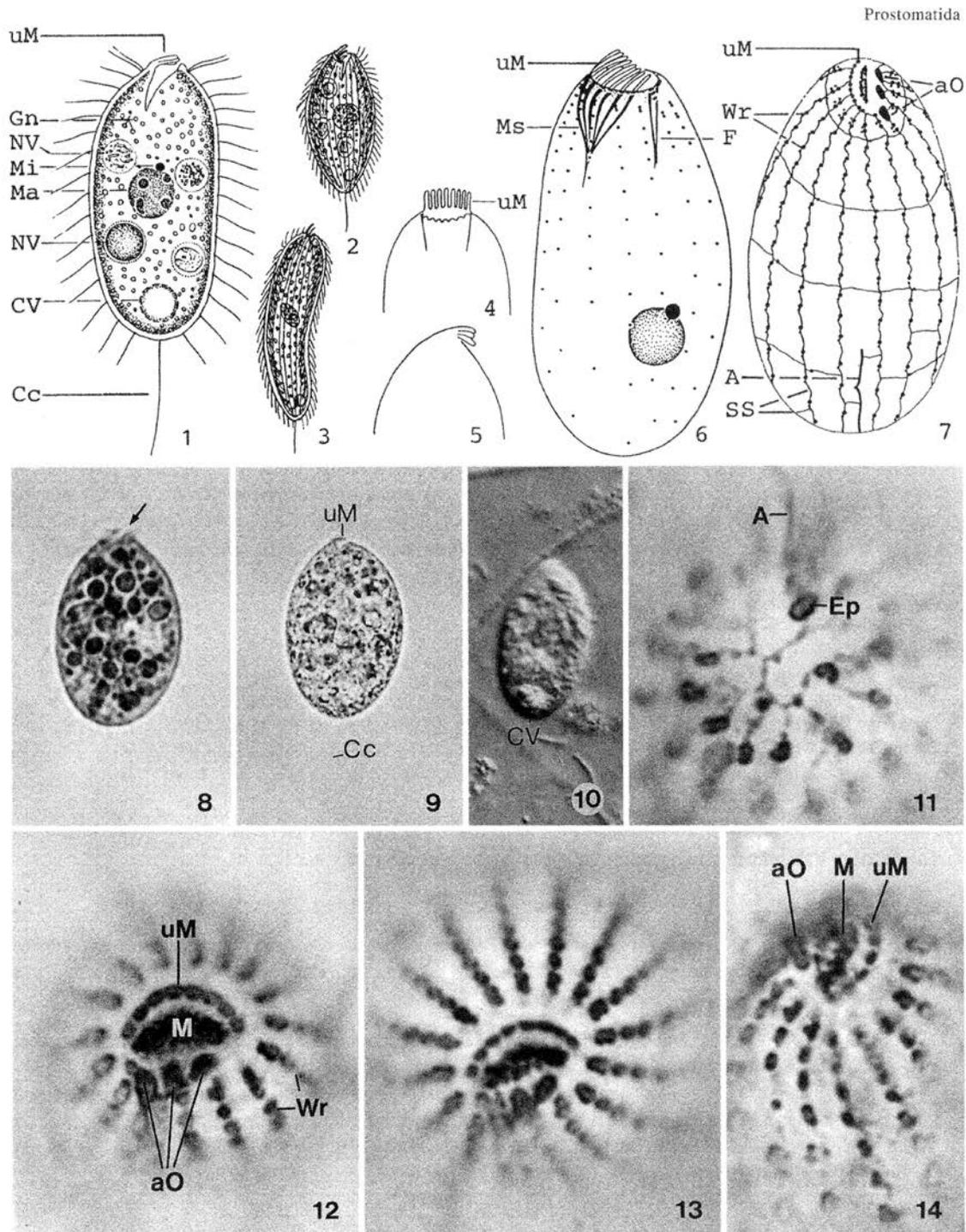
Taxon	Übliche Bandbreite	Median	Maximalwerte
Flagellaten	10.000 – 50.000	10.000	750.000
Nacktamöben	5.000 – 20.000	19.000	190.000
Schalenamöben	0 – 300	1	24.000
Ciliaten	5.000 – 20.000	11.000	48.000
Metazoa	10 – 200	60	1.200
Gesamt	30.000 – 160.000	110.000	760.000

Die Auswertungen von Ganner et al. (2002) zeigten, dass die Ciliatenarten *Holophrya discolor*, *Plagiocampa rouxi* und *Spirostomum teres* sehr konstant in stabil nitrifizierenden und denitrifizierenden Kläranlagen auftraten (Abbildungen 2 - 4). Die in allen anderen Kläranlagen seltenen oder gar nicht auftretenden Ciliaten gehören bei diesen Anlagen zu den verbreitetsten und häufigsten Arten.



Holophrya discolor in vivo (1-4, aus EHRENBERG 1838; 5, 6, aus KAHN 1930a; 7a, aus DRAGESCO 1966; 7b, 10, aus FOISSNER 1983; 8, 9, aus AUGUSTIN & FOISSNER 1992). 1, 2, 4-6, 9: Theronten, d. h. nach Nahrung suchende Individuen, 75-120 µm. 3, 8, 10: Trophonten, d. h. vollgefressene Exemplare, 75-120 µm. Der Extrasomensaum ist nur in Abb. 10 eingezeichnet (vgl. Abb. 7b). 7a,b: Pellicula in Draufsicht und im optischen Schnitt. aO = adorale Organellen ("Bürste"), Cc = Caudalcilien (etwa 20 µm lange Wimpern am Hinterende), CV = kontraktile Vakuole, E = Extrusome, die nach dem Ausstoß eine dünne Hülle bilden, Ma = Makronucleus, Mi = Mikronucleus, Ms = Mundstäbe, die einen deutlichen Mundtrichter bilden, NV = Nahrungsvakuolen, uM = circumorale Wimpern (undulierende Membran), W = Wimper.

Abbildung 2: *Holophrya discolor* (aus: Foissner et al. 1994).



Plagiocampa rouxi (1, 4, 5, 7, 11-14, aus FOISSNER 1978; 2, aus KAHL 1930a; 6, aus FOISSNER 1984a. 1, 2, 4, 5, in vivo; 6, Protargolimprägnation; 7, 11-14, nasse Silbernitratimprägnation; 8, 9, leicht gequetschte Exemplare im Hellfeld; 10, Interferenzkontrast). 1, 2, 8, 9: Rechts laterale Ansichten, 35-50 µm, Abb. 2 = 60 µm. Der Pfeil in Abb. 8 markiert den winzigen, aber sehr typischen schrägen Mundspalt. 4, 5: Aufgestellte "Mundklappen" von der Ventralseite gesehen und deren Lage bei geschlossenem Mund in rechts lateraler Ansicht. 6, 7: Bewimperung und Silberliniensystem der rechten Seite. 10: Freischwimmendes Exemplar zwischen Bakterien-Fäden. 11-14: Bewimperung des Hinter- (Abb. 11) und Vorderendes. A = After, aO = adorale Organellen ("Bürste"), Cc = Caudalcilium, CV = kontraktile Vakuole, Ep = Exkretionsporus der CV, Gn = Granula, F = Fibrillen, die von den aO entspringen, M = Mund, Ma = Makronucleus, Mi = Mikronucleus, Ms = Mundstäbe, NV = Nahrungsvakuolen, SS = meridional und circular verlaufende Silberlinien, uM = undulierende Membran ("Mundklappen"; eine Klappe besteht bei der ähnlichen *P. ovata* aus einem Wimpernpaar und einem Extrusom; FAURE-FREMIET & ANDRE 1965), Wr = Wimperreihen. *Plagiocampa longis* in vivo (aus KAHL 1930a). 3: Seitenansicht, 100 µm (→ Taxonomie).

Abbildung 3: *Plagiocampa rouxi* (aus: Foissner et al. 1994).



Abbildung 4: *Spirostomum teres*. Kläranlage RHV Unterpinzgau, Filzmoos, Großarl.
© Land Salzburg, Helmut Berger.

3.3 Vergleich der Ergebnisse 1997 - 2000 mit 2014 - 2017

Um die Entwicklung der Organismengesellschaften in den Belebungsbecken zu dokumentieren, werden die Ergebnisse der zusammengefassten Untersuchungen der Perioden 1997–2000 und 2014–2017 miteinander verglichen. Die Häufigkeiten sind geschätzt (vgl. Tabelle 1), die Perioden umfassen jeweils 4 Jahre. In der ersten Periode stammen die Proben aus 40, in der zweiten Periode aus 33 Kläranlagen.

In den Abbildungen 5 und 6 ist dargestellt, wie sich die Frequenzen und Abundanzen (Summenhäufigkeiten) der 26 häufigsten Taxa in den Belebtschlämmen im Untersuchungszeitraum 2014–2017 gegenüber jenem von 1997–2000 verändert haben. Im ersten Zeitabschnitt wurden 336 Proben, im zweiten 338 Proben ausgewertet. Die Balken sind in abnehmender Frequenz bzw. Häufigkeit des ersten Untersuchungsabschnittes sortiert.

Die stärkste Ab- bzw. Zunahme in Frequenz bzw. Abundanz im Vergleich der zwei Untersuchungsperioden zeigten die Taxa in Tabelle 3. Als Zusatzinformation wird jeweils die saprobielle Einstufung angegeben (soweit vorhanden).

Peritriche (in der Regel festsitzende und Bakterien fressende) Ciliaten nehmen in Summe zu, „Weidegänger“ unter den Ciliaten nehmen tendenziell ab. Ciliaten mit einem hohen („schlechten“) Saprobitätsindex (SI) nehmen tendenziell ab. Sie werden abgelöst durch Arten, die einen niedrigeren SI bevorzugen bzw. deren Indikationsgewicht niedriger ist.

Organismen mit längeren Reproduktionszeiten treten häufiger auf (*Tokophrya quadripartita*, Nematoden, Rädertierchen).

In der Regel entwickeln sich Frequenz und Abundanz parallel, jedoch nicht zwangsläufig (sh. z. B. *Vorticella convallaria*-K., Rädertierchen etc.).

Die Summe der geschätzten Häufigkeiten für die häufigsten Taxa steigt an (um ca. 12%), die Taxazahl pro Probe steigt von 21 auf 24.

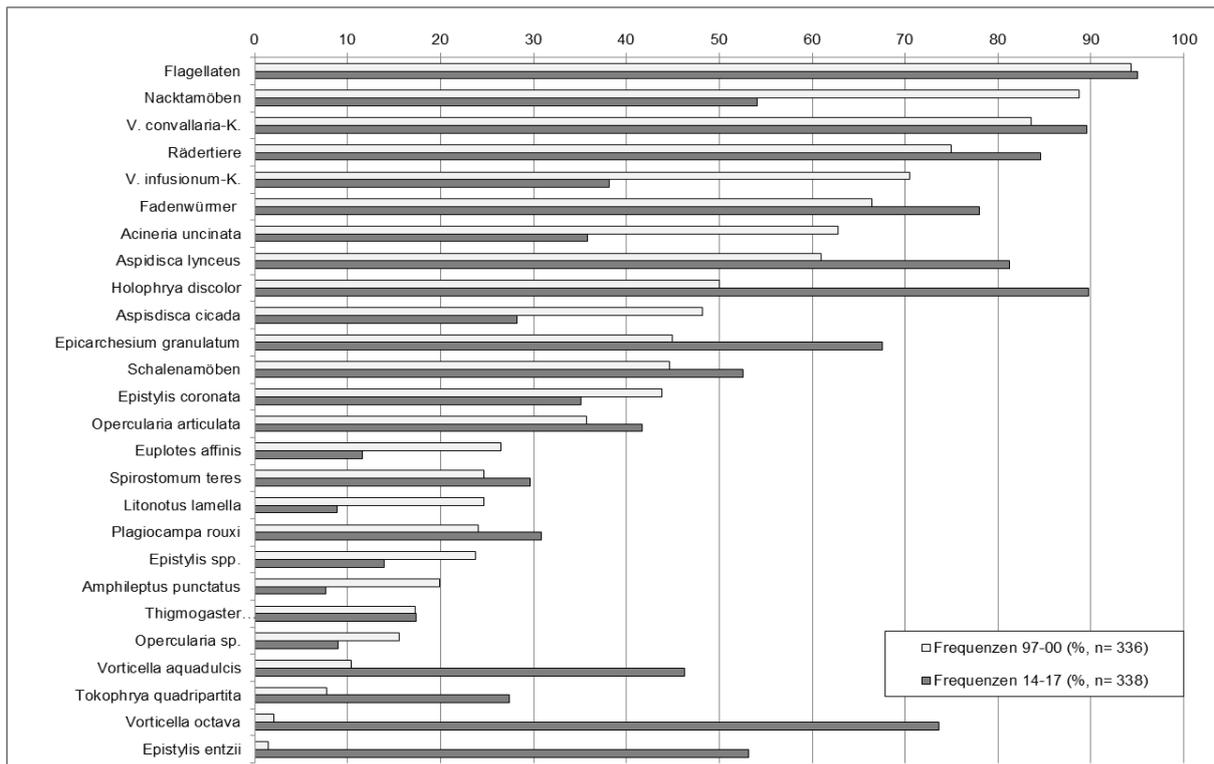


Abbildung 5: Vergleich der Frequenzen (in Prozent) der verbreitetsten Taxa in den Belebtschlämmen kommunaler Kläranlagen; Zeiträume 1997 – 2000 bzw. 2014 – 2017.

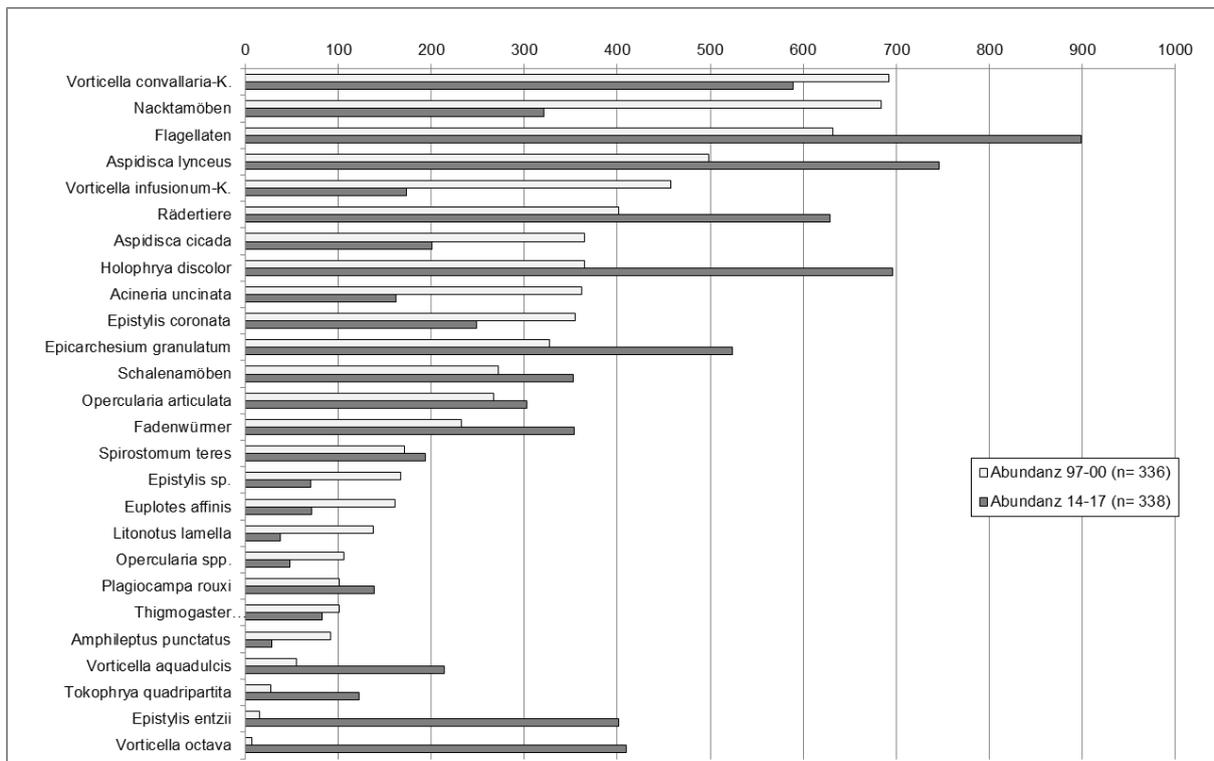


Abbildung 6: Vergleich der Abundanzen (Summenhäufigkeiten) der häufigsten Taxa in den Belebtschlämmen kommunaler Kläranlagen; Zeiträume 1997 – 2000 bzw. 2014 – 2017.

Tabelle 3: Taxa mit den größten Ab- bzw. Zunahmen von Abundanz bzw. Frequenz von 1997-2000 nach 2014-2017 inklusive Saprobität (S), Saprobitätsindex (SI) und Indikationsgewicht (I).

Taxon	Ab/Zunahme von		S	SI	I
	Abundanz	Frequenz (%)			
Nacktamöben	-363	-35	-	-	-
Vorticella infusionum-K.	-285	-32	p-a	3,4	2
Acinertia uncinata	-200	-27	a-p	3,2	2
Aspidisca cicada	-165	-20	a-b	2,7	2
Epistylis coronata	-106	-9	a	3,0	5
Vorticella convallaria-K.	-103	+6	a	2,7	2
Litonotus lamella	-100	-16	a	2,8	4
Euplotes affinis	-90	-15	b-a	2,6	2
Amphileptus punctatus	-63	-12	a	2,9	5
Vorticella octava-K.	+403	+72	b-a	2,2	2
Epistylis entzii	+387	+52	a	2,9	3
Holophrya discolor	+331	+40	a-b	2,8	2
Flagellaten	+267	+0,7	-	-	-
Aspidisca lynceus	+248	+20	b-a	2,5	1
Rädertierchen	+227	+10	-	-	-
Epicarchesium granulatum	+197	+23	-	-	-
Vorticella aquadulcis	+159	+36	b-a	2,1	2
Nematoden	+122	+12	-	-	-
Tokophrya quadripartita	+95	+20	a-b	2,9	2

4 Zusammenfassung

Die mikroskopischen Untersuchungen der Belebtschlämme kommunaler Kläranlagen geben Auskunft über die Verhältnisse in den Belebungsbecken in den Wochen vor der Überprüfung im Hinblick auf unterschiedlichste Aspekte:

- Art und Ausmaß der Belastung,
- Auslastung der Anlage,
- Belastungsstöße,
- Sauerstoffversorgung,
- Schlammalter,
- Stabilität des Betriebes, insbesondere im Hinblick auf Nitrifikation und Denitrifikation u.v.a.

Der in den letzten Jahren weit fortgeschrittene Ausbaugrad und die stabil guten Reinigungsleistungen führen zu immer weniger differenzierten mikroskopischen Bildern der („aus Sicht der“ Organismengesellschaften) sehr ähnlich betriebenen Belebungsbecken mit niedrigen Schlammbelastungen, vergleichsweise niedrigen hydraulischen Belastungen, vergleichbaren Sauerstoffgehalten, nur schwach

ausgeprägten kurzfristigen Belastungsschwankungen. *Wenn immer und überall alles funktioniert besteht ein gewisses Potential zur Langeweile.*

Vergleiche auf Basis einer großen Stichprobenanzahl über viele Jahre hinweg zeigen, dass sich die mikroskopisch determinierbaren Organismengesellschaften in den Belebungsbecken verändern bzw. verändert haben.

Das Saprobiensystem als teilweise wissenschaftlich auf durchaus schwachen Beinen stehendes pragmatisches bzw. empirisches Konzept ist sicher nur eingeschränkt geeignet, Aussagen über die „Qualität“ von Belebtschlamm zu machen (dies gilt auch für andere Bewertungssysteme wie den „Madoni-Index“), weist aber durchaus auf Veränderungen hin. Die Ciliaten im Belebtschlamm zeigen, dass der Saprobitätsindex einer einzelnen Art durch sehr unterschiedliche Umweltbedingungen beeinflusst wird.

5 Ausblick

Zahlreiche Fragen sind noch unbeantwortet.

Wie verändern sich die mikroskopisch determinierbaren Biozöosen in Abhängigkeit von

- Schlammbelastung, Auslastung der Anlagen,
- chemisch-physikalischen Besonderheiten des Abwassers,
- Besonderheiten des Reinigungsverfahrens,
- Temperatur, pH-Wert bzw. auch Härtegrad/Säurekapazität etc.?

Die Daten dafür liegen in Salzburg grundsätzlich vor.

Es ergeht das Angebot an Studierende, gemeinsam mit dem Gewässerschutz Salzburg (und mit noch nicht dazu befragten Wissenschaftlern der TU Wien) aufbauend auf dieser Datengrundlage weitere Erkenntnisse zu gewinnen.

6 (Weiterführende)Literatur

- Augustin, H., Foissner, W. & Bauer, R. (1989). Die Zählung von Protozoen und kleinen Metazoen im Belebtschlamm. Acta hydrochim. hydrobiol. 17: 375 – 386.
- Berger, H. (2006). Chemisch-physikalische Analyse und biologische Untersuchung von Abwasserproben sowie Belebtschlammproben kommunaler Kläranlagen im Bundesland Salzburg. Parameterblock 3 Biologische Belebtschlammuntersuchung. Land Salzburg, Referat Gewässerschutz. Unveröffentl.
- Ganner, B., Unterweger, A. & Jäger, P. (2002). Die Biologie der Salzburg Kläranlagen im Zeitraum von 1991 bis 2000. Reihe Gewässerschutz. 6: 115 – 170. Land Salzburg, Referat Gewässerschutz.

- Finlay, B.J., Corliss, J.O., Esteban, G. & Fenchel, T. (1996). Biodiversity at the Microbial Level: The Number of Free-living Ciliates in the Biosphere. *The Quarterly Review of Biology*. 71, No. 2: 221 – 237.
- Finlay, B.J. (1998). The global diversity of protozoa and other small species. *Int. J. Parasitol.* 28: 29 – 48.
- Foissner, W., Blatterer, H., Berger, H. & Kohmann, F. (1991). Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems – Band I: Cytrophorida, Oligotrichida, Hypotrichia, Colpodea. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 1/91: 478 Seiten.
- Foissner, W., Berger, H. & Kohmann, F. (1992). Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems – Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomida. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 5/92: 502 Seiten.
- Foissner, W., Berger, H. & Kohmann, F. (1994). Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems – Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 1/94: 548 Seiten.
- Foissner, W., Berger, H., Blatterer, H. & Kohmann, F. (1995). Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems – Band IV: Gymnostomata, *Loxodes*, Suctorina. Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 1/95: 540 Seiten.
- Jäger, P. (Hrsg., 2002). Kommunale Abwasserreinigung in Salzburg. Funktion und Reinigungsleistung der kommunalen Kläranlagen. Biologie der Belebtschlämme. Kosten. Land Salzburg, Reihe Gewässerschutz 6: 170 Seiten.
- Jäger, P. (Hrsg., 2007). Kommunale Abwasserreinigung in Salzburg II. Funktion und Reinigungsleistung der kommunalen Kläranlagen. Der Wirkungsgrad von Fettfängen. Land Salzburg, Reihe Gewässerschutz 12: 136 Seiten.
- Madoni, P. (1994). A sludge biotic index (SBI) for the evaluation of the biological performance of activated sludge based on the microfauna analysis. *Wat. Res.* 28: 67 - 75.
- Unterweger, A. (2017). Kommunale Abwasserreinigung in Salzburg III. Funktion und Reinigungsleistung der kommunalen Kläranlagen – Stand 2016. Land Salzburg, Reihe Gewässerschutz 24: 91 Seiten.

Korrespondenz an:

HR Dr. Andreas Unterweger

Land Salzburg, Abteilung Wasser, Referat Gewässerschutz
Michael-Pacher-Straße 36, 5020 Salzburg

Tel.: +43 662 8042 4585

Mail: andreas.unterweger@salzburg.gv.at

Anwendung des neuen DWA- Arbeitsblattes A 131 zur Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen

Karl-Heinz Rosenwinkel, Ralph Zwafink

Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik (ISAH), Welfengarten 1,
30167 Hannover

Abstract: The Standard DWA-A 131 has been published in June 2016 by the DWA Specialist Committees KA-5 (“Settling Processes”) and KA-6 (“Aerobical Biological Wastewater Treatment Processes”). The worksheet comprise furthermore a static dimensioning approach of single-stage activated sludge tanks. Nevertheless, compared to the previous edition from the year 2000, various innovations have been included, in particular consideration of chemical oxygen demand (COD) with a closed balance of oxygen demand and sludge production. In addition, results from operation of large-scale plants over the last 15 years have been incorporated. The more detailed consideration of a process factor PF takes into account the nitrogen variation in the influent and the $\text{NH}_4\text{-N}$ effluent requirement; both have strong influence on aerobic sludge retention time and the nitrification volume. The COD approach shows a significant impact on the denitrification capacity and denitrification volume. The dimensioning principles of the secondary clarifier are considering more recommendations on design of inlet arrangements.

Key Words: aerobic biological wastewater treatment, denitrification, dimensioning, activated sludge tank, DWA-A 131

1 Einleitung

Dieser Tagungsbeitrag basiert auf dem Konferenzvortrag „Die Bedeutung des neuen DWA-Arbeitsblattes A 131 für die zukünftige Bemessung von Kläranlagen“ zur 50. Essener Tagung und wurde durch weiterführende Betrachtungen ergänzt.

Das Arbeitsblatt 131 „Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen“ wurde im Juni 2016 herausgegeben. Gegenüber der Ausgabe aus dem Jahr 2000 wurden verschiedene Neuerungen aufgenommen, insbesondere eine Bemessung über den CSB-Umsatz, mit dem eine geschlossene Bilanzierung von Sauerstoffbedarf

und Schlammanfall möglich ist. Darüber hinaus sind Erkenntnisse aus Erfahrungen mit dem Betrieb großtechnischer Anlagen der letzten 15 Jahre eingeflossen.

Die Erarbeitung des Arbeitsblattes erfolgte in den Fachausschüssen KA-5 „Absetzverfahren“ und KA-6 „Aerobe biologische Abwasserreinigungsverfahren“. In diesem Beitrag wird im Wesentlichen der Bemessungsgang für den biologischen Teil (KA-6) und die Veränderungen gegenüber der 2000er Version vorgestellt. Die wesentliche Bearbeitung dieses Teils erfolgte durch Mitglieder und Gäste der Arbeitsgruppe A 131 des KA-6 der DWA, zur Vorbereitung wurden in Workshops Vorschläge für die Überarbeitung gesammelt und ausgewertet.

2 Ablauf der Bemessung

Die Grundlage der Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen bleibt weiterhin die Ermittlung und Festlegung der Zulaufbelastung. Allerdings soll diese nicht mehr behelfsweise über einwohnerspezifische Tagesfrachten abgeschätzt werden, sondern muss gemäß dem DWA-Arbeitsblatt 198 ermittelt werden, wobei dieses zeitnah überarbeitet und an das neue A 131 angepasst wird. Anstelle der einwohnerspezifischen Tagesfrachten in Abhängigkeit von der Durchflusszeit werden prozentuale Abscheideleistungen der Vorklärung als Funktion der Zeit angegeben.

2.1 Fraktionierung des CSB

Das A 131 (2016) beruht im Vergleich zum A 131 (2000) nicht mehr auf dem biologischen Sauerstoffbedarf (BSB_5) als Summenparameter der organischen Belastung, sondern dem chemischen Sauerstoffbedarf (CSB), insbesondere dem abbaubaren Anteil. Auch wenn zur Messung des CSB überwiegend Kaliumdichromat als Oxidationsmittel verwendet wird, ist der CSB als Grundlage zur Bemessung und Modellierung von Abwasserreinigungsanlagen bisher unentbehrlich, da er im Gegensatz zum BSB_5 und TOC eine geschlossene Bilanzierung des Sauerstoffbedarfs und der Schlammengen ermöglicht. Zudem wird der BSB_5 auch nicht mehr flächendeckend gemessen und über den CSB besteht eine direkte Schnittstelle zur dynamischen Simulation, bei der der BSB_5 ebenfalls nicht berücksichtigt wird. Zur Fraktionierung (siehe Abbildung 1) sind als Mindestmessgrößen der CSB aus der homogenisierten Probe (Summe partikulärer und gelöster Anteil) und der gelöste Anteil in der mit $0,45 \mu\text{m}$ filtrierten Probe erforderlich. Ersatzweise kann der partikuläre CSB auch über die abfiltrierbaren Stoffe und einem spezifischen CSB-Gehalt von $1,6 \text{ g CSB/g}$

oTS abgeschätzt werden, die anorganische Trockensubstanz wird separat für die Überschussschlammproduktion berücksichtigt. Alle weiteren Faktoren und Anteile zur Fraktionierung können anhand typischer Werte für kommunales Abwasser abgeschätzt - oder auch analytisch bestimmt - werden. Primäres Ziel der Fraktionierung ist es, den abbaubaren Anteil des CSB zu ermitteln, da dieser zur Berechnung des Sauerstoffverbrauchs und zur Schlammproduktion aus dem Kohlenstoffabbau benötigt wird, die inerten gelösten und partikulären Anteile des CSB werden entsprechend abgeschätzt. Des Weiteren ist zur optimierten Bemessung des Belebungsbeckens die Ermittlung des leicht abbaubaren CSB notwendig, welcher als Anteil des gesamten abbaubaren CSB ausgedrückt wird.

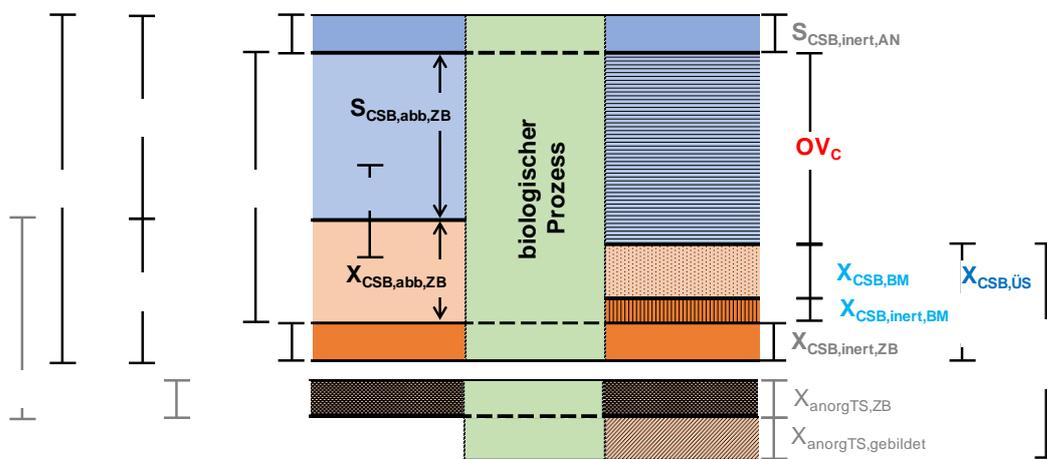


Abbildung 1: CSB-Fraktionierung und -Umsatz während des biologischen Abwasserreinigungsprozesses inkl. anorganischen Trockensubstanz (nach DWA-A 131, 2016)

2.2 Bemessungsschema

Der gesamte Ablauf der Bemessung ist im folgenden Ablaufschema des A 131 aufgezeigt. Die einzelnen Schritte dazu werden im weiteren Verlauf erläutert. Eine der wesentlichen Veränderungen gegenüber des A 131 (2000) ist die iterative Ermittlung des erforderlichen Denitrifikationsvolumenanteils. Im Gegensatz zur Ermittlung der Denitrifikationskapazität und der daraus direkt zu ermittelnden Volumenanteile kann jetzt die notwendige Nitratreduktion direkt mit der Sauerstoffzehrung im Denitrifikationsvolumen verglichen werden. Dieser Volumenanteil wird dabei solange verändert bis Angebot (NO_3) und Zehrung (OV_D) übereinstimmen. Dabei spielen die Qualität des CSB (Anteil leicht abbaubar), das Verfahren und damit die Nutzung des leicht abbaubaren CSB sowie das V_D/V_{BB} -Verhältnis eine zentrale Rolle.

2.3 Ermittlung des aeroben Schlammalters bzw. Auslegung der Nitrifikation und Schätzung des V_D/V_{BB} -Verhältnisses

Das aerobe Schlammalter ist weiterhin die wesentliche Grundlage der Bemessung nach dem A 131 (2016). Die Berechnungsformel ist nahezu gleichgeblieben, die Zuschlagsfaktoren wurden auf Grund der Erfahrungen mit großtechnischen Anlagen spezifiziert. Der im A 131 (2000) enthaltene Faktor 1,6, der gewährleisten soll, dass die Nitrifikanten nicht ausgeschwemmt werden, ist bestehen geblieben, wird aktuell als Sicherheitsfaktor bezeichnet. Der in dem A 131 (2000) als Sicherheitsfaktor (SF) bekannte Koeffizient zur quantitativen Berücksichtigung von Schwankungen der max. Wachstumsrate, kurzfristigen Temperaturschwankungen und pH-Verschiebungen wird in der neuen Version als

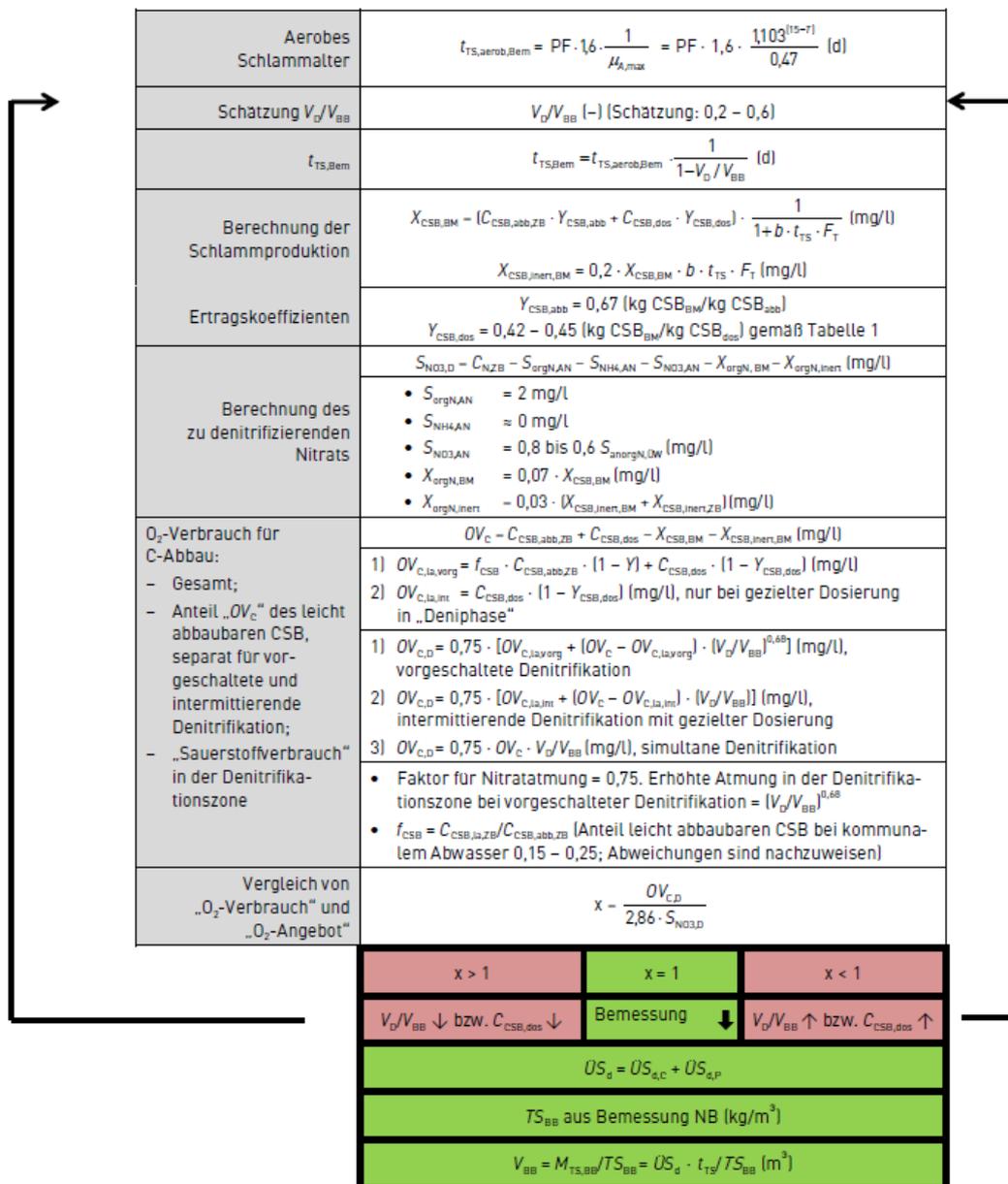


Abbildung 2: Bemessungsschema der Denitrifikation (DWA-A 131, 2016)

Prozessfaktor (PF) bezeichnet. Dieser Prozessfaktor wird in Abhängigkeit des $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswerts (5 bzw. 10 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$) im Ablauf sowie der Schwankung der KN-Zulaufkraft gewählt. Somit ist die Wahl des Prozessfaktors unabhängig von der Größenklasse der Kläranlage. Nur noch behelfsweise kann beim Fehlen des Stickstoff-Stoßfaktors, wie in der alten Version, die Höhe des Prozessfaktors in Abhängigkeit der Kläranlagengrößenklasse gewählt werden, wobei das Minimum von 1,45 auf 1,5 bei großen und das Maximum von 1,8 auf 2,1 bei kleinen Anlagen und geforderten Ablaufwerten von 10 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$ angehoben wurde. Bei der detaillierten Festlegung des Prozessfaktors in Abhängigkeit von f_N und $\text{NH}_4\text{-N}_e$ liegt die Bandbreite zwischen 1,5 und 2,8, was wesentliche Auswirkungen auf die Bemessung hat (siehe Abbildung 3).

f_N	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,4
$S_{\text{NH}_4, \text{ÜW}}$						
5 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$	1,5	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8
10 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$	1,5	1,5	1,5	1,6	1,9	2,1

Abbildung 3: Erforderlicher Prozessfaktor in Abhängigkeit des $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswertes und des Stoßfaktors f_N der KN-Zulaufkraft

In Abbildung 4 wurde das aerobe Schlammalter für unterschiedliche Stoßfaktoren der Stickstofffracht f_N und $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswerte beispielhaft für die Bemessungstemperatur von 12 °C berechnet. Bei einem Stoßfaktor von $f_N = 1,4$ ist das aerobe Schlammalter für die $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswerte von 5 und 10 mg/l identisch. Aufgrund der höheren Grenzwertanforderungen liegt das aerobe Schlammalter ansonsten für den restriktiveren $\text{NH}_4\text{-N}$ -Ablaufgrenzwert von 5 mg/l immer deutlich über den weniger eingeschränkten Grenzwert von 10 mg/l (bis zu 38 %), um so dem Stickstoffpeak besser begegnen zu können. Der bisherige Sicherheitsfaktor zu Berechnung des aeroben Schlammalters nach dem alten A 131 (2000) ist nur von der EW-Belastung abhängig, die Bandbreite des sich daraus ergebenden aeroben Schlammalters bei 12 °C Bemessungstemperatur liegt zwischen 6,9 und 9,6 Tagen. Im Vergleich dazu wird nach dem neuen A 131 (2016) ab einem Stoßfaktor f_N von 1,7 (für $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswert von 5 mg/l) bzw. 2,1 (für $\text{NH}_4\text{-N}$ -Überwachungswert von 10 mg/l) bei kleinen Anlagen und ab $f_N = 1,5$ (5 mg/l) bzw. 1,8 (10 mg/l) bei großen Anlagen eine Vergrößerung des aeroben Schlammalters im Vergleich zum A 131 (2000) erforderlich. Somit finden bei der Auslegung der Nitrifikation Schwankungen der Stickstofffracht im Zulauf eine direktere Berücksichtigung. Nach der Berechnung des aeroben Schlammalters wird der anoxische Anteil in einer ersten Iteration geschätzt und

daraus das gesamte Schlammalter ermittelt. Dies ist Voraussetzung für die Durchführung der weiteren Berechnungen.

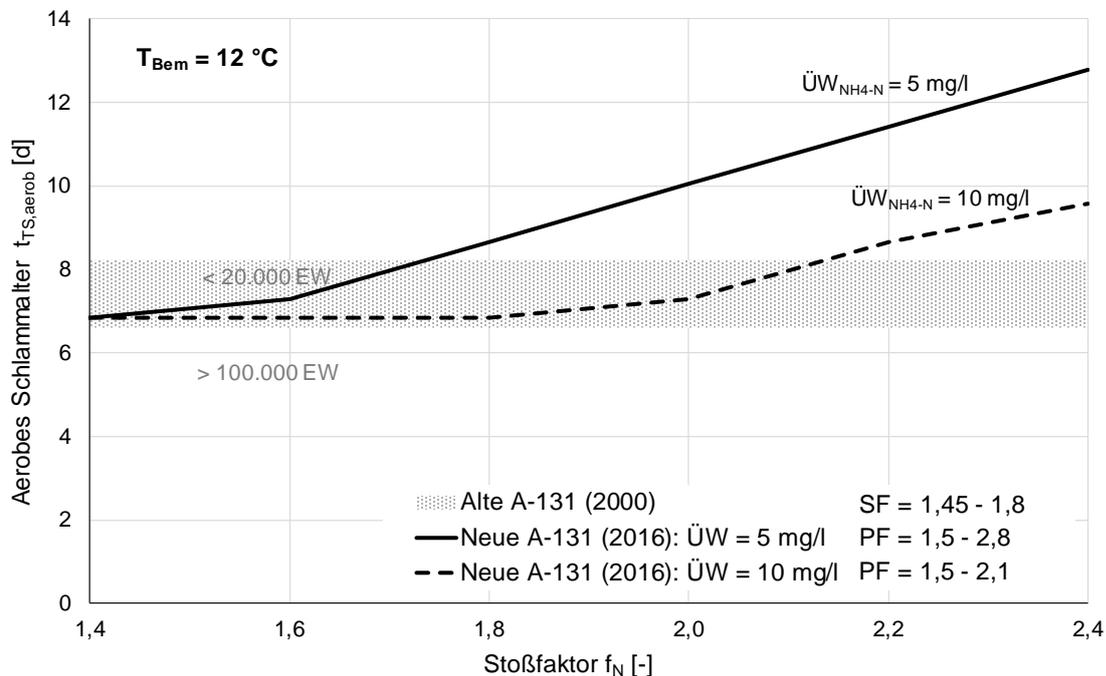


Abbildung 4: Aerobes Schlammalter bei unterschiedlicher ausgeprägter Schwankung der KN-Zulaufkraft (Stoßfaktor f_N) nach neuem (2016) und altem (2000) A 131 (bei $T_{Bem} = 12\text{ °C}$)

2.4 Berechnung der Schlammproduktion aus dem Kohlenstoffabbau und Berechnung des zu denitrifizierenden Nitrats

Prinzipiell erfolgt die Ermittlung der Schlammproduktion aus dem C-Abbau analog zum CSB-Ansatz der 2000er Version ($X_{CSB,\dot{U}S} = X_{CSB,inert,ZB} + X_{CSB,BM} + X_{CSB,inert,BM}$). Die Translation von CSB in Trockensubstanz erfolgt in einer detaillierten Berechnung, bei der den verschiedenen Arten von Feststoffen (Biomasse, inerte Biomasse, organische Feststoffe im Zulauf) unterschiedliche CSB-Werte zugeordnet werden. Dies führt dazu, dass die Überschussschlammfracht gegenüber dem A 131 (2000) etwas geringer ausfällt.

Nach der Ermittlung der produzierten Überschussschlammmenge kann die zu denitrifizierende Stickstofffracht berechnet werden, da der in die Biomasse inkorporierte (7 % $X_{CSB,BM}$) und an den inerten partikulären CSB gebundene Stickstoff (3 % $X_{CSB,inert,BM}$ und $X_{CSB,inert,ZB}$) kalkuliert werden kann. Die weiteren Stickstoffparameter ergeben sich analog zur A 131 (2000) mit $S_{orgN,AN} = 2\text{ mg/l}$, $S_{NH_4,AN} = \text{i.d.R. } 0\text{ mg/l}$, damit ergibt sich der zu denitrifizierende Stickstoff zu:

$$S_{NO_3,D} = C_{N,ZB} - S_{orgN,AN} - S_{NH_4,AN} - S_{NO_3,AN} - X_{orgN,BM} - X_{orgN,inert}$$

2.5 Berechnung des Sauerstoffbedarfs und Optimierung des V_D/V_{BB} -Verhältnisses

Durch Schließen der CSB-Bilanz kann der gesamte Sauerstoffbedarf für den Kohlenstoffabbau ermittelt werden ($OV_C = C_{CSB,abb,ZB} + C_{CSB,dos} - X_{CSB,BM} - X_{CSB,inert,BM}$; vgl. Abbildung 1). Für die vorgeschaltete Denitrifikation wird der Anteil des Sauerstoffbedarfs aus dem leicht abbaubaren separat und dem dosierten CSB vollständig für den Bedarf in der Denitrifikationszone berücksichtigt und der restliche Sauerstoffbedarf anschließend ermittelt ($OV_{C,la,vorg} = f_{CSB} \cdot C_{CSB,abb,ZB} \cdot (1 - Y) + C_{CSB,dos} \cdot (1 - Y_{CSB,dos})$). Dieser Effekt darf nur bei der Bemessung einer vorgeschalteten Denitrifikations-Anlage angewendet werden, da hierbei der gesamte Zulauf dauerhaft in die anoxische Zone geleitet wird und davon ausgegangen werden kann, dass der gesamte leicht abbaubare CSB für die Denitrifikation verbraucht wird. Bei einer intermittierenden Denitrifikation kann zumindest noch der extern dosierte CSB separat für die Denitrifikation berücksichtigt werden, wenn dieser in der nicht belüfteten Phase zugegeben wird.

In Abbildung 5 ist der Anteil des Sauerstoffverbrauchs in der Denitrifikation am gesamten Sauerstoffverbrauch der Kohlenstoffelimination ($OV_{C,D}/OV_C$ -Verhältnis) in Abhängigkeit des V_D/V_{BB} -Verhältnisses für das alte (2000) und neue A 131 (2016) dargestellt. Bei der intermittierenden und simultanen Verfahrensweise liegt der Anteil des Sauerstoffbedarfs für die Denitrifikation unabhängig vom anoxischen Volumenanteil bei dem alten A 131 (2000) etwas höher als beim Neuen. Da nach dem neuen Arbeitsblatt der Denitrifikationsvolumenanteil bei der Bemessung bis zu 60 % betragen kann, kann bei Abwässern mit einem ungünstigen CSB/KN-Verhältnis eine zusätzliche C-Dosierung unter Umständen vermieden werden. Betrachtet man die Kurvenverläufe für die vorgeschaltete Denitrifikation wird ersichtlich, dass ab einem anoxischen Volumenanteil von knapp 30 % das neue A 131 (2016) gegenüber der alten Vorschrift ein deutlich größeres $OV_{C,D}/OV_C$ -Verhältnis aufweist. Durch die Berücksichtigung des leicht abbaubaren CSB sind für vorgeschaltete Systeme im Vergleich zur A 131 (2000) somit geringere Beckenvolumen erforderlich.

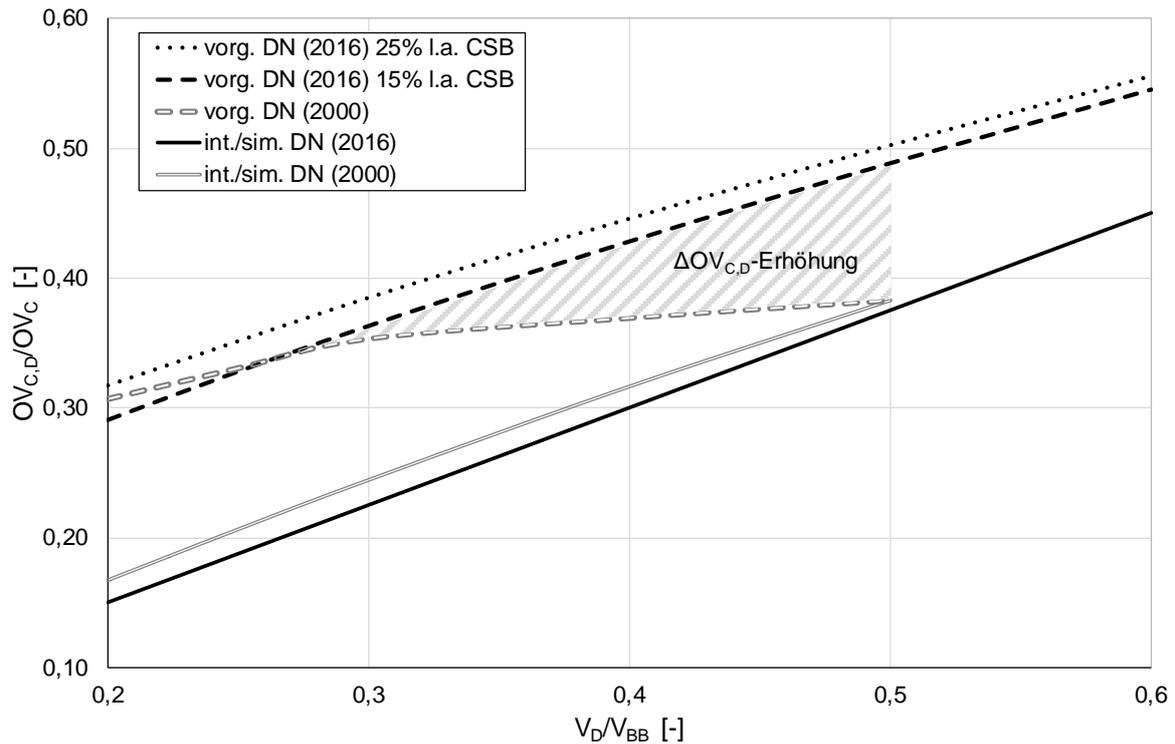


Abbildung 5: Anteil des Sauerstoffverbrauchs in der Denitrifikation am gesamten Sauerstoffverbrauch für die Kohlenstoffelimination in Abhängigkeit des anoxischen Volumenanteils ($CSB/KN = 9$)

Abbildung 6 zeigt den Einfluss des leicht abbaubaren CSB auf das Gesamtvolumen der Belebung einer vorgeschalteten Denitrifikation anhand eines theoretischen Beispiels. Als Berechnungsgrundlage wurde kommunales Abwasser mit einem CSB/KN Verhältnis von 9 und einer Zulaufbelastung von ca. 90.000 EW angenommen. Für das Belebungsbeckenvolumen wurde mit einem Feststoffgehalt von 2,7 g/l gerechnet. Da ein Stickstoff-Stoßfaktor f_N zwischen 1,4 und 1,8 sowie ein NH_4-N -Überwachungswert von 10 mg/l gewählt wurde, ergab sich für das neue (2016) und alte A 131 (2000) der gleiche Prozessfaktor von 1,5. Im Vergleich zur Berechnung nach dem alten A 131 (2000) hat sich das Gesamtvolumen für die vorgeschaltete Variante und einem leicht abbaubaren CSB-Anteil von 15 % um vier Prozent und für einen Anteil von 25 % um acht Prozent verringert. Bei der Berechnung einer intermittierenden oder simultanen Denitrifikation ergibt sich mit dem neuen A 131 (2016) gegenüber der Vorgängerversion ein um zwei Prozent höheres Volumen, bei beiden Versionen ist der maximale Denitrifikationsvolumenanteil noch nicht ausgeschöpft.

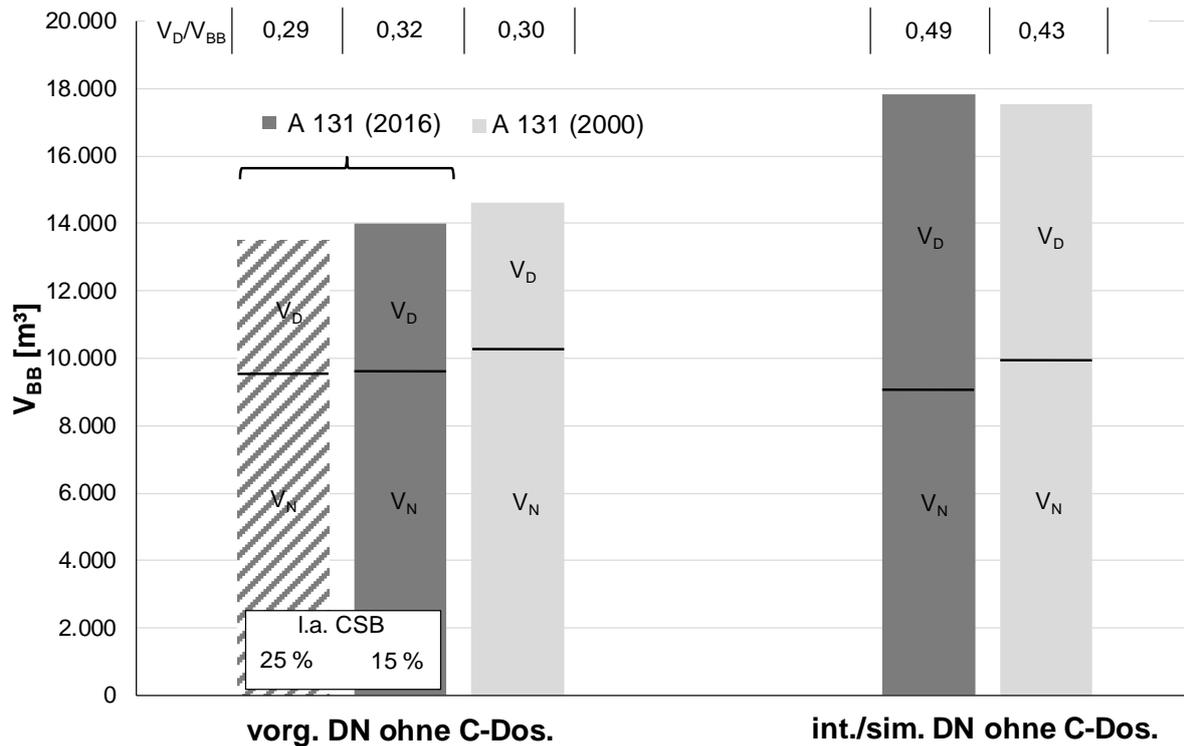


Abbildung 6: Einfluss des leicht abbaubaren CSB auf die Berechnung des Belebungsbeckenvolumens einer kommunalen Kläranlage [EW \approx 90.000 E; $T_{Bem} = 12$ °C; PF = 1,5; $\dot{U}W_{NH_4-N} = 10$ mg/l; $\dot{U}W_{anorgN} = 18$ mg/l; $S_{NO_3-N,AN} = 10,8$ mg/l; CSB/KN = 9 (nach Vorklämung)]

Der gesamte „Sauerstoffverbrauch“ in der Denitrifikationszone ($OV_{C,D}$) ergibt sich verfahrensabhängig aus einer empirischen Formel, bei der angenommen wird, dass die Denitrifikationsgeschwindigkeit sich proportional zur Sauerstoffatmung verhält, nach *Kayser (1983)* allerdings um 25 % geringer als diese ausfällt. Aufgrund der höheren Substratkonzentrationen in vorgeschalteten Denitrifikationsbecken und der damit einhergehenden erhöhten Atmung mit Nitrat, wird für die vorgeschaltete Denitrifikation ein zusätzlicher Exponent anteilig am Denitrifikationsvolumen von $(V_D/V_{BB})^{0,68}$ berücksichtigt. Voraussetzung für diese erhöhte Atmung ist, dass der Sauerstoffgehalt in allen Zuflüssen < 2 mg/l gehalten wird. Für eine vorgeschaltete Denitrifikation ergibt sich somit ein Sauerstoffverbrauch im Denitrifikationsbecken, der mit folgender Formel abgeschätzt werden kann:

$$OV_{C,D} = 0,75 \cdot [OV_{C,la,vorg} + (OV_C - OV_{C,la,vorg}) \cdot (V_D/V_{BB})^{0,68}]$$

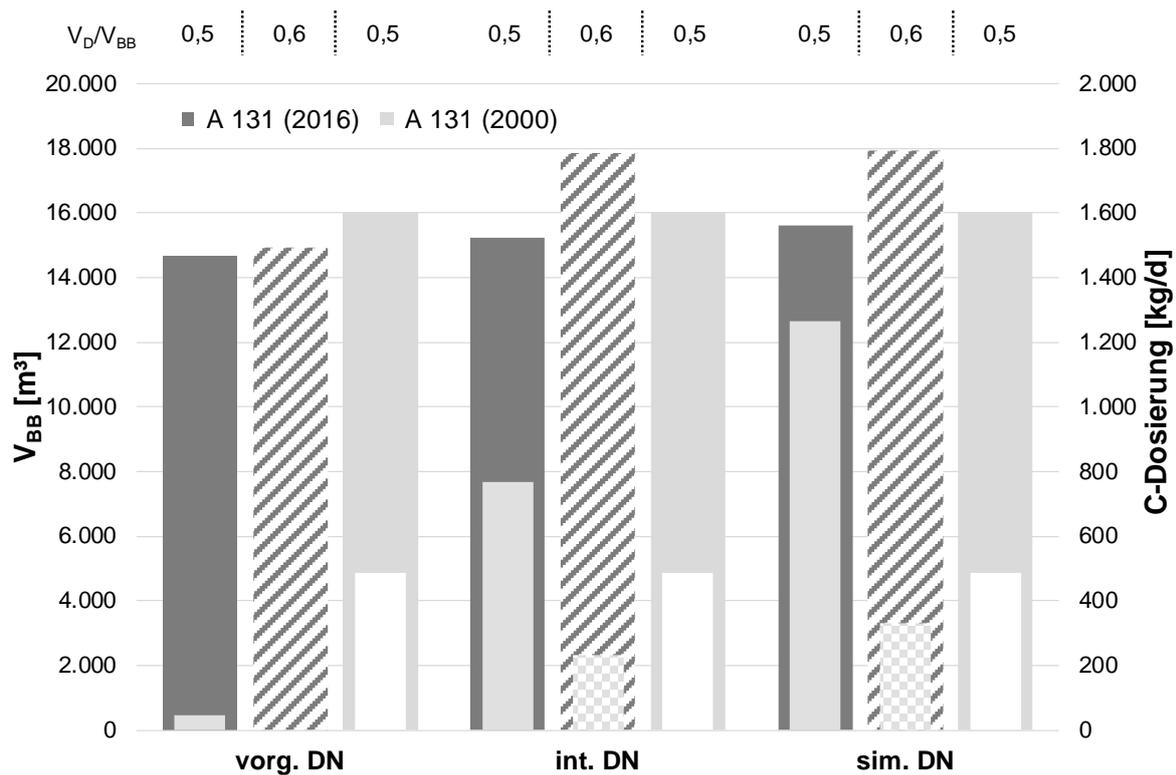


Abbildung 7: Einfluss eines ungünstigen CSB/KN-Verhältnisses auf die Berechnung des Belebungsbeckenvolumens einer kommunalen Kläranlage [EW \approx 90.000 E; $T_{Bem} = 12$ °C; PF = 1,5; $\dot{U}W_{NH_4-N} = 10$ mg/l; $\dot{U}W_{anorgN} = 18$ mg/l; $S_{NO_3-N,AN} = 10,8$ mg/l; CSB/KN = 7 (nach Vorklärung); $V_D/V_{BB} = 50\%$ / 60% + C-Dosierung]

In Abbildung 7 wurde das vorherige Beispiel mit einer längeren hydraulischen Aufenthaltszeit in der Vorklärung und einem ungünstigeren CSB/KN-Verhältnis von 7 nochmals berechnet. Ungünstige CSB/KN-Verhältnisse können bei sehr großen hydraulischen Aufenthaltszeiten in der Vorklärung auftreten. Durch dieses ungünstige Verhältnis ist das V_D/V_{BB} -Verhältnis bei der Berechnung nach dem alten A 131 (2000) mit 50 % maximal geworden, weshalb eine externe C-Dosierung zur Sicherstellung einer ausreichenden Denitrifikationskapazität notwendig wird. Um die Auswirkungen des leicht abbaubaren CSB in der Berechnung des Beckenvolumens zu erkennen und beide A 131 Versionen miteinander vergleichen zu können, wurde auch nach dem neuen A 131 (2016) das V_D/V_{BB} -Verhältnis zunächst auf 50 % gesetzt, in einem weiteren Rechengang des A 131 (2016) wurde der maximale Denitrifikationsvolumenanteil auf 60 % erhöht. Für 50 % Denitrifikationsanteil ergibt sich für die vorgeschaltete Denitrifikation bei einem ungünstigen CSB/KN-Verhältnis für das neue A 131 (2016) eine Volumeneinsparung von 8 %. Eine deutlich größere Einsparung wird bei der externen Kohlenstoffdosierung erreicht, deren Bedarf im Vergleich zum A 131 (2000) um 90 % geringer ausfällt. Für die intermittierende und simultane Denitrifikation ergeben sich nach dem neuen

A 131 (2016) Volumensenkungen von 5 bzw. 3 %. Die zusätzliche Kohlenstoffdosierung muss bei der intermittierenden Denitrifikation indes um 60 % und bei der simultanen Denitrifikation 160 % erhöht werden. Schöpft man das maximale Denitrifikationsvolumen nach dem A 131 (2016) mit 60 % Anteil aus, so ergeben sich bei der vorgeschalteten Denitrifikation 2 % mehr Volumen und keine C-Dosierung, bei der intermittierenden Denitrifikation, mit Zugabe der C-Quelle während der Denitrifikationszeit, ergibt sich ein 17 % höheres Volumen und 70 % geringere C-Dosierung. Bei der simultanen Denitrifikation ergibt sich ein 15 % höheres Volumen und eine um 74 % geringere C-Dosierung. Die Ergebnisse verdeutlichen den Auslegungsvorteil der vorgeschalteten Denitrifikation gegenüber den anderen Verfahrensweisen der Belebung, vor allem bei ungünstigen CSB/KN-Verhältnissen. Ergibt sich nach dem alten A 131 (2000) ab einem V_D/V_{BB} -Verhältnis von 50 % zwischen den verschiedenen Verfahrensvarianten kein Volumen- oder C-Bedarfsvorteil, kommt dieser nach der neuen A 131 (2016) deutlich hervor.

Eine optimale Bemessung des V_D/V_{BB} -Verhältnisses ist erreicht, wenn der Sauerstoffverbrauch in der Denitrifikationszone dem „Sauerstoffdargebot“ (Elektronenäquivalent) des Nitrats entspricht ($x = OV_{C,D}/(2,86 \cdot S_{NO_3,D}) = 1$). Wenn diese Gleichung nicht erfüllt ist, und das Verhältnis zwischen Sauerstoffverbrauch und Sauerstoff-Angebot > 1 ist, kann entweder das V_D/V_{BB} -Verhältnis verkleinert oder die C-Quellen-Dosierung abgemindert werden. Ist das Verhältnis < 1 , kann das V_D/V_{BB} -Verhältnis vergrößert oder die C-Quellen-Dosierung erhöht werden. Anschließend beginnt die Iterationsschleife mit der Berechnung des aeroben Schlammalters erneut (siehe Abbildung 2). Ist das optimale V_D/V_{BB} -Verhältnis ermittelt, muss noch die Schlammproduktion aus der chemischen und biologischen P-Elimination berechnet werden, um die gesamte Überschussschlammmenge zu ermitteln. Aus der Bemessung der Nachklärung und dem Rücklaufverhältnis wird wie bisher in dem A 131 (2000) der Trockensubstanzgehalt der Belebung ermittelt und das notwendige Belebungsvolumen berechnet ($V_{BB} = M_{TS, BB}/TS_{BB} = \ddot{U}S_d \cdot t_{TS}/TS_{BB}$).

2.6 Nachrechnung einer bestehenden Anlage

Mit dem neuen Aufbau des A 131 (2016) und den transparenteren Bemessungsansätzen können Überschussschlammproduktion und Sauerstoffbedarf von bestehenden Anlagen nachgerechnet und auch die NO_x -N Ablaufwerte abgeschätzt werden. Im Vergleich zum HSG-Ansatz fehlt dem A 131 (2016) die Berechnung der Nitrifikantenmasse und demnach auch der NH_4 -N Ablaufwerte. Unter der Annahme einer vollständigen Nitrifikation wird

in der aufzustellenden Stickstoffbilanz die $\text{NH}_4\text{-N}$ Ablaufkonzentration – wie bisher – mit Null festgelegt.

Wie bei der Bemessung muss der sich in der Denitrifikation ergebende Sauerstoffverbrauch dem Sauerstoffdargebot (Sauerstoffäquivalent des Nitrat-Stickstoffs) entsprechen (vgl. $x = \text{OV}_{\text{C,D}} / (2,86 \cdot \text{S}_{\text{NO}_3,\text{D}}) = 1$). Der variable Parameter der Nachrechnung ist daher der $\text{NO}_x\text{-N}$ Ablaufwert der Stickstoffbilanz, das $V_{\text{D}}/V_{\text{BB}}$ -Verhältnis im Rahmen des Iterationsprozesses angepasst.

3 NACHKLÄRUNG

Auf eine detaillierte Erläuterung der Bemessung der Nachklärung wird an dieser Stelle verzichtet. Die Auslegung der Nachklärung hat sich gegenüber dem A 131 (2000) in folgenden Punkten geändert:

- Der TS_{RS} kann für Schildräumer auf 0,7 bis 0,8 und für Saugräumer auf 0,5 bis 0,6 des TS_{BS} festgelegt werden und erhöht damit den TS_{RS} im Vergleich zum A 131 (2000)
- Rücklaufverhältnis, Flächenbeschickung und Beckentiefe werden grundsätzlich wie bisher ermittelt. Für den Übergangsbereich zwischen horizontal und vertikal durchströmten Becken werden in Abhängigkeit der vorwiegenden Durchströmung Zwischenwerte für q_{SV} , q_{A} und RV festgelegt. Die Teiltiefen h_2 (Übergangszone) und h_3 (Pufferzone) wurden als eine gemeinsame Zone (h_{23} Übergangs- und Pufferzone) zusammengefasst
- Besondere Bedeutung wird der Einlaufgestaltung zu Grunde gelegt. Grundsätzlich sind die Einläufe gegenüber dem A 131 (2000) tiefer angeordnet. Weiterhin soll die mit dem Einlauf eingetragene Energie ein Minimum erreichen, hierzu wurde die densimetrische Froudezahl F_{D} zur Berechnung der Höhe des Einlaufs eingeführt, da diese für die Leistungsfähigkeit und Durchströmung der Nachklärung von zentraler Bedeutung ist. Außerdem muss der Nachweis des G-Wertes zur Vermeidung einer zu hohen Scherbeanspruchung der Flocken geführt werden. Für nähere Informationen wird der Arbeitsbericht „*Einlaufbauwerke von Nachklärbecken*“ (2013) des DWA-Fachausschusses KA-5 empfohlen.

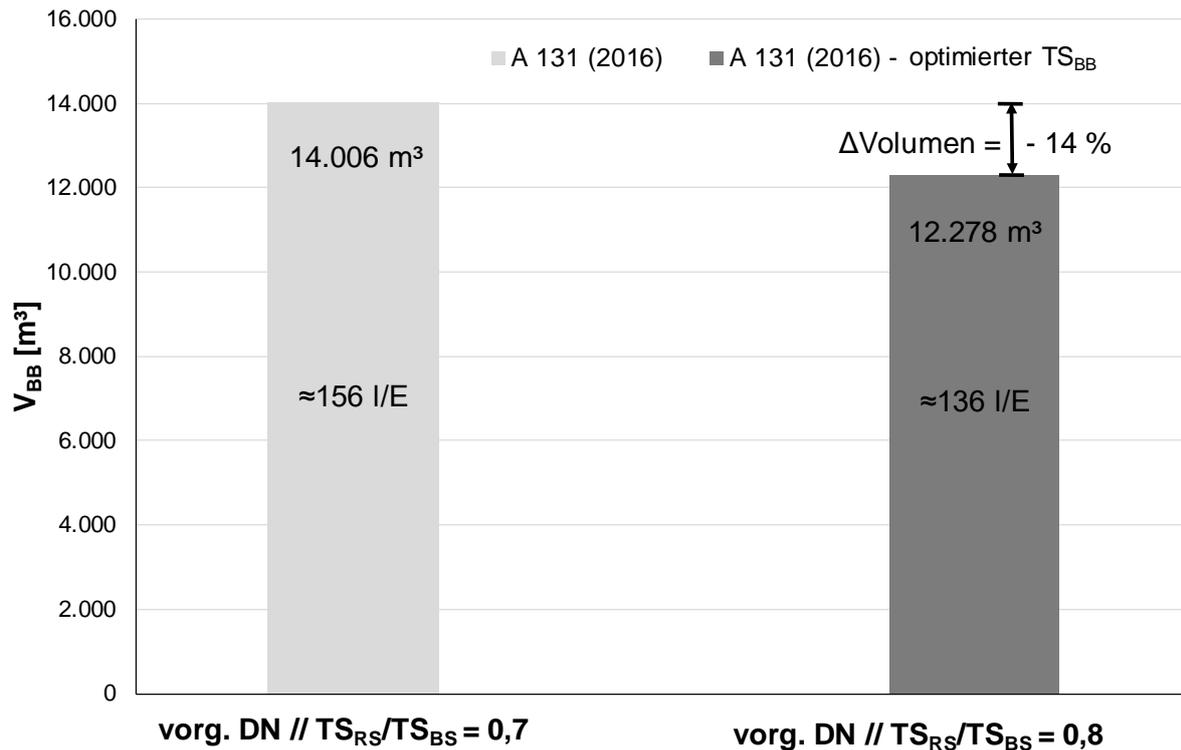


Abbildung 8: Einfluss des erhöhten TS_{RS}/TS_{BS} -Verhältnisses auf die Berechnung des Belebungsbeckenvolumens einer kommunalen Kläranlage [EW \approx 90.000 E; $T_{Bem} = 12$ °C; PF = 1,5; $\dot{U}W_{NH_4-N} = 10$ mg/l; $\dot{U}W_{anorgN} = 18$ mg/l; $S_{NO_3-N,AN} = 10,8$ mg/l; CSB/KN = 9 (nach Vorklärung)]

Würde man bei dem o.g. Beispiel mit einem TS_{BB} Gehalt von 2,70 g/l und einer Berechnung nach dem A 131 (2000) mit $TS_{RS} = \max. 0,7 TS_{BS}$ mit dem neuen Ansatz von $\max. 0,8 \cdot TS_{BS}$ rechnen, so würde sich der Feststoffgehalt in der Belebung von 2,70 g/l auf neu 3,08 g/l erhöhen. Damit würde sich bei der vorgeschalteten Denitrifikation das Volumen um weitere 14 % bzw. bei dem gewählten Beispiel ohne C-Dosierung und einem leicht abbaubaren CSB-Anteil von 15 % auf 12.278 m³ reduzieren (siehe Abbildung 8). Nach dem neuen A 131 wird eine Eindickzeit von 2,0 h empfohlen. In dem alten A 131 (2016) konnte eine Erhöhung des Feststoffgehaltes über die Erhöhung der Eindickzeit auf 2,5 h verwirklicht werden. Allerdings konnte dieses Vorgehen nur bei einer sehr weitgehenden Denitrifikation, geringem Schlammindex und kleinem Rücklaufverhältnis realisiert werden und hätte bei dem o.g. Beispiel eine Erhöhung von 2,70 g/l auf 2,91 g/l zur Folge, was einer effektiven Verringerung des Beckenvolumens um ca. 8 % entspräche.

4 Literatur

- ATV-DVWK-A 131 (2000) Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen. Arbeitsblatt
ATV-DVWK-A 198 (2003) Vereinheitlichung und Herleitung von Bemessungswerten für
Abwasseranlagen. Arbeitsblatt
DWA (2013) Einlaufbauwerke von Nachklärbecken. Arbeitsbericht des DWA-
Fachausschusses KA-5. In: KA – Korrespondenz Abwasser Abfall, 60 (4), S. 290-
298
DWA-A 131 (2016) Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen. Arbeitsblatt
Kayser, R. (1983) Ein Ansatz zur Bemessung einstufiger Belebungsanlagen für
Nitrifikation-Denitrifikation. In: gwf - Wasser/Abwasser, 124 (9), S. 419-427
Rosenwinkel, K.-H.; Zwafink, R. (2017) Die Bedeutung des neuen DWA-Arbeitsblattes
A 131 für die zukünftige Bemessung von Kläranlagen. 50. Essener Tagung für
Wasser- und Abfallwirtschaft. Gewässerschutz. Wasser. Abwasser, Band 245,
S.23/1-23/10

Korrespondenz an:

Prof. Dr.-Ing. Karl-Heinz Rosenwinkel, Dipl.-Ing. Ralph Zwafink

Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik (ISAH)

Welfengarten 1, 30161 Hannover

Tel.: 0511 – 762 2276

Mail: rosenwinkel@isah.uni-hannover.de, zwafink@isah.uni-hannover.de

Variantenvergleich zum ein- oder zweistufigen Ausbau von Kläranlagen

Karl Svardal, Thomas Baumgartner

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement, TU-Wien

Abstract: Anhand von Rechenbeispielen werden die Unterschiede zwischen ein- und zweistufige Anlagen dargestellt und erörtert. Die Berechnung erfolgt dabei für beide Anlagentypen streng nach CSB- und N-Bilanzen. Es wird gezeigt wie weit der Sauerstoffverbrauch durch 2-stufigen Ausbau verringert und die Gasproduktion im Zuge der anaeroben Schlammstabilisierung erhöht werden kann. Unter Vorgabe des Schlammalters für die jeweilige Stufe werden die notwendigen Beckenvolumen berechnet und verglichen. Es zeigt sich, dass sich beim Sauerstoffverbrauch und der Methanproduktion Vorteile für den 2-stufigen Ausbau ergeben. Die Einsparung an Beckenvolumen ist allerdings unbedeutend. Es wird noch auf Energiebedarf für die biologische Reinigung und die Bedeutung des Energieverbrauchs auf die Betriebskosten anhand realer Anlagendaten eingegangen.

Key Words: 1-stufige Belebungsanlage, zweistufige Belebungsanlage, CSB-Bilanz, Stickstoffentfernung, Energieverbrauch

1 Einleitung

Das Belebungsverfahren ist bereits mehr als 100 Jahre alt. Es hat sich weltweit bewährt und ist bei weitem das bedeutendste Verfahren der biologischen Abwasserreinigung.

Nach dieser langen Entwicklungszeit sollte man annehmen, dass klar ist wie die optimale Belebungsanlage für eine bestimmte Abwasserfracht ausschauen soll. Trotzdem findet man heute die unterschiedlichsten Verfahrenstechniken und Layouts. Natürlich hängt die Konfiguration von der Reinigungsanforderung, der Abwasserzusammensetzung und auch der Entwicklung technischer Möglichkeiten ab. Vielfach hängt das Aussehen einer Anlage aber vom „Geschmack“ und der Kreativität des Planers und des Bauherrn ab.

Vor vielen Jahren wurde die Idee geboren zwei Belebungsanlagen hintereinander zu schalten. Die Hauptmotivation war dabei Beckenvolumen zu sparen und damit auch Kosten. Diese Vorteile haben sich heute weitgehend relativiert. Aufgrund der oft notwendigen Erweiterung von Anlagen ist das Konzept der zweistufigen Belebungsanlage wieder vermehrt ins Blickfeld geraten.

In diesem Beitrag sollen die wesentlichen Vor- und Nachteile von ein- und zweistufige Anlagen erörtert werden.

2 Die Idee der 2-stufigen Belebungsanlage

Die Bemessung von Belebungsanlagen erfolgt heute allgemein nach dem Konzept des Schlammalters. Das Schlammalter ist jene Größe die für die Entwicklung der Biozönose im Belebtschlamm maßgebend verantwortlich ist. Je höher das Schlammalter desto größer ist die Artenvielfalt an Mikroorganismen.

Ein Großteil der im Abwasser vorhandenen organischen Verbindungen wird von einer sehr schnell wachsenden Bakterienpopulation abgebaut. Das heißt, dafür ist eigentlich nur ein sehr kurzes Schlammalter von wenigen Tagen notwendig. Erst die Forderung nach Nitrifikation machte ein höheres Schlammalter notwendig, weil die nitrifizierenden Bakterien eine vergleichsweise geringe Wachstumsrate aufweisen. Das für eine gesicherte Entfernung der reduzierten Stickstoffverbindungen notwendige Schlammalter lässt sich aus der Wachstumsrate der Nitrifikanten ableiten. Das unter Vorgabe des Schlammalters notwendige Beckenvolumen ergibt sich aus der Schlammproduktion (= Überschusschlammabzug). Die Schlammproduktion ist aber im Wesentlichen abhängig von der Fracht an organischen Abwasserinhaltsstoffe und an inerten partikulären Stoffen im Zulauf zur Biologie.

Genau hier setzt das zweistufige Verfahren an. Die Idee ist die Schlammproduktion hauptsächlich in die erste Stufe zu verlagern. Der Ablauf der ersten Stufe enthält nur mehr wenige schlammproduzierende Abwasserinhaltsstoffe, wodurch in der zweiten Stufe wenig Schlamm produziert wird und damit ein hohes Schlammalter schon bei kleinem Beckenvolumen erzielt werden kann. Somit ist das Belebungsbeckenvolumen der ersten Stufe klein, weil das Schlammalter sehr niedrig ist, das Volumen der zweiten Stufe ist klein, weil die Schlammproduktion gering ist. Natürlich benötigt die erste Stufe ein Sedimentationsbecken dessen Größe von der hydraulischen Belastung abhängt. Da hochbelasteter Schlamm in der Regel sehr gute Absetzeigenschaften aufweist und auch nicht die gleichen Qualitätsanforderungen hinsichtlich Schwebstoffen, wie beim Ablauf einer Kläranlage notwendig sind, können Zwischenklärbecken

höher belastet werden als Nachklärbecken. Trotz allem sollte sich mit zweistufigen Anlagen Beckenvolumen einsparen lassen. Diese Aussagen treffen uneingeschränkt zu, solange nur nitrifiziert werden muss. Für die Denitrifikation als heterotropher Prozess werden organische Verbindungen (CSB) als Substrat benötigt. Nitrat wird erst in der zweiten Stufe gebildet, dort ist allerdings nur mehr wenig CSB vorhanden. Durch verschiedene Tricks wird versucht CSB in die zweite Stufe zu bringen. Möglichkeiten dafür sind:

- Drosselung der Abbauleistung der ersten Stufe
- Vorbeileiten von Abwasser an der ersten Stufe (Bypass)
- Einbringen von hochbelastetem Schlamm der ersten Stufe in die zweite Stufe

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, Nitrat in die erste Stufe zu bringen und dort zu denitrifizieren. Dazu kann Ablauf der zweiten Stufe in die erste Stufe zurückgeführt werden, wodurch natürlich die hydraulische Belastung der gesamten Anlage erhöht wird. Zusätzlich bzw. alternativ kann das Ammonium der Prozesswässer aus der Schlammbehandlung nitrifiziert und danach in die 1.Stufe geleitet werden.

3 Bemessung

Für einstufige Belebungsanlagen existiert eine sehr umfassende Bemessungsvorschrift in Form des Arbeitsblatts DWA-A 131. In der letzten Überarbeitung wurden die Berechnungen konsequent auf CSB-Bilanzen aufgebaut (DWA-A 131, 2017).

Für zweistufige Belebungsanlagen gibt es keine vergleichbare einheitliche Bemessungsrichtlinie, zum Teil auch deshalb, weil einige Verfahren patentrechtlich geschützt waren. Allerdings kann das A-131 getrennt für die Berechnung der einzelnen Stufen herangezogen werden. Die Herausforderung besteht im Wesentlichen darin, die Zulaufkraft zur 2.Stufe sowohl bezüglich CSB als auch Stickstoff richtig abzuschätzen.

Grundsätzlich sind das Schlammalter und der belüftete Belebungsbeckenanteil der 2.Stufe für die Ablaufqualität hinsichtlich Ammonium und CSB verantwortlich. Für die Nitratkonzentration und damit die N-Entfernung ist im Wesentlichen die zur Verfügung stehende anoxische Atmung maßgebend. Der mit dem Klärschlamm entfernte Stickstoff, also der in organischen Verbindungen gebundene liegt bei anaerober Schlammstabilisierung bei ca. 0,015 g N/g CSB(Zulauf) oder 1,8 g/EW/d. Der restliche Stickstoff im Zulauf muss durch Nitrifikation/Denitrifikation in dem Maße entfernt werden, dass die gewünschte N-Entfernung (idR. >70%) erreicht wird.

Denitrifiziert kann sowohl in der ersten als auch in der zweiten Stufe werden. In der 1.Stufe steht eine wesentlich höhere volumsbezogene Kohlenstoffatmung zur Verfügung, Nitrat wird dort allerdings nicht gebildet. Es muss entweder durch eine Rückführung des Ablaufs dorthin gebracht werden oder die Prozesswässer der Schlammbehandlung werden nitrifiziert und in die 1.Stufe geleitet. Besonders bei 2-stufigen Anlagen hat die Trübwasserbehandlung hinsichtlich Energieeffizienz und Stickstoffentfernung große Bedeutung. Darauf wird von Baumgartner (2018) noch näher eingegangen.

Zur besseren Verständlichkeit soll hier ein Beispiel für die Berechnung des Sauerstoffverbrauchs, der Überschussschlammproduktion und der Beckenvolumen für ein- und zweistufige Anlagen auf Basis von Bilanzen dargestellt werden. Die Stabilisierung der anfallenden Schlämme erfolgt in allen Fällen anaerob in Faulbehältern. Die Rückführung der Prozesswässer (Trübwasser) aus der Schlammmentwässerung erfolgt gleichmäßig über 24h/d.

Es werden 3 Varianten verglichen:

- 2-stufige Belebungsanlage mit Bypass
- 2-stufige Belebungsanlage mit Bypass und Trübwassernitritation (60% des Ammoniums im TW werden biologisch zu Nitrit oxidiert)
- 1-stufige Belebungsanlage

Als Basis für die Abwasserzusammensetzung soll ein Einwohnerwert mit 8 gN/EW/d herangezogen werden, die Ausbaugröße beträgt 100.000 EW. Beide Anlagen haben eine Vorklärung mit identem Wirkungsgrad. Die Wesentlichen Auslegungsparameter und Vorgaben sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Abwassercharakteristik

Zulauf		
Belastung der ARA (EW120)	100.000	EW
spezifischer Abwasseranfall	175	L/EW/d
Temperatur (Bemessungstemperatur)	12	°C
CSB (Tagesfracht pro EW)	120	g/EW/d
N (Tagesfracht pro EW)	8	g/EW/d
P (Tagesfracht pro EW)	1,80	g/EW/d
CSB-Entfernung	95	%
N-Entfernung	75	%

Tabelle 2: Parameter der Vorklärung

Vorklärung		
η Vorklärung	30	%
N/CSB im PS	2,50	%
TS im PS	30	g/L
CSB/oTS PS	1,75	-

Anhand der zur biologischen Stufe gelangenden CSB- und N-Frachten lässt sich unter Vorgabe des Schlammalters die Überschussschlammproduktion und der Sauerstoffbedarf für den CSB-Abbau berechnen. Für die CSB-Bilanz der Belebungsstufen kann das DWA A-131 herangezogen werden oder vereinfacht das Diagramm in Abbildung 1. Für die CSB-Bilanz für die gesamte Anlage inklusive Schlammstabilisierung wurde vorgegeben, dass die CSB-Fracht im stabilisierten Schlamm ausschließlich von der Zulauffracht abhängt und nicht

vom Abwasserreinigungsverfahren. Es wurde eine Fracht von 30 gCSB/EW/d angenommen (Nowak 1995).

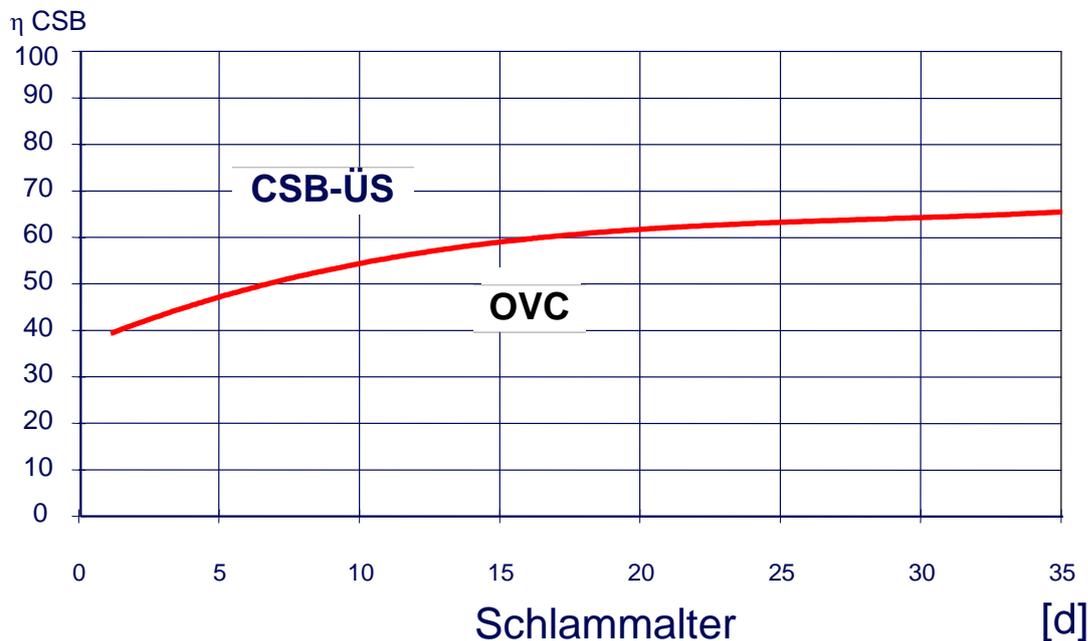


Abbildung 1: CSB-Bilanz in Abhängigkeit des Schlammalters ($CSB_{\text{ÜS}} + OVC = \eta\text{-CSB}$)

Die CSB-Bilanz ist mit der N-Bilanz über die Denitrifikation verknüpft. Aus der N-Bilanz ist zu ersehen wieviel Stickstoff denitrifiziert werden muss um die gewünschte N-Entfernung zu erreichen. Daraus ergibt sich die notwendige anoxische Atmung (OVD). In den Berechnungen wurde vorgegeben, dass maximal die Hälfte der Kohlenstoffatmung (OVC) der nitrifizierenden Stufe zur Denitrifikation genutzt werden kann. Damit ist die erforderliche CSB-Zulaufkraft für die nitrifizierende Stufe ermittelbar. Ist die CSB-Fracht im Ablauf der 1. Stufe geringer, muss sie durch Vorbeileiten von vorgeklärtem Abwasser oder auch in Form von Überschussschlamm der 1. Stufe zugegeben werden.

4 Berechnungsergebnisse

In Tabelle 3 sind die Berechnungsergebnisse aus der CSB-Bilanz dargestellt, Tabelle 4 zeigt die Berechnungsergebnisse der N-Bilanz.

Der Vergleich der Werte macht die Unterschiede der Anlagentypen sehr deutlich. Es gelingt beim biologischen Abbauprozess der org. Verbindungen bei 2-stufigen Varianten wesentlich mehr CSB in den Schlamm zu verlagern und anschließend in Methan umzuwandeln. Was aber auch deutlich hervorkommt ist, dass eine

Trübwasserbehandlung diese Bilanz doch deutlich zugunsten der Schlamm- und damit Methanproduktion verbessert. Begründet ist das dadurch, dass ein Teil des Stickstoffs (der, der in der Trübwasserbehandlung oxidiert wird) in der 1. Stufe entfernt werden kann und der CSB-Bedarf für die Denitrifikation in der 2. Stufe geringer ist. Es wird also ein größerer Teil des Abwassers, also mehr CSB bei kurzem Schlammalter und damit geringerem CSB-spezifischem Sauerstoffverbrauch entfernt. Bei einstufigen Anlagen hat eine Trübwasserbehandlung viel weniger Einfluss auf die CSB-Aufteilung, weil sie am Schlammalter wenig ändert.

Tabelle 3: CSB-Bilanz

	2-stufig		1-stufig	
	ohne TWB	mit TWB (Teilnitritation)		
CSB Zulauf VKB	12.000	12.000	12.000	kg/d
CSB im PS	3.600	3.600	3.600	kg/d
CSB Ablauf VKB	8.400	8.400	8.400	kg/d
CSB Bypass 2. Stufe	2.100	840	-	kg/d
CSB Zulauf 1. Stufe	6.300	7.560	-	kg/d
CSB ÜS 1. Stufe	2.793	3.410	-	kg/d
CSB Zulauf 2. Stufe	4.410	3.528	8.400	kg/d
CSB ÜS 2. Stufe	1.334	1.025	2.730	kg/d
CSB Ablauf ARA	600	600	600	kg/d
CSB Rohschlamm	7.727	8.035	6.330	kg/d
CSB FS	3.000	3.000	3.000	kg/d
CSB Faulgas	4.727	5.035	3.330	kg/d
OVC 1. Stufe	1.197	1.462	-	kg/d
OVC 2. Stufe	2.477	1.903	5.070	kg/d
OVD 1. Stufe	0	166	-	kg/d
OVD 2. Stufe	1.224	924	1.323	kg/d
OVD1/OVC1	0,0	11	-	%
OVD2/OVC2	49	49	26,1	%

Tabelle 4: N-Bilanz

	2-stufig		1-stufig	
	ohne TWB	mit TWB (Teilnitritation)		
N Zulauf VKB	800	800	800	kg/d
N im PS	90	90	90	kg/d
N Ablauf VKB	710	710	710	kg/d
N ÜS 1. Stufe	168	205	-	kg/d
N ÜS 2. Stufe	80	61	164	kg/d
N Rohschlamm	338	356	254	kg/d
N Zulauf Faulung	338	356	254	kg/d
N FS (entwässert)	172	180	137	kg/d
N im Trübwasser	165	176	117	kg/d
N Ablauf ARA	200	200	200	kg/d
N Zulauf 1. Stufe	698	815	649	kg/d
N DN 1. Stufe	0	97	-	kg/d
N Ablauf 1. Stufe	530	514	-	kg/d
N Zulauf 2. Stufe	708	585	827	kg/d
N DN 2. Stufe	428	323	463	kg/d
N Ablauf 2. Stufe	200	200	200	kg/d

In Tabelle 5 sind die energie-relevanten biologischen Größen, also Sauerstoffverbrauch und Methanproduktion nochmals zusammengefasst.

Tabelle 5: Sauerstoffverbrauch der Belebung und Methanproduktion

1. Stufe				
OVC1	1.197	1.462	0	kg/d
OVD1	0	166	0	kg/d
OV1 durch Belüftung abzudecken	1.197	1.296	0	kg/d
2. Stufe				
OVC2	2.477	1.903	5.070	kg/d
OVN2	2.719	2.265	2.870	kg/d
OVD2	1.224	924	1.323	kg/d
OV2 durch Belüftung abzudecken	3.972	3.244	6.617	kg/d
OVN TWB	0	315	0	kg/d
O2-Bedarf gesamt	5.168	4.855	6.616	kg/d
Methanproduktion	1.664	1.762	1.166	Nm³/d

Natürlich hängt der Energieverbrauch für die Belüftung von vielen weiteren Faktoren ab. Genannt seien hier nur der spezifische Sauerstofftrag (SAE [kg O₂/kWh]) des Belüftungssystems und zwar unter realem Betrieb und auch die Anpassbarkeit der Belüftung an den Bedarf genannt. Für den gesamten Energieverbrauch sind auch die ganzen anderen wichtigen Aggregate, wie Mischer und Pumpen zu berücksichtigen.

Die in Tabelle 5 berechneten Werte zeigen, dass 2-stufige Anlagen einen über 20% geringeren, durch die Belüftung abzudeckenden Sauerstoffverbrauch haben.

Um diesen Unterschied etwas anhand realer Werte zu verifizieren, wurden in Abbildung 2 die Jahreswerte für den Energieverbrauch von Prozess 2 („mechanisch-biologische Reinigung“ =Vorklärung und Belebung), die im Zuge des österreichischen Abwasserbenchmarking erhoben wurden (Lindtner, 2009) in Abhängigkeit der Ausbaugröße aufgetragen. Es wurden nur Anlagen über 50.000 EW berücksichtigt, insgesamt sind das 27 Anlagen 3 davon 2-stufig.

Aus dieser Abbildung kommt klar hervor, dass zwar die Anlage mit dem geringsten Energieverbrauch für den Prozess 2 eine 2-stufige Anlage ist, aber die Streuung aller Werte ist sehr groß. Es kann abgeleitet werden, dass der Energieverbrauch neben dem Sauerstoffverbrauch noch von vielen andern Größen beeinflusst wird.

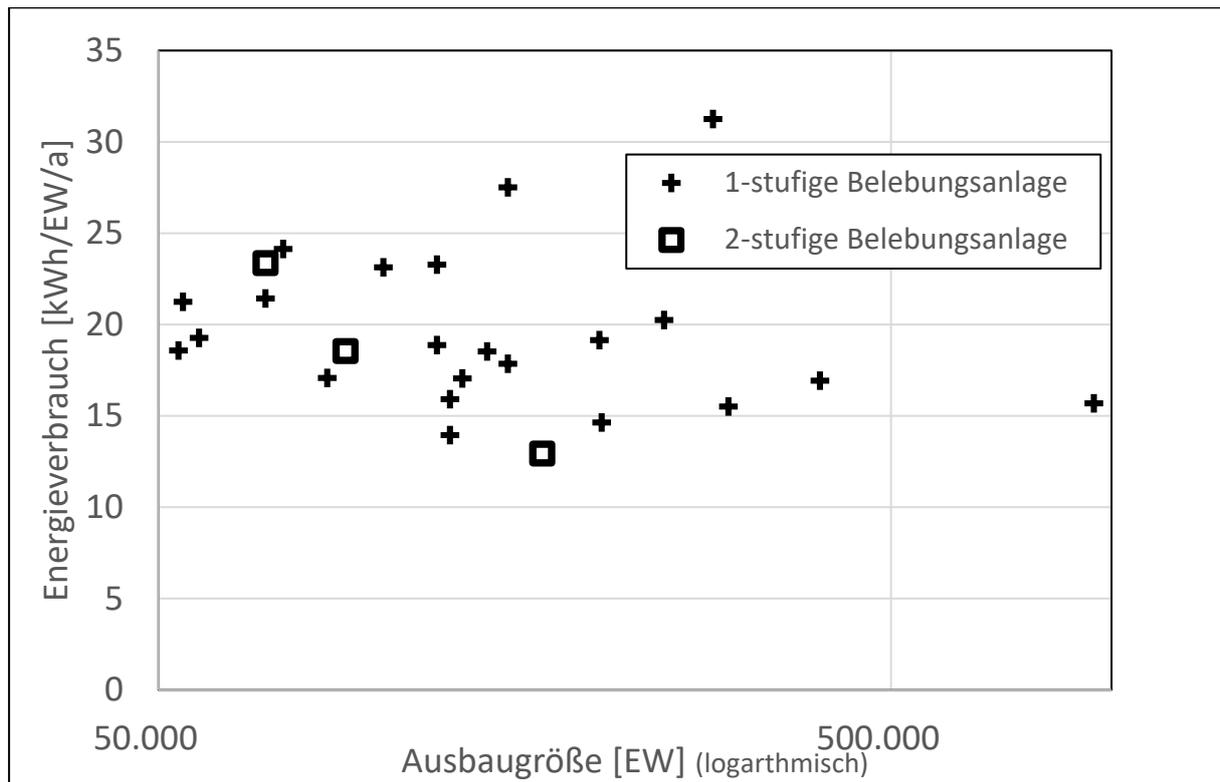


Abbildung 2: Energieverbrauch der mechanisch biologischen Stufe (VK und BB) reale Werte aus dem Abwasserbenchmarking

Aus der Schlammproduktion und dem vorgegebenen Schlammalter können die Belebungsbeckenvolumina berechnet werden. Die Absetzbecken wurden vereinfacht mit der Vorgabe einer maximalen Oberflächenbeschickung bzw. Schlammvolumenbeschickung berechnet. Die Tiefe wurde für Zwischenklärbecken mit 3,5 m und für Nachklärbecken mit 4,5 m festgelegt. Es wurde angenommen, dass die 1.Stufe hydraulisch maximal mit der maximalen Trockenwetter-Stundenspitze belastet wird, durch Mischwasser erhöhte Durchflüsse werden direkt in die 2.Sufe geleitet.

In Tabelle 6 sind die notwendigen Beckenvolumina für die berechneten Fälle dargestellt, Tabelle 7 zeigt die Werte bezogen auf einen EW. Es ist zu sehen, dass die Summe aller Einzelvolumina in allen Fällen nahezu gleich ist. Dies mag vielleicht etwas verwundern, weil oft behauptet wurde mit 2-stufigen Anlagen könne sehr viel Beckenvolumen gespart werden. Dies hängt vielfach damit zusammen, dass in den früheren Ausgaben der Bemessungsvorschrift für einstufige Belebungsanlagen (ATV-DVWK-A 131; 2000), die auf dem BSB₅ aufgebaut waren und nicht auf CSB, sehr viele Sicherheiten implizit in die Berechnungen eingebaut waren. 2-stufige Anlagen wurden nach den unterschiedlichsten Modellen berechnet, offensichtlich mit weniger Sicherheiten.

Tabelle 6: Beckenvolumen und Beckenoberflächen

Volumen der Vorklärung	1.094	1.094	1.094	m ³
Volumen BB 2. Stufe gesamt	6.564	5.450	9.862	m ³
Volumen BB 1. Stufe gesamt	1.209	1.476	0	m ³
Fläche ZKB	464	553	0	m ²
Volumen ZKB	1.623	1.934	0	m ³
Fläche NKB	1.214	1.214	1.214	m ²
Volumen NKB	5.465	5.465	5.465	m ³
Volumen TWB	0	139	0	m ³
Volumen Faulung	2.625	2.705	2.265	m ³

Tabelle 7: Beckenvolumen und Beckenoberflächen bezogen auf EW
 (alle Werte in L/EW)

Volumen der Vorklärung	11	11	11
Volumen BB 2. Stufe	66	54	99
Volumen BB 1. Stufe	12	15	0
Volumen ZKB	16	19	0
Volumen NKB	55	55	55
Volumen TWB	0	1,4	0
Volumen Faulung	26	27	23
Beckenvolumen gesamt	186	183	188

5 Resümee

Es soll hier betont werden, dass die aufgeführten Berechnungen bei weitem keine umfassende Bemessung darstellen, aber sie beruhen alle auf den gleichen allgemeinen Annahmen hinsichtlich der klärtechnischen und mikrobiologischen Grundlagen.

Es wurde im Rahmen des Beitrages bestätigt, dass 2-stufige Anlage einen geringeren Sauerstoffbedarf für die Abwasserreinigung haben als 1-stufige, vor

allem kann mehr Methan produziert werden und damit mehr Eigenstrom. Für den Gesamtenergieverbrauch für die biologische Reinigung müssten noch sonstige Aggregate wie Rührwerke und Pumpen berücksichtigt werden. Aber bei diesen Verbrauchern ist kein sehr großer Unterschied zu erwarten. Wenn man die Betriebskosten für die Abwasserreinigung betrachtet sind die Energiekosten ein relativ kleiner Anteil. Zur Dokumentation werden die Betriebskosten von Kläranlagen über 50.000 EW aus dem Abwasserbenchmarking (ÖWAV, 2017), aufgeteilt auf die einzelnen Kostenarten prozentuell dargestellt (Abbildung 3)

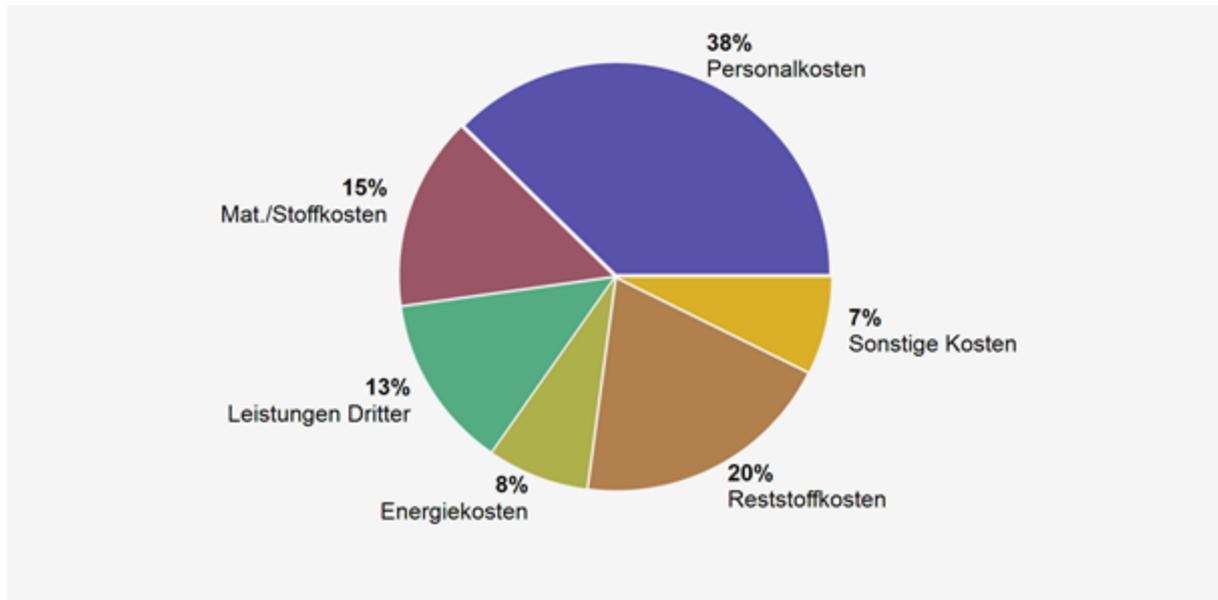


Abbildung 3: Prozentuelle Betriebskosten von Kläranlagen über 50.000 EW

Die Energiekosten machen danach bei den großen Anlagen weniger als 10% der gesamten Betriebskosten aus. Interessant ist, dass bei der detaillierteren Betrachtung der einzelnen Anlagen immer wieder zu sehen ist, dass Anlagen mit geringen Energiekosten auch bei allen anderen Kosten sehr günstig liegen.

Hinsichtlich Beckenvolumen sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Verfahren gegeben, die Einsparung an Belebungsbeckenvolumen bei zwei-stufigen Anlagen wird durch die Notwendigkeit einer Zwischenklärung nahezu wettgemacht.

Für die Planung einer Anlage, sei es nun als völlig neue Anlage oder auch Erweiterung stellt die Bemessung anhand einiger konstruierter Lastfälle nur die Basis dar. Der wesentliche Punkt ist die einfache „Anpassbarkeit“ der Anlage an die realen Belastungsverhältnisse. Es wird immer wieder betont, flexible Anlagen zu bauen, allerdings muss diese Flexibilität auch richtig genutzt werden.

Bei einstufigen Anlagen sind die Belüftung und der Überschussschlammabzug die wesentlichen variablen Größen, bei 2-stufigen Anlagen kommen noch einige

hinzu wie etwa die Volumenströme an Bypass und Rückpass (Ablauf-rückführung). Bei zweistufigen Anlagen sind mehr Freiheiten gegeben, damit sind aber auch mehr Entscheidungen zu treffen.

Wir haben seit vielen Jahren ein sehr bewährtes Werkzeug in Form der dynamischen Simulation zur Verfügung, mit dem die Auswirkungen von Belastungsschwankungen in ihrer zeitlichen Aufeinanderfolge sehr gut untersucht werden können. Die dynamische Simulation ist genauso wie für einstufige auch für zweistufige Anlagen anwendbar. Die Anwendung erfordert aber einiges an Prozessverständnis, weil verschiedene Parameter an die konkreten Verhältnisse (empirisch) angepasst werden müssen. Letztlich ist das aber auch bei einer statischen Bemessung der Fall.

Abschließend sollen noch die wesentlichen Vor- und Nachteile zusammengefasst werden:

Zweistufige Anlagen:

Vorteile

- geringerer Sauerstoffbedarf für den CSB Abbau, hinsichtlich Sauerstoffbedarf für die Nitrifikation ergibt sich kein wesentlicher Unterschied
- höherer Methanertrag durch die geringe „Biomasseveratmung“ in der 1.Stufe
- hohe Anpassungsmöglichkeit an schwankende CSB-Belastung (z.B. durch Industrieeinleiter) durch Variation des Bypass

Nachteile

- N-Entfernung begrenzt (CSB-Fracht in die 2.Stufe begrenzt)
- Biologische Trübwasserbehandlung (oder Strippung) dringend angeraten
- Betrieb anspruchsvoller

Einstufige Anlagen

Vorteile

- einfacher Betrieb
- hohe Anpassungsmöglichkeit an schwankende N-Belastung sofern das VD/V-Verhältnis variabel ist. Es steht in der nitrifizierenden Stufe mehr CSB zur Verfügung
- generell höhere N-Entfernung möglich

Nachteile

- höherer Sauerstoffbedarf für den CSB Abbau
- geringerer Methanertrag

6 Literatur

- ATV-DVWK-A 131 (2000), Arbeitsblatt DWA-A 131, Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen, ATV, Hennef
- Baumgartner T. (2018), Vergleich von Verfahren der Trübwasserbehandlung, in diesem Band
- DWA-A 131 (2017) Arbeitsblatt DWA-A 131, Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen, DWA, Hennef
- Lindtner S. (2009), Benchmarking: Grundlagen / Praxiserfahrungen
<http://www.abwasserbenchmarking.at/home/berichte>
- ÖWAV (2017), Benchmarking für Kläranlagen, Öffentlicher Bericht 2016,
<https://www.abwasserbenchmarking.at/home/berichte/index.php>
- Rosenwinkel K.H. (2018), Vorstellung des neuen DWA-A 131, in diesem Band
- Nowak O. (1995), Klärschlamm: Anfall und Zusammensetzung. Wiener Mitteilungen 126, 130-176

Korrespondenz an:

Ass.Prof. Dr.techn. Karl Svardal

Dipl.-Ing. Thomas Baumgartner

Technische Universität Wien

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Karlsplatz 13/226

1040 Wien

Tel.: 43 1 58801-22624

Mail: svardal@iwag.tuwien.ac.at

Erfahrungsbericht zur Erweiterung der Kläranlage Dresden

Thomas Schalk, Matthias Barth, Volker Kühn

Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft
Stadtentwässerung Dresden GmbH

Abstract: Der Ausbau der Kläranlage Dresden-Kaditz zur vollbiologischen Anlage wurde in den 1980er Jahren begonnen und zunächst im Jahr 2005 vollendet. Die Ursachen für diesen langen Zeitraum liegen in den im Zuge der politischen Wende 1989/1990 geänderten Rahmenbedingungen (Strukturwandel), die eine grundlegende Überarbeitung der Belastungsannahmen und der Ausbaukonzeption nach sich zogen. Gegenüber dem ursprünglichen Konzept sanken die Bemessungsfracht und der Bemessungszufluss um ca. 50 %. Die Realisierung des geänderten Ausbaukonzeptes führte damit zu erheblichen Einsparungen. Durch gezielten Einsatz von Methoden der dynamischen Simulation wurde bereits im Planungsstadium eine Optimierung der Anlagenkonfiguration und des Beckenvolumens vorgenommen. Der Ausbau der Behandlungsanlage ist nicht abgeschlossen, da rechtliche Vorgaben und wirtschaftliche Erfordernisse eine fortwährende Anpassung der Technologie, sowohl im Bereich der Abwasser- als auch der Schlammbehandlung, verlangen. Dabei stellt der Ausbau im Bestand aufgrund der damit verbundenen technologischen Zwänge und des vorhandenen Platzangebots besondere Anforderungen an Planung, Bau und Ausrüstung.

Key Words: Belebtschlammverfahren, Festbett, Schlammbehandlung, Ausbau

1 Einleitung

Die zentrale Kläranlage von Dresden befindet sich im Stadtteil Kaditz und wurde 1910 erstmalig in Betrieb genommen. Die Einbeziehung der 1910 angelegten Grundsubstanz beeinflusst die Verfahrensführung durch die damit verbundenen technologischen Zwänge bis heute.

Die grundlegende Struktur im Zulaufbereich der Kläranlage ergibt sich aus der Zuführung des Abwassers über zwei beidseitig der Elbe verlegte zentrale Abfangkanäle, die das Abwasser aus den zur Elbe führenden Kanälen fassen (Altstädter und Neustädter Sammler). Der Altstädter Sammler quert die Elbe

etwa 1 km vor der Kläranlage über eine Dükerleitung und wird mit dem Neustädter Sammler auf dem Gelände der Kläranlage zusammengeführt

Die Kläranlage ist im Laufe der Jahre mehrfach erweitert und umgebaut worden. Grundlegende technologische Änderungen fanden in mehreren Umbauphasen statt:

- 1952 – 1955: Umbau der mechanischen Abwasserbehandlung, Erweiterung der Schlammbehandlungsanlage,
- 1986 – 1996: Neubau einer biologischen Behandlungsstufe mit Kohlenstoffelimination und P-Elimination; Neubau der Schlammbehandlungsanlage,
- 2002 – 2005: Aus- und Neubau der biologischen Behandlungsstufe mit weitergehender Stickstoffelimination,
- 2008 – 2012: Ausbau der Schlammbehandlungsanlage,
- 2013 – 2018: Erweiterung der biologischen Behandlungsstufe.

2 Ausbau als mechanisch wirksame Kläranlage

2.1 Ausbauzustand 1910 – Mechanische Abwasserbehandlung

In der ursprünglichen Anordnung fand die Vorreinigung in einer zweistraßig ausgebauten dreistufigen, manuell geräumten Grobrechenanlage statt (Stababstand 65 – 100 mm), die auf eine hydraulische Belastung von 18,7 m³/s ausgelegt war [TBA DD, 1925]. Höhere Abwassermengen wurden hinter der Rechenanlage über ein Wehr in einen zur Elbe führenden Regenwasserkanal abgeschlagen.

Zur Hauptreinigung wurde eine vierstraßige Siebscheibenanlage (Scheibendurchmesser: 8 m, Schlitzweite: 2 x 30 mm) der Baurat Riensch-Wurl eingesetzt [TBA DD, 1925]. Eine biologische Behandlung, für die zur damaligen Zeit die Abwasserverrieselung infrage kam, wurde erwogen, aber nicht ausgeführt, da u. a. die Kosten dafür als zu hoch eingeschätzt wurden, die Elbe zur Aufnahme der anfallenden Schmutzfracht als geeignet erschien und kein erheblicher Einfluss durch Industrieabwässer bestand [Salomon, 1907]. Die zentralen Anforderungen an die Abwasserbehandlung bestanden u. a. in der Absiebung aller Feststoffe > 3 mm und in der Schaffung einer Möglichkeit zur bedarfsgerechten Abwasserdesinfektion [Salomon, 1907].

Die Kläranlage war auf einen Durchfluss von 18 m³/s (1,5 Mio. m³/d) ausgelegt [Salomon, 1911]. Durch die Siebung wurden i. M. 30 % der absetzbaren Stoffe eliminiert [Scheitzow, 1922], die anschließend einer landwirtschaftlichen Verwertung zugeführt wurden [Böhm et al., 2007]. 1936 wurde die Anlage um

einen geschlossenen, beheizten Faulbehälter zur anaeroben Stabilisierung der Siebrückstände ergänzt (2.500 m³). Der Faulschlamm wurde in Trockenbeeten entwässert [Böhm et al., 2007].

Aufgrund der Höhenlage der Zuflusskanäle und der mechanischen Behandlungsanlage war ein freier Ablauf des gereinigten Abwassers in die Elbe nicht in allen Fällen gewährleistet. Daher wurde ein aus elf Pumpen bestehendes Pumpwerk errichtet, mit dem bei entsprechenden Pegelständen das behandelte Abwasser ('Trockenwetterpumpwerk') bzw. das abgeschlagene Mischwasser ('Regenwasserpumpwerk') mit einer maximalen Förderleistung von insgesamt 22 m³/s in die Elbe gefördert wurde [TBA DD, 1925; Scheitzow, 1922]. Zusätzlich war im Altstädter Sammler vor der Dükerleitung und im Neustädter Sammler unmittelbar vor der Kläranlage jeweils ein Sandfang installiert [Scheitzow, 1922].

2.2 Umbaumaßnahmen 1952 – 1955

Im Jahr 1951 wurden die Planungsunterlagen zum Um- und Ausbau der Kläranlage für eine landwirtschaftliche Verwertung der Abwässer konkretisiert. Aufgrund von finanziellen Problemen und infolge von Materialmangel konnte nur die dafür notwendige Vorbehandlungsanlage errichtet werden. Die Grobrechenanlage wurde durch Vergrößerung des Stababstandes geringfügig modifiziert und um eine Feinrechenanlage (Stababstand: 35 mm) erweitert. Nach Stilllegung des im Neustädter Sammler betriebenen Sandfangs wurde auf der Kläranlage im Anschluss an die Feinrechen- bzw. Siebscheibenanlage im Zulauf des Pumpwerks ein zweikammriger unbelüfteter Sandfang errichtet. Die Räumung des Sandes erfolgte per Greifer über einen Portalkran. Die Siebscheiben wurden verschleißbedingt ab 1952 schrittweise stillgelegt und durch fünf Rechteckbecken ersetzt (5 x 1.440 m³, HRT = 1 h), der anfallende Primärschlamm ausgefault. Dazu wurde zum bestehenden, ein baugleicher Faulbehälter errichtet, so dass zur mesophilen Faulung ein Gesamtvolumen von 5.200 m³ bei einer hydraulischen Verweilzeit von rd. 10 d zur Verfügung stand, sowie zwei offene Nachfaulbecken mit insgesamt 31.000 m³ Volumen. Die Entwässerung fand weiterhin in der auf 25.000 m² erweiterten Trockenbeetanlage statt. Infolge der geänderten Technologie wurde der bis dahin pegelabhängige Betrieb des Trockenwetterpumpwerks auf Dauerbetrieb umgestellt [Böhm et al., 2007].

3 Errichtung einer biologischen Behandlungsstufe

3.1 Ausbaukonzeption 1984 – Biologische Abwasserbehandlung mit Nitrifikation

Durch die in den 1950er Jahren ergriffenen Umbaumaßnahmen verbesserte sich zwar die Reinigungsleistung der Kläranlage durch die Elimination der absetzbaren Stoffe, eine biologische Behandlung fand aber nicht statt. Darüber hinaus war die Anlage bereits wenige Jahre nach dem Umbau überlastet [*KdT VEB(K) WW, 1963*], so dass auch infolge der Zunahme industrieller Einleitungen die Belastung der Elbe stieg. Der Auslegungswert von 110.000 m³/d wurde Anfang der 1960er Jahre mit 160.000 m³/d deutlich überschritten [*KdT VEB(K) WW, 1963*].

Die Verweilzeit in den Absetzbecken lag im Trockenwetterfall bei 40 min, gegenüber einem Auslegungswert von 90 min [*KdT VEB(K) WW, 1963*]. Infolgedessen wurden lediglich 20 – 25 % des zugeführten BSB₅ eliminiert [*Günther und Kermer, 1995*]. Für das Jahr 1990 wurde mit einem Abwasseranfall von 210.000 m³/d gerechnet, die in der vorhandenen Anlage nicht behandelt werden konnten [*KdT VEB(K) WW, 1963*]. Daher wurden Überlegungen zur Erweiterung der mechanischen Stufe und zum Bau einer Belebungsanlage getroffen [*KdT VEB(K) WW, 1963*], allerdings vergingen 20 Jahre bis zum Beginn der Planung.

1983 beschloss der Ministerrat der DDR den Ausbau der Kläranlage [*TBA DD, 1989*]. Die Planung sah eine Modernisierung der Rechenanlage vor (4 Grobrechen mit Spaltweite 110 mm, 4 Feinrechen mit Spaltweite 20 mm), die im Wesentlichen unveränderte Übernahme des Sandfangs, den Neubau der Vorklärung (5 Doppelbecken, HRT = 0,5 h), die Sanierung des zentralen Pumpwerks, den Bau einer zweistufigen biologischen Behandlungsanlage nach einem modifizierten A-B-Verfahren (20 Becken) sowie eine Schlammstabilisierung durch Oberflächenfiltration und Entwässerung in Trommelzellenfiltern mit anschließender landwirtschaftlicher Verwertung [*VEB PROWA Halle, 1984*], wobei später der hohe Schwermetallgehalt des Klärschlammes als kritisch dafür angesehen wurde [*TBA DD, 1989*]. Die Ausbaumaßnahmen wurden ab 1986 stufenweise, mit leichten Planänderungen umgesetzt. [*VEB PROWA Halle, 1984*], wobei es allerdings zu Verzögerungen während der Baumaßnahmen kam [*TBA DD, 1989*]. Die Auslegung erfolgte zunächst auf einen Trockenwetterzufluss von 215.000 m³/d und eine BSB₅-Fracht von rd. 95 t/d [*Lützner, 1991; Günther und Kermer, 1995*]. Für den Endausbau wurde mit einer Erhöhung der Belastung auf 300.000 m³/d gerechnet [*VEB PROWA Halle, 1984*]. Aufgrund der hohen Belastung der Abwässer aus dem *Arzneimittelwerk Dresden* (AWD) wurde eine separate Vor-

behandlung diskutiert. Im Vorfeld wurden dazu durch das *Forschungszentrum Wassertechnik* labor- und halbtechnische Untersuchungen durchgeführt.

3.2 Außerbetriebnahme der Kläranlage 1987 – Diskussion des Ausbaukonzeptes

Im Januar 1987 wurde das Hauptpumpwerk infolge eines mehrstündigen Stromausfalls durch den hochwasserbedingten Rückstau aus der Elbe überflutet, so dass die Kläranlage außer Betrieb genommen werden musste und das Abwasser unbehandelt in die Elbe floss. Fünf Jahre lang fand keine Abwasserbehandlung statt.

3.3 Wiederinbetriebnahme der Kläranlage und Fertigstellung der 1. Ausbaustufe 1991 – 1995

Nach Abschluss der Sanierung der mechanischen Reinigungsstufe und nach Fertigstellung von 20 % der biologischen Hochlaststufe nahm die Kläranlage im Jahr 1991 den Betrieb wieder auf [Günther und Kermer, 1994]. Bis 1993 wurde die volle Kapazität der Hochlaststufe hergestellt [Böhm et al., 2007].

Im Rahmen der Baumaßnahmen wurden vier Grobrechen (Spaltweite 65 mm) und drei Feinrechen (Stababstand 15 mm) installiert und das Zulaufpumpwerk saniert. Das Schmutzwasserpumpwerk wurde auf eine Kapazität von rd. 296.000 m³/d ausgebaut und die seit Erst-Inbetriebnahme der Kläranlage vorhandenen Regenwasserpumpen überholt (max. 1,56 Mio. m³/d). Der vorhandene Sandfang wurde weiterbetrieben. Neu in Betrieb genommen wurden die Ende der 1980er Jahre errichteten drei Doppelbecken der Vorklärung ($V_{\text{ges.}} = 5745 \text{ m}^3$).

Die Hochlaststufe setzte sich aus 20 Becken mit einem Gesamtvolumen von 10.760 m³ zusammen (Abbildung 1). Die in der 1. Ausbaustufe als Nachklärbecken genutzten Zwischenklärbecken bestanden aus 20 längsdurchströmten Rechteckbecken mit einem Gesamtvolumen von 30.800 m³ und einer Gesamtoberfläche von rd. 8.200 m². Eine Nitrifikation war in der realisierten Ausbaustufe nicht vorgesehen und wurde bis zur Entscheidung über die Neukonzeption des weiteren Kläranlagenausbaus nicht umgesetzt. Phosphor wurde ab 1994 durch Fällung zunächst über ein Provisorium eliminiert, ab 1995 durch eine neu errichtete Fällmittellager- und Dosierstation. Die zum Betrieb erforderlichen Pumpwerke (Primärschlamm-, Rücklaufschlamm- und Überschussschlamm-pumpwerk) und eine Gebläsestation waren ebenfalls Neubaumaßnahmen. Die Anlage erreichte damit eine Reduktion der eingetragenen CSB- bzw. BSB₅-Fracht um 82 % bzw. 87 % sowie für Phosphor von 86 % [Böhm et al., 2007].

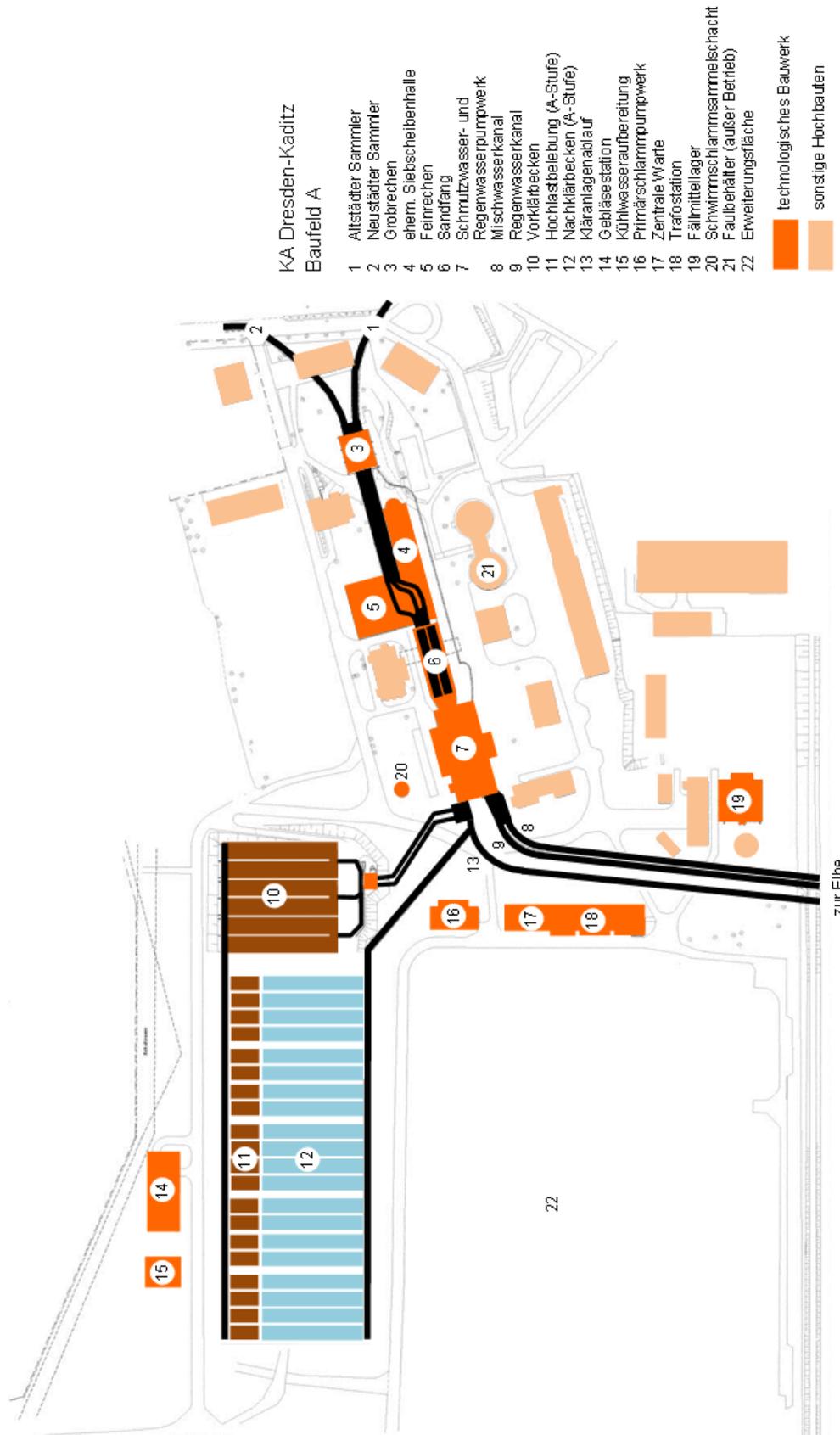


Abbildung 1: Ausbauzustand der Abwasserbehandlungsanlage der KA Dresden-Kaditz im Jahr 1995 (Lageplan: Hydro-Ingenieure Planungsgesellschaft für Siedlungswasserwirtschaft mbH Düsseldorf, verändert)

3.4 Inbetriebnahme der Schlammbehandlung 1994

Aufgrund technischer Widersprüche wurde die ursprünglich vorgesehene Schlammbehandlungsanlage grundlegend neu konzipiert. Eine Besonderheit stellt in diesem Zusammenhang die räumliche Trennung der für die Abwasserbehandlung ('Baufeld (BF) A') und für die Schlammbehandlung ('Baufeld B') genutzten Flächen dar, die durch die Bundesautobahn A4 getrennt werden. Dies führt zu langen Förderwegen, sowohl für die Schlämme zur Schlammbehandlungsanlage, als auch für die Prozesswässer zur Abwasserbehandlungsanlage.

Die 1994 in Betrieb genommene Lösung bestand aus:

- drei statischen Überschussschlammeindickern,
- zwei statischen Primärschlammeindickern,
- drei Zentrifugen und
- zwei dampfbeheizten Scheibentrocknern zur Schlamm Trocknung.

Die Schlamm Trocknung wurde einerseits gewählt, um ein möglichst breites Spektrum an Entsorgungswegen abdecken zu können, andererseits gab es Planungen zum Bau einer Anlage zur Verbrennung des teilgetrockneten Schlammes am Standort [Lützner, 1991], die aber nicht konkretisiert und 1993 eingestellt wurden. Der auf 90 % TR getrocknete Schlamm wurde vorwiegend zu Rekultivierungszwecken stofflich verwertet.

4 Planung des Ausbaus mit weitergehender Nährstoffelimination

4.1 Überarbeitung der Ausbaukonzeption 1991

Die im Zuge der deutschen Einheit geänderten Rahmenbedingungen machten eine Neubewertung des Ausbaukonzeptes erforderlich [Böhm und Schirmer, 1996], da es nicht den geltenden Anforderungen gerecht wurde. Der Ausbauzustand mit Hochlastbiologie und Rohschlammbehandlung bildete die Grundlage für die Neubewertung der Ausbaukonzeption und die Erarbeitung von Ausbauvarianten. Priorität hatte dabei zunächst der Ausbau der biologischen Behandlungsstufe nach dem Stand der Technik zur Entlastung der Elbe und zur Einhaltung der für Kläranlagen der Größenklasse 5 geltenden Überwachungswerte. Die der ursprünglichen Planung zugrundeliegenden Abwassermengen und -frachten waren neu festzusetzen, da infolge wirtschaftlicher Transformationsprozesse ein großer Teil der Industrieleitungen entfiel [Lützner, 1991] und der geringere Trinkwasser-

verbrauch sowie die Ausbindung von Fremdwasser aus der Kanalisation zum Rückgang der hydraulischen Belastung führte.

Die Leistungsfähigkeit der geplanten A-B-Anlage wurde in einer Gemeinschaftsstudie durch den VEB WAB Dresden, die Berliner Wasserbetriebe, das Institut für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig und den Bereich Wasserversorgung und Abwasserbehandlung der TU Dresden überprüft. Dabei standen insbesondere die Forderungen nach einer Denitrifikation, die im ursprünglichen Ausbaukonzept nicht berücksichtigt war, die Elimination von halogenierten Kohlenwasserstoffen die über das AWD-Abwasser eingeleitet wurden und die Entsorgung des schwermetallhaltigen Klärschlammes im Vordergrund (vgl. *Sarfert et al., 1990; Lützner, 1991*). Im gleichen Zeitraum wurden 1991 unter Berücksichtigung der Platzverhältnisse auf der Kläranlage grundsätzliche Verfahrensvarianten durch zwei Planungsbüros erarbeitet, die zur weitergehenden Nährstoffstoffelimination geeignet waren (N, DN, P). Zur Bemessung wurden eine hydraulische Belastung von 300.000 m³/d und eine CSB-Fracht von 180 t/d angesetzt. Vor dem Hintergrund der Diskussion um niedrigere Überwachungswerte (Novellierung der Abwasserverordnung) wurde eine Filtrationsstufe für notwendig erachtet. Die im Wesentlichen diskutierten Varianten waren:

- einstufige Belebung und Flockungsfiltration,
- einstufige Hochbiologie und Flockungsfiltration,
- zweistufige Belebung und Flockungsfiltration,
- Festbettverfahren,
- Fließbettverfahren.

Im Hinblick auf die erreichbare Reinigungsleistung (C, N, P) wurden die untersuchten Varianten als vergleichbar bewertet. Der Einsatz der Hochbiologie wurde übereinstimmend als nicht sinnvoll erachtet. Der Platzbedarf der Belebungsverfahren (einstufig, zweistufig, Hochbiologie) lag deutlich über dem der Festbett- und Fließbettverfahren, allerdings ergab sich durch die höheren spezifischen Kosten für die Fließ- und Festbettreaktoren kein Vorteil gegenüber dem Belebtschlammverfahren.

Im Ergebnis bildete eine einstufige Belebtschlammanlage mit nachgeschalteter Filtration die Vorzugsvariante. Gleichzeitig wurde angeregt, Technologien wie Fest- oder Fließbettverfahren in den Planungsprozess einzubeziehen. Dabei sollte die Planungsgrundlage durch die dynamische Simulation der geplanten Varianten untermauert werden.

4.2 Vorplanung, Stand 1993

Ausgehend von den Kernaussagen wurde durch die 'Planungsgemeinschaft Kläranlage Dresden-Kaditz IPU Dr. Born – Dr. Ermel GmbH / PROWA Ingenieure Dresden GmbH' eine Vorplanung erstellt (Abbildung 2). Grundsätze waren die Nutzung der vorhandenen Baustruktur, ggf. unter Anpassung deren Leistungsfähigkeit und ein stufenweiser Ausbau. Die in den konzeptionellen Studien betrachteten Verfahren wurden nochmals bewertet und eine Vorplanung für die beiden Varianten:

- Einstufige Belebungsanlage mit vorgeschalteter Denitrifikation und nachgeschalteter Raumfiltration und
- Einstufige Festbetтанlage mit vorgeschalteter Denitrifikation und nachgeschalteter Raumfiltration erstellt.

Mit beiden Varianten waren die Anforderungen an die Reinigungsleistung sichergestellt. Allerdings zeichneten sich mehrere Vorteile der einstufigen Belebungsanlage gegenüber der Festbetтанlage ab. Dies betrifft insbesondere dem zum damaligen Zeitpunkt bei Belebungsanlagen erreichten höheren Entwicklungsstand gegenüber Festbetтанlagen, die damit verbundene höhere Prozessstabilität und -sicherheit und die günstigeren Investitionskosten gegenüber Festbetтанlagen. Ein wichtiges Kriterium stellte die größere Flexibilität des Behebungsverfahrens gegenüber ggf. erforderlichen Anpassungen am Ausbaurkonzept dar. Dies spielte vor allem vor dem Hintergrund der den Ausbau zugrundeliegenden Bemessungswerte eine Rolle, da infolge des Strukturwandels die ursprünglichen Bemessungswerte nicht mehr haltbar waren (Änderung der Bevölkerungsprognose, Schließung von Industriebetrieben, Abwasservorbehandlung in Industriebetrieben, Sanierungsmaßnahmen im Kanalnetz). Darüber hinaus stand mit dem ATV-A 131 (1991) ein Regelwerk für die Bemessung von Behebungsanlagen zur Verfügung, während es für Festbetten keine Entsprechung gab. Für das Behebungsverfahren sprach des Weiteren der zeitliche Druck, der sich aus dem vorgegebenen Realisierungszeitraum für die technische Umsetzung einer Denitrifikationsstufe bis Ende 1998 ergab [Böhm, 1995].

Die Vorzugsvariante (Belebungsanlage, 12 Becken) wurde mit vorgeschalteter Denitrifikation in Kaskadenbauweise mit separater Rücklaufschlammdenitrifikation geplant. Die P-Elimination sollte durch Simultanfällung und Bio-P im Hauptstrom erfolgen. Als letzte Reinigungsstufe war eine den Nachklärbecken nachgeschaltete Raumfiltration (24 Filter) vorgesehen.

Die Bemessung der Belebungsanlage ergab ein Gesamtvolumen von 213.000 m³ für die biologische Behandlungsstufe (ohne Nachklärbecken), davon 180.000 m³

Belebungsbeckenvolumen ($VDN/VBB = 0,2 - 0,5$), 25.000 m³ Anaerobvolumen und 7.000 m³ für die Rücklaufschlammdenitrifikation. Die Nachklärbeckenoberfläche war mit 24.000 m² veranschlagt, die Gesamtfläche der Filtrationsanlage mit 2.040 m².

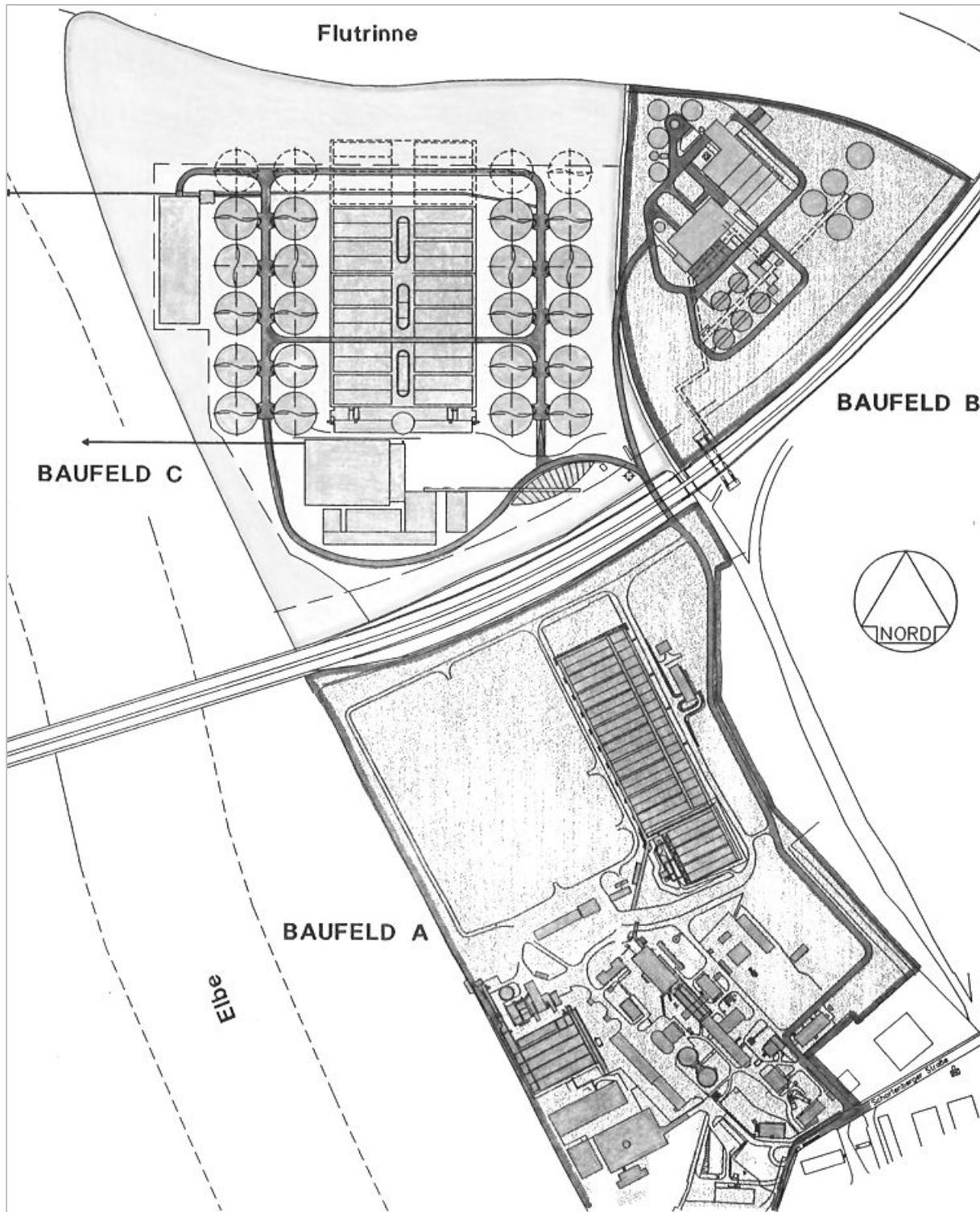


Abbildung 2: Variantenvorschlag der Planungsgemeinschaft KA Dresden-Kaditz für den Kläranlagenausbau vor Änderung der Bemessungswerte (BF A – Bestand, BF B: Schlammbehandlung, BF C: Biologische Abwasserbehandlung)

Für die Festbetтанlage waren 264 Einheiten mit einer Fläche von jeweils 85 m² geplant. Die zur Denitrifikation vorgesehene erste Stufe der Festbetтанlage bestand aus 96 Einheiten mit einer Gesamtoberfläche von 8.160 m², die auf Nitrifikation und Kohlenstoffelimination ausgelegte zweite Stufe aus 144 Einheiten mit einer Gesamtfläche von 12.240 m². Die dritte Stufe (Filtration) war zur Feststoffelimination in 24 Einheiten (Sandfilter, Gesamtfläche: 2.040 m²) ausgelegt.

Die Festbetтанlage mit nachgeschalteter Filtrationsstufe war zwar wesentlich kompakter, führte nach dem damaligen Planungsstand aber zu Investitionskosten von 844 Mio. DM (zzgl. MwSt.) gegenüber 492 Mio. DM (zzgl. MwSt.) für die einstufige Belebungsanlage mit nachgeschalteter Filtration.

4.3 Durchführung halbtechnischer Versuche zur Bestimmung maßgebender Bemessungsparameter

Durch die Verabschiedung der sächsischen *'Verwaltungsvorschrift zum stufenweisen Ausbau der Abwasserbehandlungsanlagen'* in Verbindung mit der geforderten Erstellung eines Abwasserbeseitigungskonzeptes und eines Schmutzfrachtmodells seitens des Regierungspräsidiums Dresden, wurde der Zeitrahmen für die Planung und Umsetzung gelockert. Damit eröffnete sich die Möglichkeit, im Vorfeld der weiteren Planung halbtechnische Versuche zur Vorzugsvariante (Belebungsanlage) und zur Alternativlösung (Festbetтанlage) mit dem Dresdner Abwasser durchzuführen. Die Untersuchung des Belebtschlammverfahrens wurde durch das Institut für Siedlungs- und Industrier Wasserwirtschaft der TU Dresden durchgeführt, die des Festbettverfahrens durch das Ingenieurbüro Dr.-Ing. Jedele und Partner GmbH.

Die der Untersuchung des Belebtschlammverfahrens zugrundeliegenden Ziele bestanden in der Bestimmung des für Nitrifikation erforderlichen Schlammalters, der Ausweisung des spezifischen Überschussschlammfalls, der Bestimmung der Schlammeigenschaften, der Ermittlung der Denitrifikationskapazität bei unterschiedlichen Betriebsweisen und des Wirkungsgrades der biologischen P-Elimination. Daneben dienten die Versuche zur Schaffung einer Datenbasis für die Erstellung und Verifizierung eines Kläranlagenmodells (Activated Sludge Model No. 1 – ASM1). Bei der Untersuchung des Festbettverfahrens standen vor allem die Betriebssicherheit und die Bestimmung der Grenzlastbedingungen für eine gesicherte Nitrifikation und Denitrifikation im Vordergrund.

Neben dem einstufigen Belebtschlammverfahren wurden in Abstimmung zwischen der Stadtentwässerung Dresden, der Planungsgemeinschaft zum Ausbau der Kläranlage und der Gutachter Untersuchungen zu zweistufigen Verfahren als kostengünstige Erweiterungsoption für die bestehende Hochlastanlage durchgeführt. Dies betrifft einen Teil der vom Ingenieurbüro Dr.-Ing. Jedele und Partner GmbH vorgenommenen Untersuchungen zum Festbettverfahren und Versuche zur zweistufigen Abwasserbehandlung durch die TU Dresden. Dabei bestand im Wesentlichen die gleiche Zielstellung wie für die einstufigen Verfahren.

Im Rahmen der Voruntersuchungen wurden mehrere Versuchsreihen im halbtechnischen Maßstab durchgeführt, insbesondere zur:

- Ermittlung von Bemessungsparametern für eine einstufige Belebtschlammanlage [Lützner et al., 1996], u. a. zur Quantifizierung der Überschussschlammproduktion in Abhängigkeit des Schlammalters. Dazu wurden zwei halbtechnische Versuchsanlagen parallel mit unterschiedlichem Schlammalter betrieben. Die Anlage mit niedrigerem Schlammalter reagierte empfindlicher auf Ammoniumspitzen und zeigte stärkere Schwankungen im ISV. Parallel zu den Versuchen wurden die für die dynamische Simulation notwendigen kinetischen und stöchiometrischen Parameter zur Anpassung des Standardparametersatzes des ASM1 erhoben und auf Grundlage der erzielten Ergebnisse verifiziert.
- Ermittlung von Bemessungsparametern für eine Festbetтанlage [Jedele und Soldner, 1997] an zwei parallel betriebenen Festbettsystemen. Dabei wurde zum einen die Nachbehandlung von biologisch gereinigtem Abwasser aus der Hochlaststufe der KA Dresden-Kaditz untersucht, zum anderen die vollbiologische Behandlung mit N- und P-Elimination. Ebenso wie bei den Belebtschlammversuchen standen Bemessungsparameter für die Stickstoffelimination im Vordergrund (Raumbelastung, Wirkungsgrad) sowie der zu erwartende Überschussschlammfall.
- Ermittlung von Bemessungsparametern für eine zweistufige Belebtschlammanlage [Lützner et al., 1997a] für eine der vorhandenen großtechnischen Hochlaststufe nachgeschaltete Stufe. Zur Sicherstellung der zur Denitrifikation erforderlichen C-Quelle wurde der Versuchsanlage neben dem Nachklärbeckenablauf der Hochlaststufe mechanisch gereinigtes Rohabwasser zugeführt. Die Denitrifikation wurde als vorgeschaltete Variante in Kaskadenbauweise realisiert. Wie bei der einstufigen Anlage traten Probleme durch im Abwasser enthaltene Nitrifikationshemmstoffe auf. Zur sicheren Nitrifikation wurde daher eine Erhöhung des Schlammalters empfohlen.

- Durchführung von Hemmtests [Lützner et al., 1998] zur Klärung der festgestellten Nitrifikationshemmung. In diesem Rahmen wurden zusätzlich Respirationstests zur Untersuchung der Wirkung von Industrieabwasser, Prozesswasser und Brüdenkondensat aus der Schlamm Trocknung mit einem nicht adaptierten Schlamm durchgeführt, die alle in unterschiedlichem Maße zur Hemmung der Stickstoffatmung führten. Da die Nitrifikationshemmung unregelmäßig ausgeprägt war und unregelmäßig auftrat, konnte infolge der notwendigen Adaptionszeit ein zeitweiser Anstieg der Ammoniumkonzentrationen im Ablauf nicht ausgeschlossen werden. Als Gegenmaßnahmen wurden die Erhöhung des Schlammalters und eine verstärkte Indirekteinleiterkontrolle empfohlen.
- Bewertung des Einflusses von Prozesswasser [Lützner et al., 1997b] aus der Schlammbehandlung auf einstufige und zweistufige Abwasserbehandlungsverfahren durch Erstellung von Stoffstrombilanzen für die Lastfälle:
 1. Betrieb der vorhandenen Schlammbehandlungsanlage (Eindickung – Entwässerung – Trocknung),
 2. Erweiterung der vorhandenen Schlammbehandlungsanlage mit alkalischer Faulung,
 3. und Betrieb einer alkalischen Faulung mit separater Prozesswasserbehandlung erstellt.

Die Stickstoffrückbelastung war beim zweistufigen Belebungsverfahren aufgrund des größeren ÜSS-Anfalls höher als beim einstufigen Verfahren bei gleichzeitig geringerer Denitrifikationskapazität. Die Dosierung externer C-Quellen wurde damit unumgänglich. Bei den Festbettverfahren wurde aufgrund des hohen Stickstoffanteils des ÜSS ebenfalls mit einer hohen Stickstoffrückbelastung gerechnet. Infolge dessen waren für das zweistufige Belebungsverfahren eine Vergrößerung des Belebungsbeckenvolumens (externe C-Quelle) und für die Festbetтанlage eine Erhöhung des Nitrifikationsvolumens notwendig.

4.4 Technisch-ökonomische Konzeption (TÖK) 1998

1998 wurde unter Berücksichtigung der Versuchsergebnisse eine Technisch-Ökonomische Konzeption fertiggestellt, die einen Vergleich der verschiedenen Ausbauvarianten enthielt. Im Gegensatz zu den bis dahin vorliegenden Planungen wurde ein Ausbau der Belebungsanlage auf BF C fallengelassen und der Ausbau auf BF A unter Ansatz der tatsächlichen Zulauffrachten mit Stand 1997 favorisiert. Prognosen für Frachtänderungen wurden nicht in den Variantenvergleich einbezogen. Auf dieser Grundlage wurden fünf

Hauptvarianten erstellt, die durch Kosten-Nutzenbetrachtungen optimiert und durch eine Nutzwertanalyse mit Sensitivitätsanalyse bewertet wurden.

Zur Diskussion standen folgende Varianten:

- Einstufige Belebungsanlage unter Nutzung der Bausubstanz der vorhandenen A-Stufe ggf. mit Aufteilung des Abwassers zu einem Drittel auf die Altanlage und zu zwei Dritteln auf die Neuanlage mit Ertüchtigung der Altanlage zur Nitrifikation/Denitrifikation. Neubau der Nachklärbecken für beide Anlagenteile,
- Zweistufige Belebungsanlage mit Einbindung der vorhandenen A-Stufe und der Zwischenklärbecken als erste Stufe und dem Neubau der zweiten Stufe (Bypass von 30 % in Stufe 2),
- Festbetтанlage (NI/DN) mit nachgeschalteter DN im Festbett zur Behandlung von 85 % des Zulaufs. Der Rest wird in der Altanlage nach Anpassung zur Nitrifikation/Denitrifikation behandelt unter Nutzung eines Teils der Zwischenklärbecken,
- Zweistufige Anlage mit Vorschaltung der A-Stufe zur C-Elimination und Denitrifikation und nachfolgender Festbetтанlage mit vorgeschalteter Denitrifikation, anschließender Nitrifikation und nachgeschalteter Denitrifikation im Festbett. Dabei werden 30 % des Zulaufes an der ersten Stufe vorbei in die vorgeschaltete Denitrifikationsstufe des Festbetts geführt.
- Zweistufige Anlage mit Vorschaltung der A-Stufe mit Denitrifikation und nachfolgender Festbetтанlage zur Nitrifikation und nachgeschalteter Denitrifikation im Festbett und Rückführung eines nitrifizierten Teilstroms zur Belebtschlammanlage.

Im Ergebnis des Variantenvergleichs wies die einstufige Belebungsanlage die geringsten Jahreskosten auf, gefolgt von der zweistufigen Belebtschlammanlage. Die Festbetтанlagen waren im Vergleich dazu analog zu den Ergebnissen der vorausgegangenen Untersuchungen wesentlich teurer.

4.5 Vorplanung, Stand 1999

Auf Grundlage der TÖK wurde von der Planungsgemeinschaft eine Vorplanung erstellt, unter den Randbedingungen:

- Realisierung eines einstufigen Verfahrens ohne nachgeschaltete Filtration,
- Ausbau der Abwasserbehandlungsanlage auf Baufeld A,
- Anschluss der Neuanlage an die bestehende mechanische Reinigungsstufe,
- Nutzung der Bausubstanz der vorhandenen A-Stufe,
- Ausbau der Schlammbehandlung mit Faulung.

Zur Bemessung wurden die aktuellen Zulauffrachten und Zulaufmengen (85%-Perzentile) aus den Jahren 1996 – 1998 ohne Steigerung der Einwohnerwerte angesetzt. Die Auslegung erfolgte damit auf 130.500 m³/d. Die biologische Stufe wurde in der Vorplanung auf die Behandlung von 59,2 t CSB/d, 7,2 t TKN/d und 0,93 t P_{ges.}/d bemessen. Der perspektivische Ausbau der Schlammbehandlung mit Faulung wurde bei der Ermittlung der maßgebenden Frachten und Lastfälle zur Auslegung der Belebungsanlage berücksichtigt (u.a. durch Installation einer Ethanol dosiertation). Zur Behandlung des AWD-Abwassers wurden verschiedene Optionen geprüft. Im Ergebnis wurde eine gemeinsame Behandlung mit dem kommunalen Abwasser favorisiert, eine separate Behandlung aber offengehalten. Nach Diskussion der Verfahrensführung lagen die zu untersuchenden Ausbauvarianten fest:

1. vorgeschaltete Denitrifikation,
2. Kaskadendenitrifikation,
3. Kombination aus vorgeschalteter und simultaner/intermittierender Denitrifikation.

Die bestehende A-Stufe sollte in den ersten beiden Varianten in die belüftete Stufe integriert werden, entweder als parallele Belebungsbeckengruppe (Variante 1) oder als erste Kaskade einer aus drei Kaskaden bestehenden Anlage (Variante 2). Die dritte Variante sah den Umbau der A-Stufe als ausschließlich anoxische Stufe vor. Ausgehend von einem Variantenvergleich mit Kosten- und Nutzwertanalyse unter Einbeziehung wirtschaftlicher, betrieblicher und ökologischer Kriterien wurde die dritte Variante als Vorzugslösung ausgewählt. Damit ergaben sich folgende Beckenvolumina:

- Rücklaufschlamm-Mischbecken (Bestand, A-Stufe),
- Bio-P-Becken – 9.000 m³ (Bestand, A-Stufe),
- vorgeschaltete Denitrifikation – 28.800 m³ (Bestand, A-Stufe),
- Verteilerbecken – 12.000 m³ (Neubau, Umlaufbecken, optional belüftbar),
- Belebungsbecken – 84.000 m³ (Neubau, Schlaufenbecken, 6 Straßen),
- Verteiler Nachklärbecken/Zehrungsbecken – 4.000 m³ (Neubau),
- Nachklärbecken (Neubau, 6 Rundbecken mit Schildräumer).

5 Ausbau der biologischen Behandlungsstufe

5.1 Planungsanpassung durch den Anschluss weiterer Einzugsgebiete

Auf Grundlage der Vorplanung wurde im Jahr 2000 die Entwurfsplanung für die Vorzugsvariante mit Antrag auf Genehmigung mit leicht veränderten maßgebenden Frachten und Zuflüssen eingereicht. Die Ausbaugröße lag bei 650.000 EW. Die Realisierung sah grundsätzlich zunächst den Bau und die Inbetriebnahme der Neuanlage vor, anschließend den Umbau der Altanlage. Aufgrund der kurzfristig geplanten Überleitung des Abwassers aus den Stadtgebieten von Pirna und Heidenau mit den zugehörigen Einzugsgebieten durch die bevorstehende Stilllegung der Kläranlage Pirna wurde parallel zu den im Jahr 2002 begonnenen Baumaßnahmen die Planung überarbeitet.

Die Ausbaugröße stieg durch zusätzlich 90.000 angeschlossene Einwohnerwerte auf 740.000 EW. Die endgültige Auslegung erfolgte auf 135.500 m³/d (Trockenwetterzufluss), 89 t CSB/d, 8,5 t N_{ges.}/d und 1,2 t P_{ges.}/d (Frachten im Kläranlagenzulauf). Des Weiteren waren durch die geänderte Abwasserverordnung höhere Anforderungen an die Stickstoffelimination (13 mg/l N_{ges.}-Ablaufkonzentration) zu berücksichtigen. Die Nachbemessung zur Plananpassung wurde mit dem im Jahr 2000 erschienenen ATV-DVWK-A 131 vorgenommen, im Gegensatz zur genehmigten Planung, bei der das ATV-A 131 von 1991 genutzt wurde. Durch die geänderten Bemessungsvorgaben blieben die Auswirkungen der zusätzlichen Belastung relativ gering. Wesentliche Änderungen bestanden in der:

- Anpassung der Abmessungen der Belebungsbecken, die um 4 m verkürzt, dafür um 0,5 m vertieft wurden,
- Erhöhung der Gebläseleistung,
- Erhöhung der Nachklärbeckendurchmesser auf 48,5 m und die Installation zusätzlicher Tauchrohre,
- Vergrößerung der Rücklaufschlamm- (RLS) und ÜSS-Leitungen,
- Anpassung der RLS-, ÜSS- und Rezirkulationspumpen,
- Anpassung der Leitungsdurchmesser des Ablaufbauwerks,
- Anpassung der Stromversorgungsanlagen.

Die hydraulische Gestaltung des Zulaufbereiches blieb im Wesentlichen unverändert. Das betrifft die Abwasserzuführung über die beiden Sammler, die Vereinigung der beiden Abwasserströme auf der Kläranlage, den Anschluss des Regenwasserkanals hinter der Rechenanlage und den Betrieb des Pumpwerks zur Förderung des Abwassers in die nachfolgenden Behandlungsstufen. Damit wurde der Neubau der biologischen Behandlungsstufe in die vorhandene

Verfahrenskette aus Zulaufgruppe (Bau 1910), Grob- und Feinrechenanlage (Bausubstanz Altanlage 1910, mehrfach erweitert und modernisiert), Regenwasser- und Trockenwetterpumpwerk (Grundsubstanz und hydraulische Gestaltung von 1910), Sandfang (Bau 1952/1955) und Vorklärbecken (1991) integriert. Während der Baumaßnahmen wurde die Kläranlage durch das Hochwasser 2002 erneut überflutet und musste für 14 d außer Betrieb genommen werden [Pohl, 2003], der Ausbau wurde allerdings nur geringfügig verzögert.

5.2 Ausbauzustand nach Inbetriebnahme 2005/2006

Der Probetrieb für die neu errichteten Anlagenteile wurde im November 2004 aufgenommen, die offizielle Inbetriebnahme fand im Juni 2005 statt. Der Umbau der A-Stufe zur vorgeschalteten Denitrifikation begann im Anschluss daran. Im Vorfeld wurde durch die TU Dresden, unter Nutzung des an die Neuanlage angepassten Simulationsmodells, die Leistungsfähigkeit der Anlage im Hinblick auf die Stickstoffelimination überprüft. Die Betrachtung der verschiedenen Lastfälle ließ eine deutliche Verringerung des ursprünglich für die vorgeschaltete Denitrifikation geplanten Volumens zu. Anstelle der Nutzung fast aller Straßen der A-Stufe wurden nur acht Straßen zu vier Umlaufbecken umgebaut. Die Anlage hatte nach Abschluss der Arbeiten an der vorgeschalteten Denitrifikationsstufe im Jahr 2006) die folgende Konfiguration:

Mechanische Abwasserbehandlung:

- 4 Grobrechen (65 mm),
- 3 Feinrechen (15 mm) mit Rechengutpresse,
- 1 unbelüfteter Sandfang (2 Kammern, Gerinnelänge rd. 37 m),
- Zulaufpumpwerk (6 Schmutzwasserpumpen: max. 4 m³/s, H = 12 m, 4 Regenwasserpumpen: max. 20 m³/s),
- 3 Vorklärbecken (3 x 1.915 m³),

Biologische Abwasserbehandlung (Abbildung 4):

- vorgeschaltete Denitrifikation (ehem. A-Stufe – Rücklaufschlamm-Mischbecken: 1 x 1.230 m³, Bio-P-Becken: 4 x 550 m³, vorgeschaltetes DN-Becken: 4 x 3.125 m³), Umlaufverteiler (1 x 12.200 m³, h_{WT} = 7,5 m),
- Schlaufenbecken (6 x 14.400 m³, h_{WT} = 7,5 m),
- Gebläsestation (29.016 – 69.156 Nm³/h),
- Nachklärung (6 x 1.820 m³, d = 48,5 m),
- P-Elimination durch Bio-P und Simultanfällung.

Die Luftversorgung der Belebungsbecken (Abbildung 3) erfolgt über Tellerbelüfter (ELASTOX®-T) und Turboverdichter (3 x HV Turbo KA10SV-210GL, 3 x HV-Turbo KA5SV-GL210), die Umwälzung wird über Tauchmotor-Rührwerke sichergestellt (6 TMR pro Umlaufbecken, FLYGT SR4430).

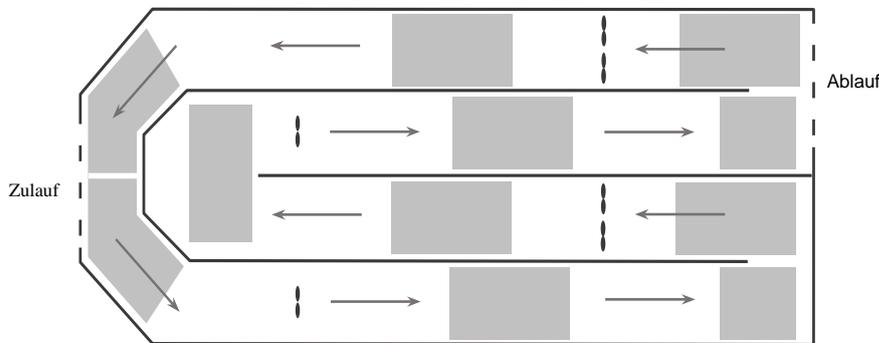


Abbildung 3: Lage der Belüfterfelder und Tauchmotorrührwerke in den Umlaufbecken

Mit Inbetriebnahme der erweiterten Kläranlage erfüllte die KA Dresden-Kaditz erstmals alle Anforderungen an die C-, N- und P-Elimination. Ursprünglich war dafür ein Zeitpunkt zum Ende der 1990er Jahre vorgesehen, allerdings kam es infolge der geänderten gesetzlichen und wirtschaftlichen Rahmenbedingungen zu Verzögerungen durch die erforderlichen Um- und Neuplanungsprozesse.

Die zum Ausbau der Kläranlage angesetzten Bemessungswerte wurde Mitte der 1990er Jahre revidiert. Der Rückgang des Abwasseraufkommens aus industriellen Einleitungen, die Sanierung des Kanalnetzes, die Ausbindung von Fließgewässern aus dem Kanalnetz und die Rücknahme der Bevölkerungsprognose führten zu einer deutlichen Reduzierung von Abwasserfracht und -menge. Die endgültigen Bemessungswerte wurden durch intensive Messkampagnen und modellgestützte halbtechnische Versuche ermittelt. Im Ergebnis dieser Auswertungen wurde die ursprüngliche Endausbaugröße um rd. 50 % von 1.500.000 EW auf 740.000 EW reduziert. Dies führte zu erheblichen Einsparungen beim Bau. Darüber hinaus sank der Platzbedarf für die Kläranlage, so dass die ursprünglich vorgesehene Erweiterungsfläche (Baufeld C) nicht bebaut wurde, sondern für Ausgleichmaßnahmen zur Verfügung stand.

Nach Abschluss der Arbeiten an der biologischen Behandlungsstufe wurden weitere Maßnahmen zur Anlagenoptimierung ergriffen. In diesem Rahmen wurde eine Grünsalzdosierstation zur P-Elimination errichtet und die Sandfangräumung automatisiert. Der vorhandene Portalkran wurde stillgelegt und durch auf Räumbrücken installierte Sandpumpen ersetzt. Zusätzlich wurde eine Sandklassieranlage in Ergänzung zur vorhandenen Sandwaschanlage errichtet.

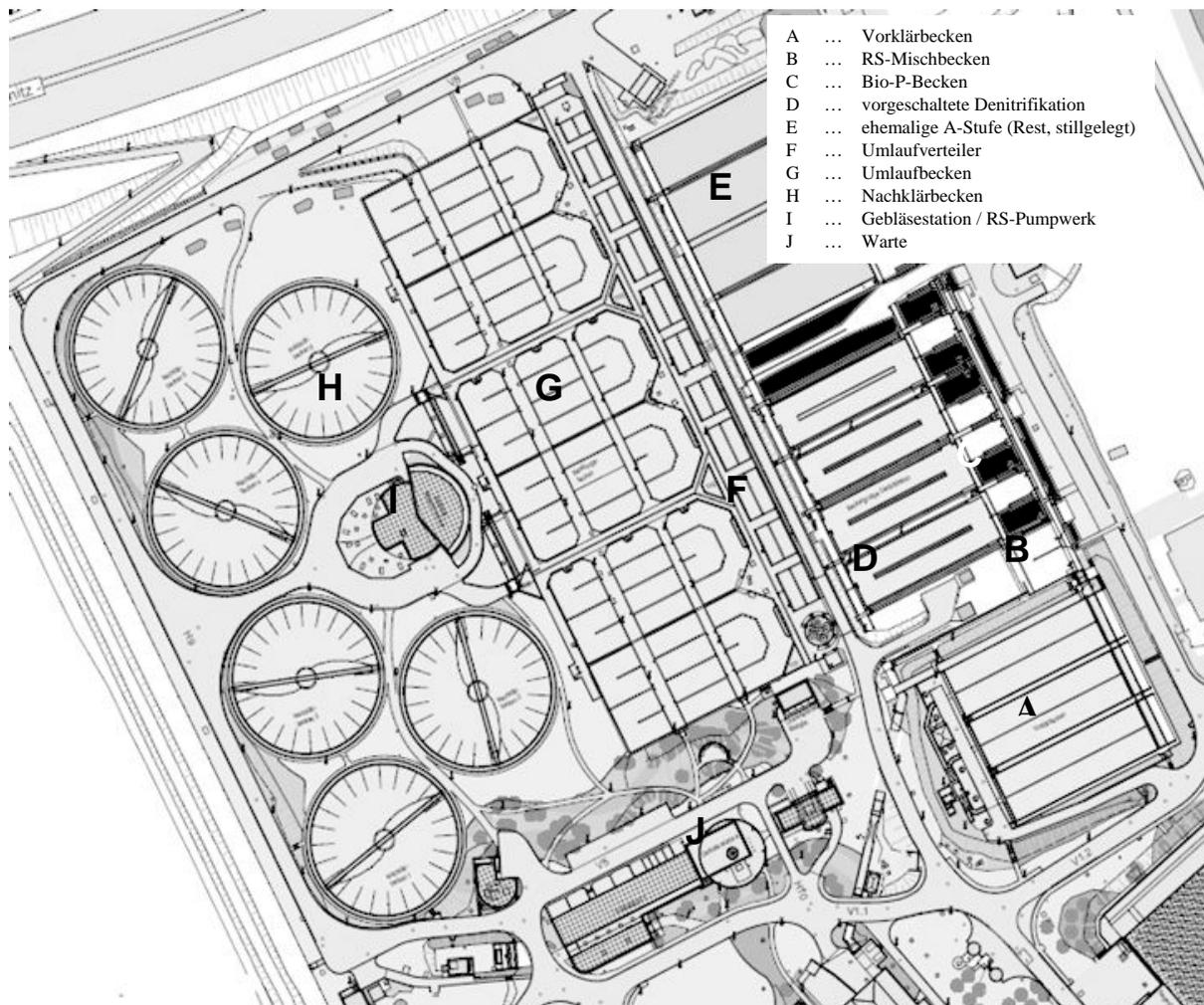


Abbildung 4: Ausbauzustand der biologischen Behandlungsstufe mit vorgeschalteter Denitrifikation 2006

Zur Erhöhung der Mischwasserbehandlungskapazität wurde auf der KA-Dresden-Kaditz im Jahr 2004 ein Regenüberlaufbecken (RÜB) mit einer Speicherkapazität von 24.000 m³ in Betrieb genommen. Das RÜB ist nach der Grobrechenanlage an den Zulaufkanal angebunden. Das Mischwasser wird mit acht Pumpen mit einer maximalen Förderleistung von 9,0 m³/s in das RÜB gepumpt. Im Mischwasserfall können damit insgesamt 13 m³/s behandelt werden, davon 4,0 m³/s auf der Kläranlage. Höhere Zuflüsse werden über einen Regenwasserkanal direkt abgeschlagen.

5.3 Erweiterung der biologischen Stufe, ab 2013

5.3.1 Notwendigkeiten für den Ausbau

Nach zehnjährigem Betrieb der biologischen Stufe zeichnete sich ab, dass eine Erweiterung und eine Optimierung der Anlage notwendig waren.

Die Hauptgründe dafür bilden:

- die deutliche Erhöhung der Stickstoffzulaufkraft:
Im Gegensatz zur CSB-Fracht stiegen die Stickstofffrachten zwischen 2009 und 2012 stetig an. Im KA-Zulauf erhöhte sich die Stickstofffracht von 7 t/d auf 10 t/d. Zusätzlich erhöhte sich die zu eliminierende Stickstofffracht durch die Inbetriebnahme der Faulung um 1 t/d.
- schlechte Schlammeigenschaften:
Der Schlammindex stieg im Median innerhalb weniger Jahre von 60 ml/g (2005) auf etwa 120 ml/g (ab 2009) (Abbildung 5). Die Nachklärbecken sind auf einen ISV von 120 ml/g ausgelegt. Dieser Wert wurde ab 2009 jährlich in mindestens 40 % aller Fälle überschritten, zu 15 % werden 150 ml/g überschritten. Der sich aufgrund dieser Bedingungen zunehmende Flockenabtrieb gefährdete die sichere Einhaltung des P-Überwachungswertes. Als Gegenmaßnahme wurde das Schlammalter zur Verringerung der Schlammvolumenbeschickung der Nachklärbecken gesenkt. Allerdings wirkte sich dies negativ auf die Nitrifikation aus, wenn betriebsbedingt ein Vergleichsschlammalter von 12 d unterschritten wird. Insbesondere bei $t_{TS,V} < 8$ d stieg die Gefahr der Nitritbildung deutlich an.

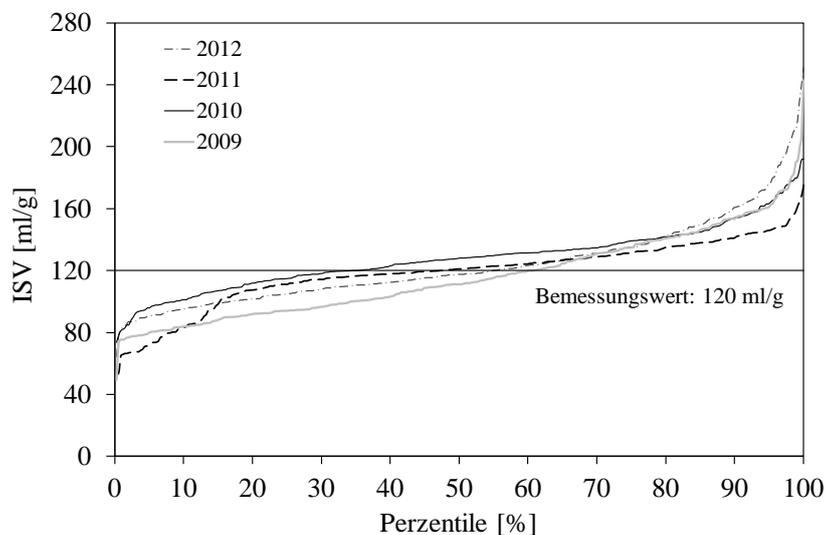


Abbildung 5: Entwicklung des ISV in den Jahren 2009 – 2012

- die positive Wachstumsprognose für Dresden und der Anschluss weiterer Gebiete an das Kanalnetz:
Das Einzugsgebiet der Kläranlage umfasst neben dem Dresdner Stadtgebiet und Teilen von Radebeul, die elbaufwärts gelegenen Einzugsgebiete Heidenau, Pirna, Kreischa und Bad Gottleuba, ferner die Einzugsgebiete Bannewitz, Freital und Tharandt (Abbildung 6). Der Anschluss weiterer Ortschaften ist in Planung.

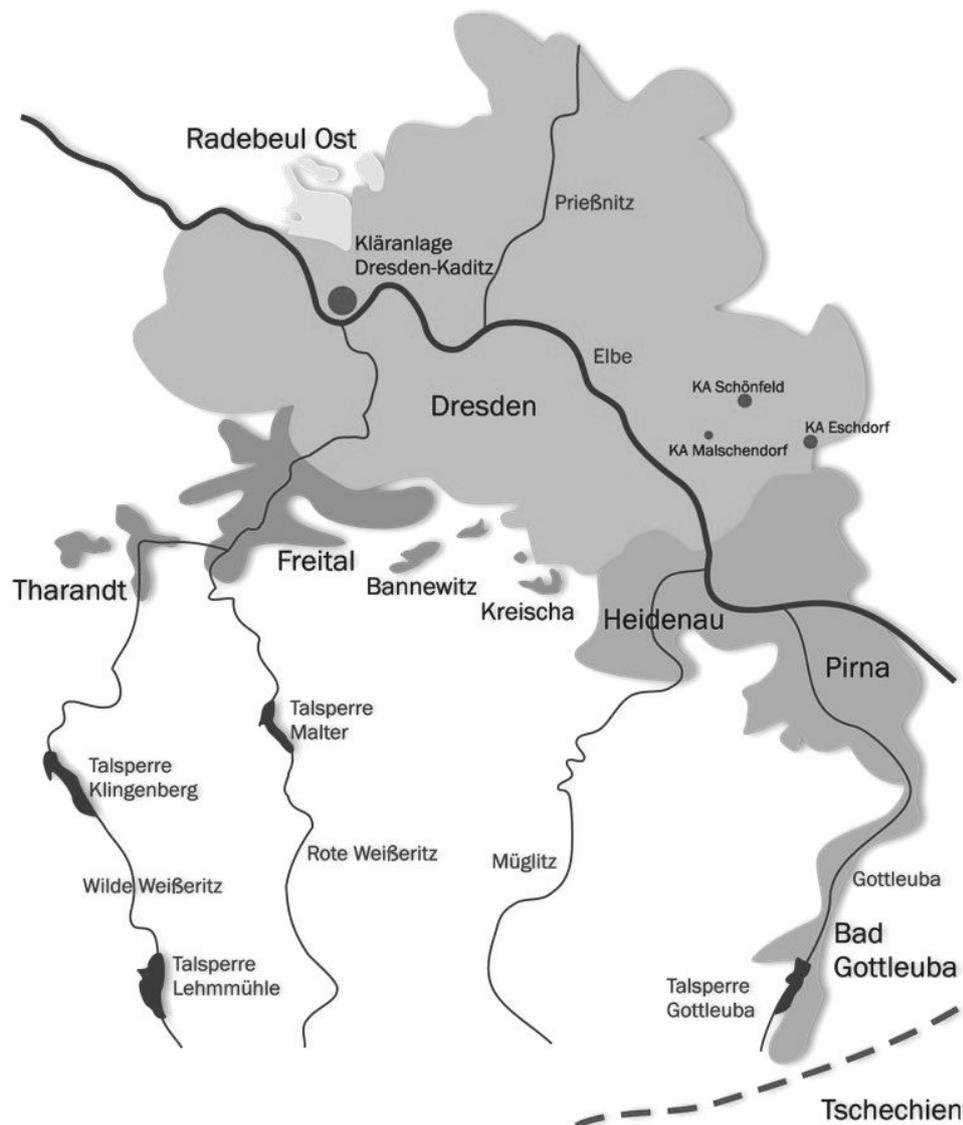


Abbildung 6: Einzugsgebiet der KA Dresden-Kaditz

Die entscheidenden Faktoren für die Erweiterung stellten die um 30 % höhere Stickstofffracht, das verminderte Leistungsvermögen der Nachklärbecken, die damit verbundenen Auswirkungen auf die $P_{ges.}$ -Ablaufkonzentration und das Schlammalter in der biologischen Stufe dar (Nitrifikation im Grenzbereich des Schlammalters) sowie die Kapazität der vorhandenen Bausubstanz.

Die biologische Stufe wurde nach A 131 ursprünglich für 585.000 EW bemessen. Die Kapazität für 740.000 EW wurde durch eine modellgestützte Optimierung der Stickstoffelimination erreicht, allerdings ist die Kapazität seit Inbetriebnahme der Faulung ausgereizt. Die geforderten Ablaufwerte wurden eingehalten, die Betriebsweise lag aber außerhalb der technischen Richtlinien und war damit mit einem hohen betrieblichen Risiko verbunden. Die vorliegenden Randbedingungen machten eine Erweiterung der Anlage erforderlich.

5.3.2 Erweiterungsmaßnahmen

Der Anlagenerweiterung ging eine Variantendiskussion unter Einbeziehung der dynamischen Simulation (ASM3) mit folgenden Optionen voraus:

- Variante 1 – vorgeschaltete Denitrifikation,
- Variante 2 – dreistufige Kaskade,
- Variante 3 – zweistufige Kaskade,
- Variante 4 – Neubauteil mit simultaner Denitrifikation,
- Variante 5 – Neubauteil als Pfropfenstromverfahren mit interner Rezirkulation,
- Variante 6 – 2-stufige Kaskade mit flexibler Erweiterungsoption.

Die Vorzugsvariante bildete im Ergebnis einer Kostenvergleichsrechnung mit Nutzwertanalyse eine zweistufige Kaskade (Variante 6), die neben der bestehenden vorgeschalteten Denitrifikationsstufe (alte A-Stufe) in mehreren Schlaufenbecken neu errichtet wurde. Der Ausbau erfolgt stufenweise. Zunächst wurden Maßnahmen zur Anpassung der Anlage an die mittelfristig erwartete Zusatzbelastung umgesetzt ('Sofortausbau'). Das langfristig, bei weiterer Frachtsteigerung erforderliche Behandlungsvolumen kann unmittelbar neben den im Zuge des Sofortausbaus vorgesehenen Becken errichtet werden. Perspektivisch kann in der Endausbaustufe eine Kapazität von etwa 1,0 Mio. EW behandelt werden.

Während des Sofortausbaus wird die biologische Stufe um insgesamt 48.000 m³ erweitert (Abbildung 7). Davon entfallen:

- 8.000 m³ auf den Zulaufverteiler für die neuen Umlaufbecken,
- 32.000 m³ auf zwei Umlaufbecken (2 x 16.000 m³),
- 8.000 m³ auf die Erweiterung des vorhandenen Umlaufvertailers vor der bestehenden biologischen Stufe.

Die biologische Stufe der KA Dresden-Kaditz verfügt damit ohne Nachklärbecken über ein Volumen von insgesamt 144.200 m³ gegenüber 112.130 m³ vor der Erweiterung. Das entspricht einer Vergrößerung des Belebungsbeckenvolumens um rd. 30 %. Im Endausbau kann die erste Kaskade um maximal drei (ggf. vier) zusätzliche Umlaufbecken erweitert werden. Damit ist ein Ausbau des Belebungsbeckenvolumens auf bis zu 208.200 m³ möglich, ohne dass dafür zusätzliche Flächen erschlossen werden müssen.

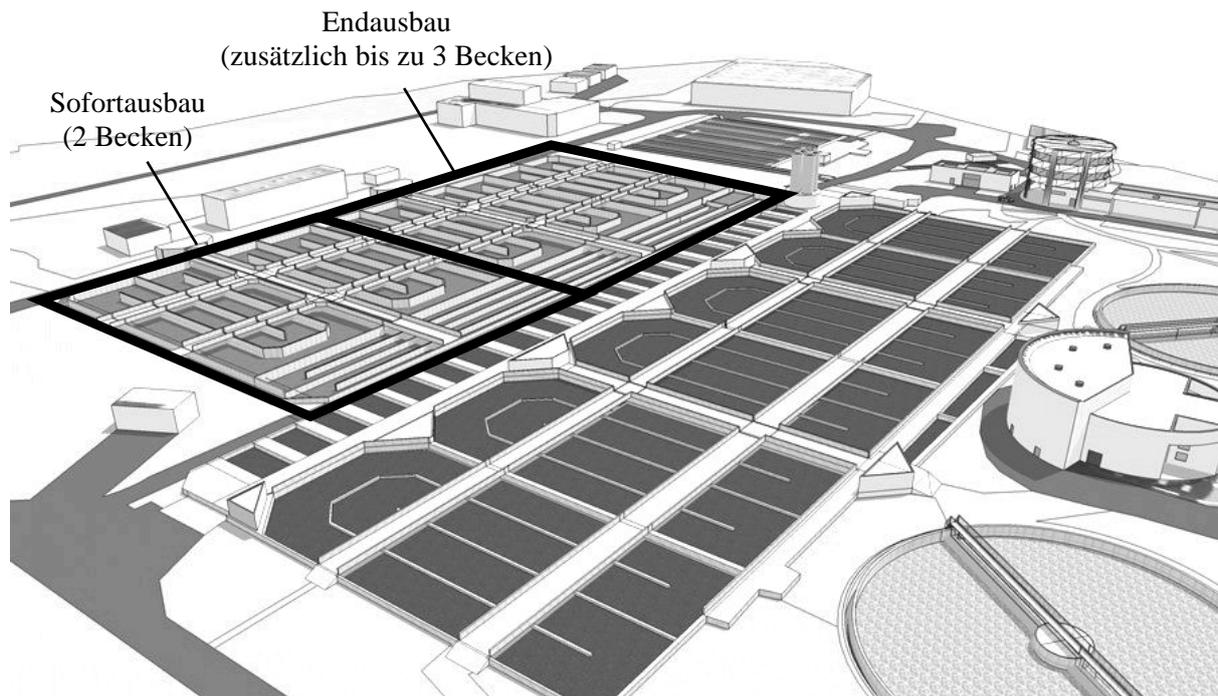


Abbildung 7: Erweiterung der biologischen Behandlungsstufe (Sofortausbau (IBN 2018) und perspektivischer Endausbau)

Für die Erweiterung im Rahmen des Sofortausbaus ist kein zusätzliches Nachklärbecken vorgesehen. Die Optimierung und Anpassung an den gesteigerten Zufluss erfolgt im Bestand. In einem ersten Schritt wurden in den Nachklärbecken höhenverstellbare Einlaufbauwerke ('hydrograv adapt', Abbildung 8) installiert. Zunächst wurde ein Becken umgerüstet und im Vergleich zu den nicht ertüchtigten Becken bewertet. Nach erfolgreichem Nachweis der Leistungsverbesserung wurden die übrigen Becken schrittweise umgerüstet. Details sind in *Armbruster und Barth (2016)* enthalten. Zur weiteren Kapazitätserhöhung könnte der Wasserspiegel um 0,5 m durch Austausch der getauchten Ablaufrohre gegen eine einseitig überströmte Ablaufrinne angehoben werden.

Zusätzlich fanden Untersuchungen zur strömungstechnischen Optimierung der vorhandenen Umlaufbecken und des Umlaufverteilers statt. Dazu wurden Vorschläge durch die Ingenieurbüros 'Abwassertechnische Ausbildung und Beratung Dr. Frey' und 'hydrograv GmbH' erarbeitet, die u. a. den Einsatz von Leitwänden in den Umlaufbecken vorsahen. Parallel dazu wurde der Austausch der Tellerbelüfter durch Plattenbelüfter geprüft. Die vorgeschlagenen Maßnahmen wurden nicht umgesetzt, da bspw. der zusätzliche Kalkverbrauch beim Einsatz von Plattenbelüftern die potentiellen Einsparungen übertraf.

Die Arbeiten zur Erweiterung der biologischen Stufe begannen im Jahr 2016, die Inbetriebnahme fand im Februar 2018 statt.



Abbildung 8: Höhenverstellbares Einlaufbauwerk ('hydrograv adapt') an einem NKB

6 Ausbau der Schlammbehandlungsanlage

6.1 Ausgangslage

Die Schlammbehandlungsanlage der KA Dresden-Kaditz wurde Anfang der 1990er Jahre als Rohschlammbehandlungsanlage mit Volltrocknung ausgebaut. Eine anaerobe Schlammstabilisierung wurde mehrfach diskutiert und war Bestandteil der Ausbaukonzeption. Priorität hatte aber zunächst der Ausbau der biologischen Behandlungsstufe, auch weil eine Entsorgung von Trockengut lange Zeit wirtschaftlicher war [Krenz, 2005]. Der wesentliche Nachteil dieser Lösung bestand vor allem in der fehlenden Eigenenergieerzeugung auf der Kläranlage und der damit verbundenen vollständigen Abhängigkeit von den Marktpreisen für Elektroenergie und Erdgas. Darüber hinaus war eine Steigerung der Entsorgungskosten absehbar, obwohl die Entsorgung getrockneter Schlämme gegenüber der Entsorgung von entwässerten Schlämmen Vorteile durch geringere Transportkosten hatte und mehr Entsorgungsoptionen eröffnete. Allerdings konnte in mehreren Studien die Wirtschaftlichkeit der anaeroben Stabilisierung nur unter Annahme von Co-Substrat nachgewiesen werden.

Der Planfeststellungsantrag für den Ausbau der Schlammbehandlungsanlage mit Faulung wurde im Jahr 2000 eingereicht, die Planung blieb aber bis zu einer

Entscheidung über den Investitionszeitpunkt ausgesetzt [Krenz, 2005]. Im Jahr 2003 wurden die vorliegenden Wirtschaftlichkeitsbetrachtungen geprüft und in den folgenden Jahren überarbeitet. Durch die steigenden Kosten für den Erdgasbezug zum Betrieb der Trockner zeichnete sich ab, dass die Faulung im Vergleich zur bisherigen Lösung konkurrenzfähig wird. Aufgrund des technischen Fortschritts bei der Entwicklung alternativer Klärschlammbehandlungsverfahren wurde in den Jahren 2005 und 2006 ein Variantenvergleich durchgeführt, bei dem unter Einbeziehung der TU Dresden und eines externen Beratungsbüros die folgenden Verfahren untersucht wurden:

- Bestand,
- Faulung + Trocknung (mit Anpassung des Faulraumvolumens),
- Faulung + Desintegration (Ultrawaves),
- Faulung + Thermische Hydrolyse (Cambi AS),
- Katalytische Drucklose Verölung (AlphaKat),
- Klärschlamm-Monoverbrennung (BAMAG),
- Klärschlamm-Pyrolyse (ROSOMA),
- Klärschlammvergasung (Kopf AG),
- Niedertemperaturkonvertierung (ZWT Bayreuth),
- Überkritische Nassoxidation (Feralco AB).

Zum Zeitpunkt der Untersuchung gab es großtechnische Referenzen für die Thermische Hydrolyse und die Monoverbrennung. Die Klärschlammvergasung war im Pilotmaßstab auf der KA Balingen in Betrieb, die Pyrolyse und die Niedertemperaturkonvertierung waren im halbtechnischen Maßstab realisiert.

Die Bewertung der Verfahren und der Auswirkungen auf den Kläranlagenbetrieb (Schlammanfall, Prozesswasserrückbelastung) erfolgte unter Berücksichtigung der an den Referenzanlagen erhobenen Daten und auf Grundlage der für die KA Dresden-Kaditz erstellten Stoffstrombilanzen (Feststoffbilanz, CSB-Bilanz, N-Bilanz). Die Qualität der verfügbaren Daten schwankte für die einzelnen Verfahren erheblich. Das gleiche galt für die Bereitschaft der Hersteller zu bestimmten Punkten Stellung zu nehmen. Einige Anbieter stellten die zur Bewertung erforderlichen Angaben zur Verfügung, bei anderen blieben entscheidende Fragen mehr oder weniger offen.

Die vorhandenen Informationen wurden als Eingangsgrößen für einen Kostenvergleich und eine Nutzwert-Analyse genutzt. Dabei standen insbesondere folgende Aspekte im Vordergrund:

- Anlagenverfügbarkeit,
- Prozessstabilität,
- Erweiterungsfähigkeit,
- Bedienbarkeit,
- Langzeit-Betriebserfahrung,
- Rückwirkung auf die Abwasserbehandlung
- Flächenverbrauch,
- Potentielle Geruchsemissionen,
- Gefährdungspotential,
- Potenzial für eine stoffliche Rückgewinnung,
- Abhängigkeit von externen Versorgern,
- Abhängigkeit von externen Entsorgern,
- Flexibilität zur Fremdstoffmitbehandlung,
- Zeitrahmen für die Realisierung.

Die Einbeziehung der Kosten in die Nutzwert-Analyse (70 % im Vergleich zu den nichtmonetären Faktoren) ergab als Vorzugslösung eine anaerobe Stabilisierungsanlage (ohne Desintegration).

Die Grundlage für die Ausführungsplanung 2008 bildete die Vorplanung aus dem Jahr 1999. Die für die Bemessung der Faulung angesetzten Schlammengen wurden im Jahr 2006 unter Berücksichtigung der zusätzlichen Fracht durch die Überleitung des Abwassers aus Pirna und Heidenau aktualisiert. Die Bemessungsfrachten wurden abhängig vom Puffervermögen der jeweiligen Prozessstufe bestimmt. Für Schlammindickung, -entwässerung und -trocknung wurde ein Gesamtschlammanfall von 70,5 t TR/d (max. 3-d-Mittel) ermittelt, für die Faulung dagegen von 58,5 t TR/d (max. 18-d-Mittel) [Kühn *et al.*, 2006]. Die Auslegung der Faulung erfolgte auf eine HRT von 18 d und eine Bemessungstemperatur von 35 °C. Zur Auswahl der Maschinenteknik wurde durch die TU Dresden in enger Abstimmung mit der Stadtentwässerung Dresden GmbH eine Referenzbewertung auf verschiedenen Kläranlagen durchgeführt, um Probleme, die sich aus bestimmten Anlagenkonfigurationen ergeben können, im Vorfeld zu identifizieren (vgl. Ahnert *et al.*, 2007).

6.2 Anlagenkonzept

Der Bau der Faulung erfolgte nach Planungen der Planungsgemeinschaft Kläranlage Dresden-Kaditz IPU Dr. Born – Dr. Ermel GmbH / PROWA Ingenieure Dresden GmbH unter Nutzung der vorhandenen Bausubstanz für die bisher betriebenen statischen Eindicker, die Entwässerungsanlagen, das Schlammsilo und die vorhandenen Pumpwerke. Auf BFA wurde zur Minderung von Betriebsproblemen bei der Schlammförderung bereits 2008 eine

Primärschlammsiebung errichtet. Alle Anlagen, die für den Betrieb der Faulung und zur Gasverwertung erforderlich sind, wurden neu errichtet.

Da der für die Faulung veranschlagte Feststoffgehalt mit der bisher genutzten Eindickerkombination nicht eingestellt werden konnte, wurde die statische Überschussschlammeindickung zugunsten einer maschinellen ÜSS-Eindickung in Bandeindickern (4 x Turbodrain 140) aufgegeben. Die drei statischen ÜSS-Eindicker (3 x 1.280 m³) wurden anstelle dessen zur Primärschlammeindickung genutzt, die beiden frei gewordenen PS-Eindicker (2 x 980 m³) als Faulschlammkonditionierungsbecken. Die eingedickten Primär- und Überschussschlämme werden nach der Vermischung über die Umwälzschlammleitung in die Faulbehälter eingespeist.

Die Faulungsanlage besteht aus zwei Faulbehältern mit jeweils 10.500 m³, die mit HALBERG-Mischern umgewälzt werden. Prinzipiell können die Behälter abwärts und aufwärts durchmischt werden, allerdings ist ein Aufwärtsbetrieb nicht praktikabel, da sich das Schlammbett dabei zu stark ausdehnt.

Die seit 1994 zur Entwässerung genutzten Zentrifugen wurden mittlerweile durch effizientere Aggregate ersetzt (Flottweg C7E-4/454). Zur Verbesserung der Entwässerungsleistung wird der Faulschlamm vor den Zentrifugen über einen Schlammwärmetauscher geführt. Der entwässerte Schlamm wird anschließend mit Hochdruckpumpen (Bestand, modernisiert) in ein Schlammsilo gefördert. Die Prozesswässer aus der PS- und ÜSS-Eindickung sowie aus der Schlammmentwässerung werden, wahlweise auch getrennt, über einen Prozesswasserspeicher (2 x 1.000 m³) zur biologischen Stufe auf BFA gepumpt. Die Schlamm-trocknung, die im ursprünglichen Ausbaukonzept noch enthalten war, wurde stillgelegt und demontiert.

Zur Gasverwertung wurden zwei BHKWs (Jenbacher JMS 416 GS) mit einer Gesamtleistung von 2,26 MW_{el.} und 2,27 MW_{therm.} installiert. Zusätzlich stehen zwei Heizkessel (Erdgas/Faulgas) zur Wärmeproduktion zur Verfügung und ein Gasbehälter mit einem Volumen von 5.000 m³. Zur Gasreinigung wird Aktivkohle eingesetzt.

Die Schlammfaulungsanlage wurde Ende 2011 in Betrieb genommen. Der ausgefaulte und entwässerte Schlamm wurde in der Vergangenheit vorwiegend stofflich verwertet. Durch die Neufassung der Düngeverordnung erfolgt derzeit die stoffliche Verwertung nur noch eingeschränkt. Infolge der Novellierung der Klärschlammverordnung (AbfKlärV) und der damit verbundenen Einschränkungen aus den Vorgaben zur Phosphor-Rückgewinnung wird die Klärschlamm-entsorgungskonzeption überarbeitet. Eine Entscheidung über das weitere Vorgehen ist bisher nicht erfolgt. Durch die in der Vergangenheit durchgeführten und

aktualisierten Studien über Möglichkeiten zur thermischen Klärschlammbehandlung liegt eine entsprechende Diskussionsgrundlage vor. Gegenwärtig bestehen die Optionen:

- Errichtung einer Behandlungsanlage am Standort Dresden-Kaditz,
- Verbrennung in einer bestehenden Mono-Verbrennungsanlage,
- Errichtung einer zentralen Behandlungsanlage im Verbund mit weiteren, externen Kläranlagenbetreibern außerhalb des Kaditzer Standorts,
- Errichtung einer Behandlungsanlage im Verbund mit Entsorgungsbetrieben der Stadt Dresden.

6.3 Auswirkungen der Co-Vergärung auf den Anlagenbetrieb

Die Co-Vergärung von Bioabfällen und Klärschlamm wurde einige Zeit erwo-gen [Böhm und Schirmer, 1996], aber u. a. aufgrund des Aufwandes für die Aufbereitung der Bioabfälle und der sich in der Nähe befindenden Standorte zur Bioabfallbehandlung und zur Co-Vergärung auf pumpfähige Substrate begrenzt. Die zu diesem Zweck errichtete Substratannahmestation besteht aus Steinfang, einer zweistraßigen Siebanlage (Stainpress SP4) und zwei beheizbaren Vorlagebehältern (2 x 50 m³). Es besteht die Genehmigung zur Vergärung verschiedener Schlämme und Abfälle sowie von Ölen und Fetten. Die Annahme der Co-Substrate ist von deren Auswirkungen auf den Stabilisierungsprozess abhängig. Dies betrifft u. a. die anaerobe Abbaubarkeit, den Schadstoffgehalt, die Auswirkungen auf die Rückbelastung und die Anforderungen an die Vorbehandlung der Substrate bzw. an die Hygienisierung. Zur Substratbewertung nutzt die Stadtentwässerung Dresden GmbH ein Bilanz- und Kalkulationsmodell (BIKAM), mit dem potentielle Auswirkungen auf die Abwasser- und Schlammbehandlung sowie auf die Biogasentstehung und -verwertung und die damit verbundenen Kosten ermittelt werden.

Die Annahme von Co-Substraten ist von rd. 2.500 m³/a im Jahr 2013 auf 9.600 m³/a im Jahr 2016 gestiegen, der Biogasanfall stieg im gleichen Zeitraum von rd. 6,0 Mio. Nm³ auf rd. 7,4 Mio. Nm³.

Da der Gasanfall den Auslegungswert von 15.000 m³/d deutlich überschreitet, wurde im Jahr 2014 ein drittes BHKW nachträglich in den Bestand integriert (Jenbacher JMS 316 GS, 0,84 MW_{el.}, 0,91 MW_{therm.}). Einen weiteren Grund bildete die Minderung von Biogasverlusten durch den Stillstand eines BHKWs, bspw. während Wartungsarbeiten. Diese Maßnahme führte zur Stabilisierung der Eigenstromerzeugung mit geringeren Schwankungen und in Verbindung mit der Co-Substratvergärung zur Steigerung der Stromerzeugung auf > 18.000 MWh_{el.}/a (2016). Dies entspricht einem Eigenenergieversorgungsgrad von rd. 80

– 85 %. Der Wirkungsgrad für die Elektroenergieerzeugung aller Aggregate liegt i. M. bei 40 % (netto), die Auslastung der Anlagen bei Verfügbarkeit bei rd. 80 %. Eine autarke Stromversorgung lässt sich theoretisch bei weiterer Steigerung der Co-Substratannahme erreichen, allerdings setzt dies Anpassungen im Bereich der Gasverwertung voraus, da die Kapazität der BHKW dafür nicht ausreichend ist.

Gasanfall und Eigenstromerzeugung unterliegen jahreszeitlich bedingten Schwankungen infolge des stärkeren Vorabbaus im Kanalnetz bei höheren Abwassertemperaturen in der warmen Jahreszeit. Ziel der Co-Vergärung ist es daher, die Auslastung der Faulung durch die verstärkte Annahme von Substraten in belastungsärmeren Zeiträumen im Sommer zu vergleichmäßigen. Da aber der Wärmebedarf zur Rohschlammerwärmung in dieser Zeit weit unterhalb der Wärmeproduktion liegt, besteht der Bedarf nach einer wirtschaftlichen Wärmenutzung. Dabei wurden u. a. Möglichkeiten zur Abwärmeverstromung mit ORC- oder SRC-Anlagen untersucht, aufgrund der Randbedingungen auf der KA Dresden-Kaditz und der gegenwärtig nicht gegebenen Wirtschaftlichkeit aber verworfen. Dies liegt zum einen am geringen elektrischen Wirkungsgrad der angebotenen Aggregate und zum anderen an der Anpassung des Betriebs an den zur Verfügung stehenden Wärmeüberschuss, der jahreszeitlich bedingt starken Schwankungen unterliegt. Durch die Inbetriebnahme eines Schlammwärmetauschers zur Vorwärmung des Schlammes vor der Entwässerung wurde der Überschusswärmeanfall erheblich reduziert, was den Einsatz einer Nachverstromungsanlage weiter einschränkt.

Eine eindeutige Beeinflussung der Entwässerungseigenschaften durch die Co-Vergärung konnte nicht nachgewiesen werden. Tendenziell sank der Feststoffgehalt im entwässerten Schlamm von 2013 von rd. 25,5 % TR auf rd. 24,5 % TR im Jahr 2015. Durch die Inbetriebnahme der Schlammvorwärmung nahm die Entwässerungsleistung wieder auf rd. 25,5 % TR zu. Eine deutliche Verbesserung trat im Zuge des Austauschs der beiden älteren Zentrifugen auf. Seitdem werden anstelle des Z92-Aggregates vorwiegend die C7E-Aggregate betrieben. Die Entwässerungsleistung stieg dadurch auf durchschnittlich 29 % TR an (2016).

7 Fazit und Ausblick

Die Kläranlage Dresden-Kaditz war zu ihrer Erstinbetriebnahme im Jahr 1910 eine der modernsten Kläranlagen Europas [Böhm und Schirmer, 1996]. In den folgenden Jahrzehnten blieb die technologische Entwicklung weit hinter dem Stand der Technik zurück. Bis Anfang der 1990er Jahre fand ausschließlich eine mechanische Reinigung statt. Der in den 1980er Jahren begonnene Bau einer biologischen Behandlungsstufe wurde bis Mitte der 1990er Jahre zum Teil realisiert. Parallel dazu änderte sich die Belastungssituation entscheidend, u. a. infolge der Verringerung industrieller und gewerblicher Zuflüsse und durch die Sanierung des Kanalnetzes mit Ausbindung des Fremdwassers. Die nach umfangreicher Neuplanung errichtete vollbiologische Anlage wurde im Jahr 2005 in Betrieb genommen.

Die Bemessungswerte wurden durch Messungen im Zulauf der Kläranlage und halbtechnische Versuche ermittelt. Durch gezielte Bewertung der abwassertechnischen Randbedingungen, der Bevölkerungsentwicklung im Einzugsgebiet, der Entwicklung von Industrie und Gewerbe und der entstehenden Prozesswasserbelastung infolge der Co-Substrat-Vergärung wurde etwa zehn Jahre nach der Inbetriebnahme eine Erweiterung des Belebungsbeckenvolumens realisiert.

Parallel zum Anlagenausbau und zur späteren Erweiterung wurde ein an die Bedingungen der KA Dresden-Kaditz angepasstes Simulationsmodell mitgeführt, das durch Einpflegen der Betriebswerte und Änderungen am Betriebsregime aktuell gehalten wird. Dadurch sind für den Ausbau und die Erweiterung relevante Betriebszustände sowie die Auswirkungen bestimmter Betriebseinstellungen auf die Abwasserbehandlung zeitnah bewertbar. Durch die Verifizierung der Ergebnisse aus der statischen Bemessung mit der dynamischen Simulation war eine Optimierung des Belebungsbeckenvolumens bereits während der Planung möglich. Ein ähnlicher Ansatz wurde bei der Simulation der Nachklärbecken im Zuge der Anpassung der Anlage an die höhere Belastung gewählt.

Die Sanierung und Erweiterung im Bestand ist an technische Zwänge gebunden, die zum einen Erweiterungsmaßnahmen im Zulaufbereich erschweren (z. T. durch denkmalgeschützte Hochbauten) und zum anderen zur Verteilung der Bauwerke der Abwasser- und Schlammbehandlung auf zwei getrennte Baufelder geführt haben, wodurch der (verfahrens-)technische Aufwand, vor allem für die Förderung der entsprechenden Medien zwischen den Baufeldern erhöht wird.

Der Ausbau der KA Dresden-Kaditz ist ein fortwährender Prozess, der auch mit der gegenwärtig erfolgten Erweiterung nicht abgeschlossen ist. Die Zeitabschnitte, die zwischen der Inbetriebnahme der neu geplanten großen Bauab-

schnitte (Abwasserbehandlung 2005, Schlammbehandlung 2011, Erweiterung 2018) liegen, betragen sechs bis sieben Jahre. Bezogen auf die Erstinbetriebnahme der biologischen Behandlungsanlage und der Schlammbehandlungsanlage sind jeweils rd. fünfzehn Jahre vergangen, in denen weitreichende Umbaumaßnahmen vollendet wurden. Perspektivisch bleibt die Erweiterung Bestandteil des Anlagenbetriebs. Gegenwärtig werden Optionen für den Ausbau der Schlammbehandlung um eine thermische Behandlungsanlage geprüft, wobei offen ist, ob diese direkt am Standort oder außerhalb des Geländes der KA Dresden-Kaditz umgesetzt wird. Abhängig von der Entwicklung der rechtlichen Rahmenbedingungen kann darüber hinaus eine Erweiterung der biologischen Behandlungsstufe um eine vierte Reinigungsstufe erforderlich werden.

8 Literatur

- Ahnert M., Kühn V., Krebs P. (2007). Bewertung des Betriebes von anaeroben Schlammstabilisierungsanlagen zur Übertragung der Ergebnisse auf die geplante Schlammfaulungsanlage der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Stadtentwässerung Dresden GmbH. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.
- Armbruster M. und Barth M. (2016). Kläranlage Dresden – Potenziale moderner Nachklärbeckeneinläufe. *wwt Modernisierungsreport 2016/2017* 24-30.
- ATV-A 131 (1991). ATV-Arbeitsblatt-A 131 (zurückgezogen), Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen ab 5.000 Einwohnerwerten. Abwassertechnische Vereinigung e.V. (ATV), Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik e.V. (GFA), Hennef, Februar 1991.
- ATV-DVWK-A 131 (2000). Arbeitsblatt ATV-DVWK-A 131 (zurückgezogen), Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen. ATV-DVWK Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V., Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik e.V. (GFA), Hennef, Mai 2000.
- Böhm R. (1995). Begründung von Versuchen zur Erweiterung der Kläranlage Dresden-Kaditz um die Verfahrensstufen zur Nitrifikation und Denitrifikation. Protokoll, 11.09.1995. Dresden Wasser und Abwasser GmbH, Geschäftsbereich Abwasser, Team Strategie Abwasser.
- Böhm R., Lütznert K., Jedele K. (1996). Erste Ergebnisse halbtechnischer Versuche mit dem Belebungsverfahren und mit Festbettfiltern – Untersuchungen zum weiteren Ausbau der Kläranlage Dresden-Kaditz. 29. Essener Tagung für Wasser- und Abfallwirtschaft, 13.03.-15.03.1996 in Erfurt. RWTH Aachen (HRSG.), Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft. Gewässerschutz Wasser Abwasser, Band 156, S.28/1-28/17.

- Böhm R. und Schirmer A. (1996). Kläranlage Dresden-Kaditz. *awt – abwassertechnik* **47** (4) 16-20.
- Böhm R., Fiedler T., Schäfer S., Wiesinger R. (2007). Zur Geschichte der Stadtentwässerung Dresden. 3. neu bearbeitete und erweiterte Auflage. Stadtentwässerung Dresden (HRSG). Druckerei Wagner GmbH, Großschirma OT Siebenlehn.
- Günther M. und Kermer K. (1995). Betriebsergebnisse der Kläranlage Dresden-Kaditz und Möglichkeiten der Leistungsverbesserung. Seminar am 21. und 22.04.1994 in Dresden. RWTH Aachen (HRSG.), Institut für Siedlungswasserwirtschaft. Gewässerschutz Wasser Abwasser, Band 146, S.16/1-16/24.
- Jedele K. und Soldner M. (1997). Zusammenfassende Auswertung von Versuchen im halbtechnischen Maßstab zum Einsatz der Festbett-Technologie in der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Stadtentwässerung Dresden GmbH. Dr.-Ing. Jedele und Partner GmbH, Stuttgart-Vaihingen.
- KDT VEB(K) WW (1963). Stand der Wasserversorgung und Abwasserreinigung der Stadt Dresden. Denkschrift. Betriebssektion der Kammer der Technik in VEB(K) Wasserwirtschaft der Stadt Dresden.
- Krenz M. (2005). Ausbau Kläranlage Dresden-Kaditz, Teilprojekt Klärschlammfäulung – Positionspapier zum weiteren Vorgehen. Stadtentwässerung Dresden GmbH.
- Kühn V., Barth M., Schalk T. (2006). Bewertung thermischer Klärschlammbehandlungsverfahren für den Einsatz auf der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Stadtentwässerung Dresden GmbH. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.
- Lützner K. (1991). Abwassersituation in den neuen Bundesländern am Beispiel Dresdens. ATV-Landesgruppen-Tagungen 1991. Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik e.V., St. Augustin. Berichte der Abwassertechnischen Vereinigung e.V., Band 41, S.277-291.
- Lützner K., Fiedler C., Kühn V., Müller V., Nowak O. (1996). Endbericht über die halbtechnischen Versuche nach dem einstufigen Belebungsverfahren an der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Landeshauptstadt Dresden, Stadtentwässerung Dresden. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.
- Lützner K., Fiedler C., Kühn V., Müller V. (1997a). Endbericht über die halbtechnischen Versuche zur zweiten Stufe einer zweistufigen Belebungsanlage an der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Landeshauptstadt Dresden, Stadtentwässerung Dresden. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.
- Lützner K., Fiedler C., Kühn V., Müller V. (1997b). Ermittlung der verfahrenstechnischen Auswirkungen unterschiedlicher Prozeßwasserrückbelastungen an der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Landeshauptstadt Dresden, Stadtentwässerung Dresden. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.
- Lützner K., Fiedler C., Kühn V., Müller V. (1998). Endbericht über die Weiterführung der halbtechnischen Versuche nach dem einstufigen Belebungsverfahren an der Kläranlage Dresden-Kaditz. Technischer Bericht, im Auftrag der Landeshauptstadt Dresden, Stadtentwässerung Dresden. Technische Universität Dresden, Institut für Siedlungs- und Industrierwasserwirtschaft.

- Pohl J. (2003). Das Auguthochwasser in Sachsen – Auswirkungen und Konsequenzen für die Abwasserbeseitigung in Dresden. 36. Essener Tagung für Wasser- und Abfallwirtschaft, 26.03.-28.03.2003 in Aachen. RWTH Aachen (HRSG.), Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft. Gewässerschutz Wasser Abwasser, Band 190, S.10/1-10/15.
- Sarfert F., Peter A., Kayser R., Wolffson C., Günther M., Hackenberger J., Kühn V., Ehrig S., Lütznert K. (1990). Studie zur Gemeinschaftskläranlage Dresden-Kaditz. Bericht zur Forschungskoooperation. Berliner Wasserbetriebe, Technische Universität Braunschweig, VEB Wasserversorgung und Abwasserbehandlung (WAB) Dresden, Technische Universität Dresden, Bereich Wasserversorgung und Abwasserbehandlung.
- Scheitzow (1922). Die Abwässerreinigungsanlage in Dresden. *Gesundheits-Ingenieur* **45** (23).
- Salomon H. (1907). Die städtische Abwässerbeseitigung in Deutschland, Band 2. Verlag von Gustav Fischer in Jena.
- Salomon H. (1911). Die städtische Abwässerbeseitigung in Deutschland, Ergänzungsband. Verlag von Gustav Fischer in Jena.
- TBA DD (1925). Die Abwasser-Reinigungsanlage der Stadt Dresden. Der Rat zu Dresden, Tiefbauamt. Buchdruckerei der Günzschen Stiftung in Dresden.
- TBA DD (1989). Plan Stadttechnische Versorgung Dresden, Textteil Diskussionsmaterial. Rat der Stadt Dresden, Tiefbauamt, Oktober 1989.
- VEB PROWA Halle (1984). Aufgabenstellung Gemeinschaftskläranlage Dresden-Kaditz 1. AS, Allgemeiner Teil. VEB Projektierung Wasserwirtschaft Halle, Betriebsteil Dresden.

Korrespondenz an:

Dr.-Ing. Volker Kühn

Stadtentwässerung Dresden GmbH
Scharfenberger Straße 152, 01139 Dresden

Tel.: +49 351 822 2242

Mail: volker.kuehn@se-dresden.de

Deammonifikation im Hauptstrom – Konzepte und Herausforderungen

Susanne Lackner

Technische Universität Darmstadt, Institut IWAR, Fachgebiet Abwasserwirtschaft

Abstract: Die Deammonifikation hat sich zur Stickstoffelimination in hochbelasteten Teilströmen in den letzten zehn Jahren mehr und mehr als energieeffiziente Alternative zur klassischen Nitrifikation/Denitrifikation etabliert. Um die Vorteile der Deammonifikation auch für die Behandlung von kommunalem Abwasser zu nutzen, wurde in den letzten Jahren verstärkt an der Umsetzung im Hauptstrom geforscht. Bisherige Erfahrungen zeigen, dass ein gut abgestimmtes Betriebskonzept erforderlich ist um die Deammonifikation auf die ungünstigeren Bedingungen (Temperatur, Substratkonzentrationen und -schwankungen) im Hauptstrom einzustellen. Wichtige Faktoren sind dabei neben der grundsätzlichen Verfahrenskonzeption (Reaktortyp und Einbindung in die biologische Reinigungsstufe) insbesondere das Belüftungsregime und der selektive Biomasserückhalt. Aus den Ergebnissen aktueller Versuche lässt sich ableiten, dass die Deammonifikation im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen durchaus eingesetzt werden kann, aber noch Forschungs- und Entwicklungsbedarf bei der Optimierung und Sicherstellung eines stabilen Betriebs besteht.

Key Words: Stickstoffelimination; Anammox; Nitrit-oxidierende Bakterien; Biomasserückhalt; Belüftungsstrategie;

1 Einführung

Die Stickstoffelimination ist seit den 1990iger Jahren fester Bestandteil der biologischen Reinigungsstufe kommunaler Kläranlagen um eine gute Gewässerqualität im Sinne der EU Wasserrahmenrichtlinie zu erreichen und zu erhalten. Der im Abwasser enthaltene Stickstoff der hauptsächlich aus Ammonium und organischem Stickstoff bestehen (ca. 11 g-N pro Person und Tag) wird in der biologischen Stufe der Kläranlage mittels mehrerer gekoppelter biologischer Prozesse weitestgehend abgebaut.

Alle bekannten Konfigurationen zur Stickstoffelimination nutzen als ersten Schritt die aerobe Oxidation von Ammonium zu Nitrit, welches traditionell

weiter zu Nitrat oxidiert wird (Nitrifikation). Gekoppelt wird die Nitrifikation dann mit der anaeroben Reduktion des gebildeten Nitrats zu gasförmigem Stickstoff (Denitrifikation). Mit dieser Kombination kann der Stickstoff aus dem Zulauf meist fast komplett aus dem Abwasser entfernt werden.

Die Entdeckung und Einführung der anaeroben Ammoniumoxidation, kurz Anammox, in die Abwasserbehandlung vor ca. 20 Jahren (Jetten et al. 1997, Mulder et al. 1995) eröffnete völlig neue Wege bei der Betrachtung der Stickstoffelimination. Der Anammox-Prozess kombiniert als autotropher Prozess, die Oxidation von Ammonium mit Nitrit als Elektronenakzeptor (Mulder et al. 1995). In Kombination mit dem ersten Teilschritt der Nitrifikation, der aeroben Oxidation von Ammonium zu Nitrit, die nur zu ca. 50 % ablaufen muss, ergibt sich ein komplett autotropher Prozess, der signifikante Energieeinsparungen (> 50%) möglich macht (Lackner et al. 2015, Siegrist et al. 2008). Dieses, wie auch die Denitrifikation, 2-stufige biologische Verfahren hat als Deammonifikation, bzw. auch als partielle Nitritation / Anammox (PN/A) bezeichnetes Verfahren, bereits seinen Weg in die großtechnische Anwendung gefunden (Lackner et al. 2014). Deammonifikationsanlagen finden sich aber bisher fast ausschließlich für die Behandlung von Abwasserströmen mit hohen Ammoniumkonzentrationen (ca. 500 – 2000 mgNH₄-N l⁻¹) und hohen Temperaturen von ca. 25 – 35 °C (Lackner et al. 2014, Van Hulle et al. 2010).

Um die Vorteile der Deammonifikation, nämlich ihr hohes Energieeinsparpotential und die Möglichkeit einer Stickstoffelimination ohne organischen Kohlenstoff, noch weiter zu nutzen, haben sich die jüngsten Forschungs- und Entwicklungsprojekte auf die Umsetzung im Hauptstrom kommunaler Abwasserbehandlungsanlagen (auch als Mainstream PN/A bezeichnet) konzentriert. Die Bedingungen im Hauptstrom stellen jedoch eine enorme Herausforderung für den Prozess dar. Die zu erwartenden Stickstoffkonzentrationen sind deutlich niedriger als in bisherigen Anwendungen (20 – 60 mg NH₄-N l⁻¹) und auch die Abwassertemperaturen sind deutlich ungünstiger (5 – 20 °C in Mitteleuropa), was verfahrenstechnische Anpassungen im Vergleich zur Teilstromanwendung erfordert.

In diesem Beitrag werden grundlegende Aspekte zur Deammonifikation und deren Umsetzung im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen dargestellt. Dabei werden insbesondere wichtige Einflussgrößen und mögliche Betriebsstrategien diskutiert, die für die Umsetzung beachtet werden sollten.

2 Deammonifikation im Hauptstrom: Grundlagen

2.1 Grundlagen der Stickstoffelimination

Die grundlegenden Schritte bei der biologischen Stickstoffelimination in technischen Systemen, die klassische Nitrifikation/Denitrifikation (N/DN) und die Deammonifikation sind schematisch in Abbildung 1 gegenübergestellt. Ausgehend von Ammonium (NH_4^+) besteht der erste Schritt in beiden Verfahren aus der aeroben Oxidation von Ammonium zu Nitrit (NO_2^-), welcher von ammoniumoxidierenden Bakterien (AOB) durchgeführt wird. Bei der N/DN folgt die von Nitrit oxidierenden Bakterien (NOB) katalysierte Oxidation des Nitrits weiter zu Nitrat (NO_3^-), gefolgt von der Reduktion des Nitrats mit organischem Kohlenstoff als Elektronendonator über mehrere Stufen zu gasförmigem Stickstoff (N_2).

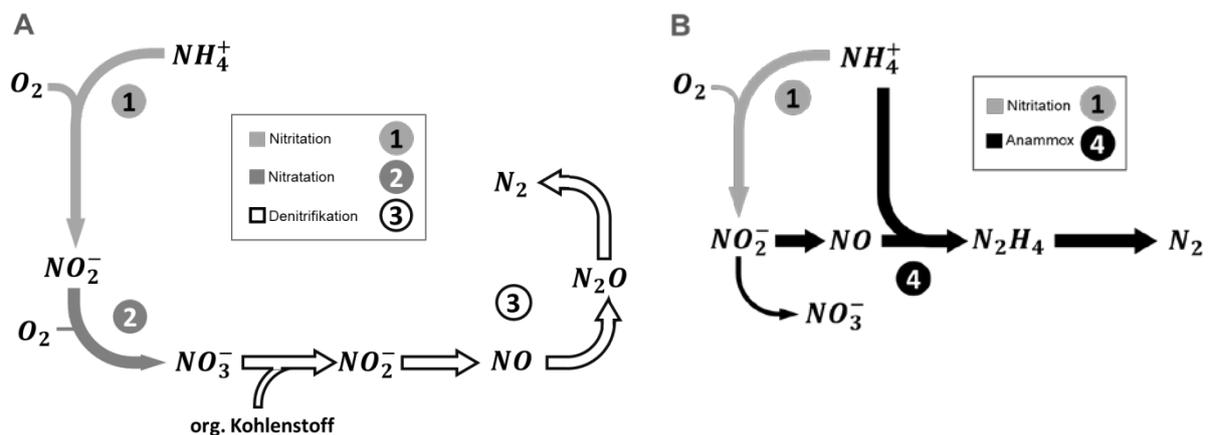
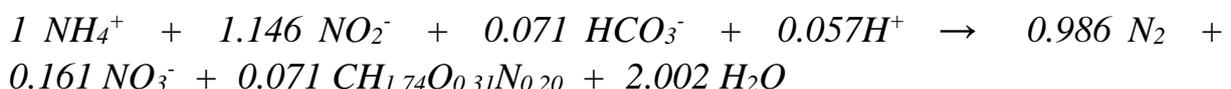


Abbildung 1: Stickstoffelimination in technischen Systemen. (A) konventionelle Nitrifikation/Denitrifikation; (B) Deammonifikation. NH_4^+ : Ammonium; NO_2^- : Nitrit; NO : Stickstoffmonoxid; N_2O : Distickstoffoxid, Lachgas; N_2H_4 : Hydrazin; N_2 : Distickstoff;

Die Deammonifikation (Abbildung 1, B) ist ein komplett autotropher Prozess, braucht also keinen organischen Kohlenstoff. Sie verbindet eine Teil-Nitrifikation (Oxidation von Ammonium zu Nitrit durch AOB) mit der anaeroben Ammoniumoxidation der Anammox-Bakterien (AnAOB), die das aerob gebildete Nitrit als Elektronenakzeptor nutzen.

Die Anammox-Reaktion folgt nach Lotti et al. (2014c) folgender Stöchiometrie:



Für detailliertere Ausführungen zu den biochemischen Grundlagen der Deammonifikation wird auf die entsprechende Fachliteratur verwiesen (z.B. Kuenen (2008), Schmidt et al. (2002), Strous et al. (2006)).

2.2 Deammonifikation im Hauptstrom: die Rahmenbedingungen

Nachdem die Deammonifikation für die Behandlung hochbelasteter Teilströme schon seit über 10 Jahren großtechnisch eingesetzt wird (Lackner et al. 2014) haben in den letzten Jahren mehr und mehr Studien die Anwendbarkeit der Deammonifikation im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen untersucht.

Für die Umsetzung der Deammonifikation im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen stellen vor allem die veränderten Rahmenbedingungen im Vergleich zur Teilstrombehandlung Erschwernisse dar.

Die wichtigsten Einflussgrößen, die diese beiden Anwendungen unterscheiden, sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Hervorzuheben sind vor allem die Temperatur und die niedrigen, und dazu schwankenden Ammonium-Zulaufkonzentration. Auch ist mit einer deutlich höheren CSB-Belastung (biologisch verfügbarer Anteil) zu rechnen, bzw. sollte diese verfahrenstechnisch entsprechend mitberücksichtigt werden. Idealerweise erfolgt die Entfernung des CSB vor der eigentlichen Deammonifikationsstufe. Auch die Alkalinität kann die Deammonifikation beeinflussen. Eine niedrige Alkalinität kann zum einen zu Problemen bei der pH-Wert Stabilität (Absenkung) führen, zum anderen kann die Aktivität der aeroben und anaeroben Ammoniumoxidierer, die Hydrogencarbonat als C-Quelle nutzen, eingeschränkt werden (Guisasola et al. 2007, Wett and Rauch 2003). Im Folgenden werden die Parameter Temperatur und Ammoniumrestkonzentration näher beleuchtet.

Tabelle 1: Gegenüberstellung relevanter Parameter für die Teil- und Hauptstrom Deammonifikation. Die Angaben sind allgemeine Abschätzungen, die sich von Anlage zu Anlage unterscheiden können.

Parameter	Teilstrom	Hauptstrom
Temperatur [°C]	25 – 35	10 – 20
Ammoniumkonzentration [g m ⁻³]	500 – 1500	20 – 100
CSB Konzentration [g m ⁻³]	300 – 800	300 – 800
BSB ₅ Konzentration [g m ⁻³]	< 100	150 – 400
Alkalinität [mmol l ⁻¹]	20 – 80	3 – 7
Schlammalter [d]	> 20/30	> 120
Zulaufmenge [m ³ d ⁻¹]	konstant	variabel

2.2.1 Temperatur

Biologische Prozesse werden stark von der Temperatur beeinflusst, eine Temperaturabnahme führt zu einer signifikanten Reduktion der Wachstums- und Substratumsatzraten. Bei einer Reduktion der Temperatur um 10 °C geht man üblicherweise von einer Halbierung der mikrobiellen Aktivität aus. Vor allem in niedrigen Temperaturbereichen kann die Abnahme der Aktivität sogar noch größer ausfallen (Gilbert et al. 2014b, Lotti et al. 2015, Schipper et al. 2014). Diese verringerte Aktivität stellt eine zentrale Herausforderung für Anammox-basierte Prozesse dar, bei denen die Wachstumsraten unter optimalen Bedingungen bereits relativ niedrig sind. Erste Studien zur Machbarkeit von Anammox-basierten Technologien bei niedrigeren Temperaturen und der daraus resultierenden Wirkung auf Aktivität und Stickstoffumsatz zeigten, dass nur das Anammox-Verfahren, d.h. der Betrieb von Reaktoren mit Ammonium und Nitrit im Zulauf unter anaeroben Bedingungen, volumetrische N-Abbauraten von 0,26 g-N L⁻¹ d⁻¹ bei 10 °C (Hendrickx et al. 2014) und 0,36 g N L⁻¹ d⁻¹ bei 6,3 °C (Isaka et al. 2008) erreichen konnte. Diese Studien zeigen, dass die potentielle Anwendbarkeit des Verfahrens möglich ist. Neben Versuchen mit synthetischen Medien, die meist einfacher zu handhaben sind, haben Lotti et al. (2015) auch vorbehandeltes kommunales Abwasser als Substrat für einen Anammox-Reaktor getestet. Das Abwasser wurde mit Nitrit aufgestockt, enthielt aber auch organischen Kohlenstoff. Die volumetrischen Stickstoffeliminationsraten, die bei 10 °C erreicht wurden, lagen bei ca. 0,4 g-N L⁻¹ d⁻¹; die spezifische Stickstoffeliminationsrate der Biomasse bei 10 °C betrug 50 ± 7 mg-N g-VSS⁻¹ d⁻¹.

Eine Anwendung der Deammonifikation unter Hauptstrombedingungen ist jedoch auch von einer stabilen Nitritation (Teil-Oxidation des Ammoniums zu Nitrit) abhängig. Deshalb haben sich mittlerweile zahlreiche Studien mit den erreichbaren Umsatzraten im Zusammenspiel von aerober und anaerober Ammoniumoxidation (AOB und AnAOB) beschäftigt. So betrieben Lotti et al. (2014b) z.B. einen Gas-Lift-Sequenzierungs-Batch-Reaktor und konnten bis 15 °C stabile Deammonifikation nachweisen, während bei 10 °C eine konstante Abnahme der Anammox-Aktivität zu beobachten war. Laurenzi et al. (2015) betrieben SBR mit suspendierter Biomasse und vorbehandeltem Abwasser (Gesamtstickstoffkonzentrationen im Zulauf von 5 – 20 mg-N L⁻¹). Beginnend mit einer Anammox-Aktivität von bis zu 465 mg-N L⁻¹ d⁻¹ bei 29 °C, sank die Aktivität bei Temperaturen von 12,5 °C auf 46 mg-N L⁻¹ d⁻¹ (79 Tage Verdopplungszeit der Anammox-Bakterien). Auch ein Wechsel von synthetischem zu vorbehandeltem kommunalem Abwasser beeinflusste die Anammox-Aktivität und führte zu einem Anstieg der geschätzten

Verdopplungszeit der Anammox-Bakterien auf > 250 d, im Vergleich zu 132 d bei $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit synthetischem Abwasser (Laureni et al. 2015). Stablen Betrieb mit Schwebebettreaktoren erreichten Laureni et al. (2016) im Labormaßstab mit vorbehandeltem kommunalen Abwasser, mit Umsatzraten von $20 - 40\text{ mg-N L}^{-1}\text{ d}^{-1}$ und Ablaufwerte von $< 6 - 10\text{ mg-N l}^{-1}$ Gesamtstickstoff bei $15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Gilbert et al. (2015) verglichen vier verschiedene Reaktorsysteme (mit unterschiedlichen Biomassegeometrien, ausgedrückt in max. Biofilmdicken von 0,6, 2,0, 2,1 und 10 mm) und erreichten bei $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ zwischen $10 - 30\text{ mg-N L}^{-1}\text{ d}^{-1}$ Umsatz, wobei die granulierten Biomasse (2,1 mm) und trägerbasierte Biofilme (2,0 und 10 mm) die besseren Ergebnisse im Vergleich zu suspendierter Biomasse (0,6 mm) zeigten.

Neben den niedrigen Umsatzraten der Anammox-Bakterien spielt auch die Dynamik zwischen AOB und NOB eine entscheidende Rolle für den Erfolg der Hauptstrom-Deammonifikation, da ohne eine stabile Nitrit-Produktion auch keine anaerobe Ammoniumoxidation ablaufen kann.

Das Zusammenspiel von AOB und NOB wird von viele Faktoren beeinflusst und hängt von der jeweiligen Zusammensetzung der Biomasse (welche Spezies liegt vor) ab. In Teilstromanwendungen liegen die Wachstumsvorteile aufgrund der hohen Temperaturen meist bei den AOB, was den Betrieb tendenziell einfacher macht. Unter Hauptstrombedingungen können sich sowohl die Temperatur als auch die niedrigeren Substratverfügbarkeiten negativ für Konkurrenzfähigkeit der AOB auswirken. Als ausschlaggebende Einflussgrößen auf die Dynamik zwischen AOB und NOB sind vor allem die Temperatur, die Sauerstoffkonzentration, die Belüftungsstrategie, das Schlammalter, und die Ammoniumverfügbarkeit zu nennen. Außerdem können gezielt Hemmwirkungen z.B. von freiem Ammoniak oder salpetriger Säure, die beide je nach pH-Wert, Temperatur, und Ammonium-, respektive Nitrit-Konzentration, vorliegen, zur Unterdrückung von NOB genutzt werden (siehe auch Kapitel 3).

Einige Studien berichten aber auch von Problemen mit Nitritakkumulation bei niedrigen Temperaturen, ein kritischer Faktor für die Anwendbarkeit der Deammonifikation im Hinblick auf Ablaufgrenzwerte. Der Beginn von Nitritakkumulation wurde bei unterschiedlichen Temperaturen von $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Dosta et al. 2008), $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Persson et al. 2014) bzw. $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hu et al. 2013) beobachtet, wobei eine Erholung der Aktivität erst erreicht werden konnte nachdem die Temperatur wieder erhöht wurde. Bisher berichten nur Gilbert et al. (2014b) von einer Erholung von der Nitritakkumulation. In ihrer Studie beobachteten sie eine Akkumulation von Nitrit unter $13\text{ }^{\circ}\text{C}$, die jedoch bei $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ wieder abklang.

Die Temperatur spielt also in mehrerer Hinsicht eine wichtige Rolle beim Betrieb und der Optimierung der Hauptstrom-Deammonifikation.

2.2.2 Ammoniumkonzentration und Zulaufschwankungen

Der neben der Temperatur wohl entschiedenste Unterschied zwischen Deammonifikation im Teilstrom und im Hauptstrom liegt in den deutlich niedrigeren und gleichzeitig höher schwankenden Ammoniumkonzentrationen im Zulauf. Zusätzlich gelten für Anwendungen im Hauptstrom Ablaufgrenzwerte für Stickstoff (deutsche Abwasserverordnung: Mindestanforderung für Kläranlagen ab 5000 EW: $\text{NH}_4\text{-N} < 10 \text{ mg-N l}^{-1}$), wobei die Ammoniumablaufkonzentration für kommunale Kläranlagen meist bei $< 1 \text{ mg l}^{-1}$ liegen, was für die Umsetzung der Deammonifikation eine Herausforderung darstellt. In Teilstromanwendungen spielt der Ablaufwert meist nur eine untergeordnete Rolle.

Da verstärkt auf Biofilmsysteme in Form von Granula oder Trägerfixierten Biofilmen gesetzt wird, sind solch niedrige Ammoniumkonzentrationen schwierig zu erreichen, wenn die Umsatzleistung, und die NOB Unterdrückung beibehalten werden sollen. Eine Studie von Poot et al. (2016) zeigt, dass Ammoniumkonzentration von $2 - 5 \text{ mg-N l}^{-1}$ eine Untergrenze für den erfolgreichen Betrieb und eine Vermeidung von Nitratakkumulation darstellen.

3 Konzepte für die Umsetzung der Deammonifikation im Hauptstrom

3.1 Reaktorkonzepte

Die Deammonifikation im Hauptstrom kann ähnlich wie ihre Teilstromanwendungen in unterschiedlichen Reaktorkonfigurationen ausgeführt werden. Da für die Deammonifikation sowohl aerobe als auch anaerobe Bedingungen erforderlich sind, können Reaktorkonzepte wie sie für die Nitrifikation/Denitrifikation eingesetzt werden grundsätzlich auch für die Deammonifikation herangezogen werden.

Es besteht die Möglichkeit die Deammonifikation einstufig oder zweistufig zu betreiben. Zweistufige Systeme, bei denen Teil-Nitrifikation und Anammox räumlich in zwei Reaktoren getrennt werden, haben den Vorteil der besseren Überwach- und Optimierbarkeit der Einzelschritte, und es lassen sich höhere Umwandlungsraten erreichen (Perez et al. 2015). Dagegen können einstufige Systeme deutlich kompakter ausgeführt werden, und die Effekte der Konkurrenz

um Substrat (z.B. um Nitrit zwischen NOB und Anammox-Bakterien) werden so besser ausgenutzt. Lachgasemissionen sprechen tendenziell auch eher für einstufige Systeme, da Berichte auf erhöhte Lachgasemissionen aus der ersten Stufe hinweisen (Poot et al. 2016, Wang et al. 2016).

Als Schlammsysteme können sowohl Belebtschlamm, als auch Biofilmverfahren oder Hybridverfahren zum Einsatz kommen. Aus bisherigen Studien lässt sich ableiten, dass Biofilm-basierte Verfahren eine recht hohe Stabilität aufweisen, und im Hybridbetrieb gute Umsatzraten erzielen (Gilbert et al. 2014b, Gilbert et al. 2015, Laurenzi et al. 2016, Lotti et al. 2014a). Eine Übersicht zu möglichen Reaktorkonzepten findet sich in Abbildung 2.

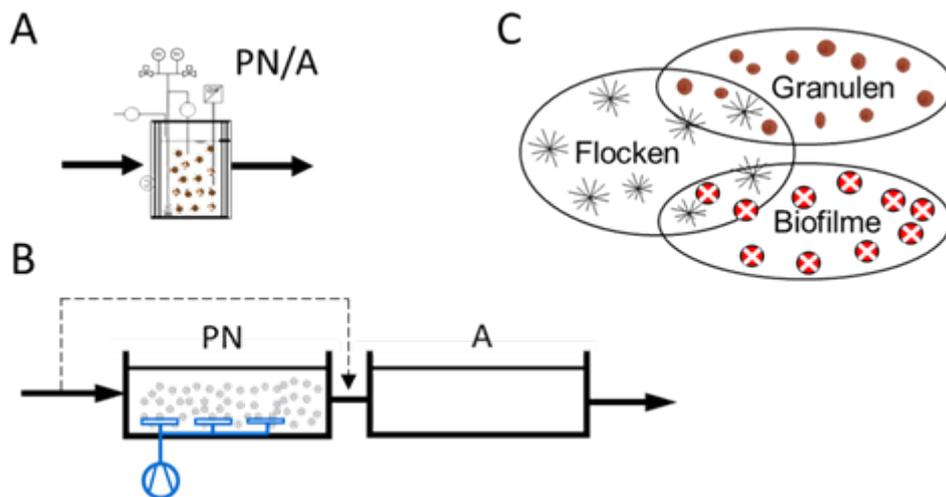


Abbildung 2: Reaktorkonzepte Hauptstrom-Deammonifikation (PN: partielle Nitritation, A: Anammox); A: einstufiges System; B: zweistufiges System; C: Biomassekompositionen

3.2 Betriebsstrategien

Eine stabile Deammonifikation im Hauptstrom erfordert gut abgestimmte und optimierte Betriebsparameter. Bisher wurden diverse Strategien untersucht und diskutiert. Insbesondere die Beeinflussung der mikrobiellen Konkurrenzsituation hin zu einer optimalen Ausnutzung von aerober und anaerober Ammoniumoxidation wurde intensiv untersucht. Bisher sind die Ergebnisse jedoch nicht einheitlich reproduzierbar und es besteht noch kein allgemeiner Konsens zur Steuerung solcher Deammonifikationssysteme.

Alle Betriebsstrategien verfolgen aber die gleiche Zielstellung. Die Strategien zielen darauf ab:

- (1) das Wachstum und die Aktivität von AOB und AnAOB zu fördern
- (2) Nitrit und Nitrat reduzierende heterotrophe Bakterien (HB_{NO_x-}) unter anoxischen Bedingungen mit einzubeziehen (Denitrifikation)
- (3) eine stabile Unterdrückung von NOB zu erreichen

Strategien die auf Basis der Beeinflussung von Aktivitäten der unterschiedlichen Bakteriengruppen wirken, werden im Folgenden als "ON/OFF" – Kontrolle bezeichnet. Neben der Schaffung günstiger Wachstumsbedingungen für die gewünschten Bakteriengruppen kann eine gezielte Beeinflussung der Aufenthaltszeiten der verschiedenen Bakteriengruppen als "IN/OUT" – Kontrolle genutzt werden und so:

- (1) NOB und heterotrophe Bakterien (HB_{NO_x-}) aus den Reaktoren auszuwaschen
- (2) gleichzeitig AOB und AnAOB stetig im System zu halten bzw. nachzuimpfen

(Agrawal et al. 2018). Dieses Konzept ist schematisch in Abbildung 3 dargestellt.

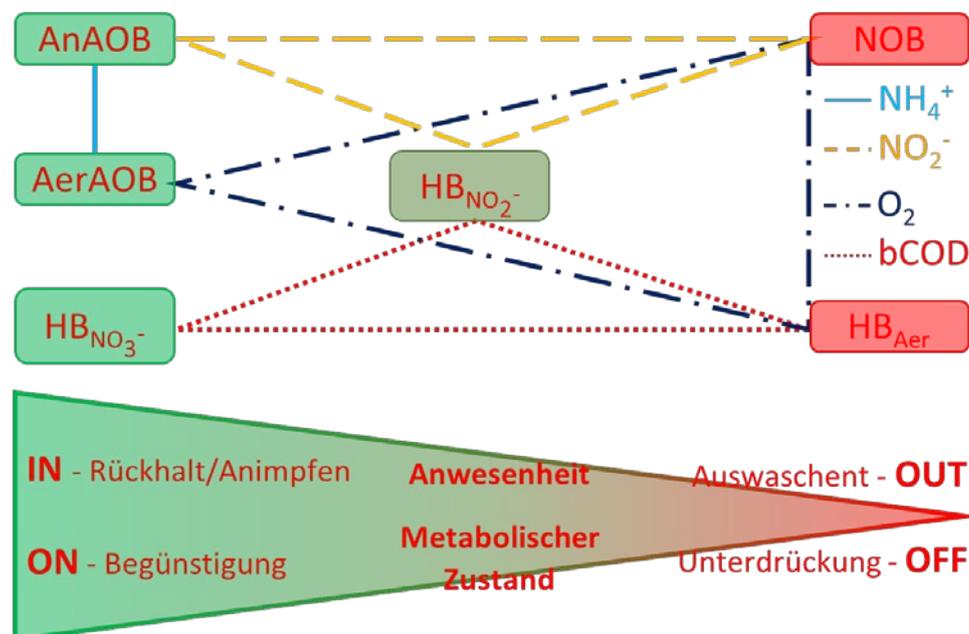


Abbildung 3: Konzept für die Etablierung der Hauptstrom Deammonifikation (nach Agrawal et al. (2018)); AnAOB: Anammox Bakterien; AerAOB aerob Ammonium oxidierende Bakterien; NOB: Nitrit oxidierende Bakterien; HB_{Aer} : aerobe heterotrophe Bakterien; HB_{NO_x-} : heterotrophe Denitrifikanten.

3.2.1 „ON/OFF“ – Konzepte

Betriebsstrategien die sich „ON/OFF – Konzepten bedienen, implementierten spezifische Sauerstoff- und / oder Substratversorgungsmuster. Dabei ist die Wahl der Belüftungsstrategie einer der wesentlichen Punkte die für eine erfolgreiche Umsetzung der Deammonifikation optimal eingestellt werden muss. Hier stehen sich nämlich gegensätzliche Interessen gegenüber. Zum einen ist Sauerstoff notwendig um Ammonium zu oxidieren und es gilt eine für die AOB Aktivität optimale Sauerstoffversorgung einzustellen. Auf der anderen Seite können Anammox-Bakterien, wenn auch reversibel, schon von Sauerstoffkonzentrationen um $0,04 \text{ mg l}^{-1}$ komplett gehemmt werden (Strous et al. 1997). Daher ist eine gute Abstimmung des Sauerstoffregimes und der Konzentration von entscheidender Bedeutung. Generell lassen sich die bisherigen Studien in zwei Kategorien einteilen, kontinuierliche Belüftung bei sehr niedrigen Konzentrationen und intermittierende Belüftung bei zeitweise deutlich höheren Konzentrationen.

Kontinuierlich niedrige O_2 -Sollwerte ($< 0,2 - 0,5 \text{ mg-O}_2 \text{ l}^{-1}$) waren in Studien von Lotti et al. (2014b) und Pérez et al. (2014) erfolgreich, die in Biofilmsystemen auch aufgrund der Diffusionslimitierung AnAOB-Sauerstoffhemmung minimieren konnten und gleichzeitig die Konkurrenz um Nitrit im Biofilm zum Vorteil der AnAOB verstärkten, um so NOB zu unterdrücken. Bei der intermittierenden Belüftung hingegen erfolgt die Sauerstoffzufuhr in kurzen (Minuten) intensiven Belüftungsphasen mit entsprechender Unterbrechung durch anoxische Phasen, die minimal 15-30 min andauern sollten (Gilbert et al. 2014a, Regmi et al. 2014, Wett et al. 2013) um die Verzögerung bei den NOB für deren Unterdrückung nutzen zu können. Hier werden typischerweise höhere O_2 -Sollwerte ($> 1,5 \text{ mg-O}_2 \text{ l}^{-1}$) angewendet, um die Aktivität von AOB gegenüber NOB zu maximieren. Die Auswahl der Belüftungsstrategie ist komplex, da sie sich auch auf andere Gestaltungsoptionen wie Biomassetyp oder Reaktorkonfiguration auswirkt. Die meisten Studien wenden nur eine der Strategien an und oft stehen zu wenig Informationen zu der mikrobiellen Zusammensetzung des Schlammes zur Verfügung um Vorhersagen über die Erfolgsaussichten der ein oder andere Strategie zu treffen (Agrawal et al. 2018).

Neben dem Belüftungsregime spielen noch weitere Betriebsparameter eine Rolle. So hat sich das Aufrechterhalten einer Restammoniumkonzentration von ca. $2 - 5 \text{ mg-N l}^{-1}$ als wirksam für eine stabile Unterdrückung der NOB Aktivität herausgestellt (Pérez et al. 2014, Poot et al. 2016). Eine Ammoniumrestkonzentration ermöglicht außerdem eine ausreichende Sauerstofflimitierung in Biofilmen und ist daher ein wichtiger

Kontrollparameter für einen stabilen Betrieb. Gleichzeitig schützt die Sauerstofflimitierung AnAOB vor einer Sauerstoffinhibierung (Lotti et al. 2014a). In flockulierten Systemen fördert das Restammonium die spezifische Wachstumsrate von AOB, und stellt so sicher, dass der gelöste Sauerstoff der geschwindigkeitsbestimmende Parameter während der Belüftung ist (Regmi et al. 2014, Wett et al. 2013).

Neben Belüftung und Restammoniumkonzentration wurde auch der gezielte Einsatz von freiem Ammoniak und salpetriger Säure als "ON/OFF" – Ansatz getestet. Da diese beiden Verbindungen meist keine für eine Hemmung relevanten Konzentrationen im Hauptstrom erreichen können haben einige Gruppen Konzepte entwickelt um die Biomasse wechselseitig Hemmbedingungen auszusetzen. Dazu wird entweder eine Behandlung des Rücklaufschlammes vorgeschlagen (Wang et al. 2016) oder ein Reaktor wechselseitig mit unterschiedlichen Abwasserströmen (Wechsel zwischen Haupt- und Teilstrom) beschickt (Piculell et al. 2016).

Eine Anwendung der Deammonifikation im Hauptstrom bedingt auch ein Überdenken der Verfahrensgestaltung hinsichtlich der Kohlenstoffelimination. Kommunales Abwasser hat ein deutlich höheres C:N Verhältnis im Vergleich zu Teilstromanwendungen, welches sich insbesondere bei den ungünstigen Temperaturverhältnissen im Hauptstrom negativ auf das Verhältnis von heterotrophen Bakterien gegenüber Anammox-Bakterien auswirken kann. Aber nicht nur deshalb ist eine effiziente Kohlenstoffelimination vor der Deammonifikationsstufe wichtig. Auch auf dem Weg zur Energieoptimierung von Kläranlagen ist eine effiziente Ausschleusung des biologisch verfügbaren CSB und die so bessere Nutzung des organischen Kohlenstoffs zur Biogaserzeugung in den letzten Jahren mehr und mehr in den Fokus gerückt.

Konzepte die eine hohe CSB Entnahme in einer ersten Stufe vorsehen können mit der Weiterentwicklung der Deammonifikation wieder interessant werden. Schon in den 1970iger Jahren begannen Versuche für eine energieoptimierte CSB (BSB₅) Elimination, die dann als Adsorptions-Belebungsverfahren als zwei-stufige Systeme ausgeführt wurden (Böhnke 1977). Mit der Einführung der Denitrifikation wurden solche Verfahren nicht weiterverfolgt, da der organische Kohlenstoff für die Denitrifikation benötigt wurde. Die Deammonifikation bietet hier die Wiederaufnahme und Optimierung dieser Konzepte (Meerburg et al. 2015).

So wurden in den letzten Jahren wieder mehr Studien zur Vorbehandlung mit dem Ziel Kohlenstoffausschleusung durchgeführt, um eine bessere Implementierung der Deammonifikation zu erleichtern. Mit solchen Kombinationen kann zum einen der organische Kohlenstoff vor der Stickstoff-

elimination aus dem Abwasser entfernen werden, zum anderen wird eine energieeffiziente Abwasserbehandlung durch Erhöhung der Methanproduktion möglich.

3.2.2 „IN / OUT“ – Konzepte

Die schon angesprochenen niedrigeren Temperaturen von 10 bis maximal 25 °C (auf kommunalen Kläranlagen in Mitteleuropa) senken die Wachstumsraten und Aktivitäten der für die Deammonifikation essentiellen Mikroorganismen (AOB und AnAOB). In Kombination mit der Konkurrenzsituation mit NOB und HB wird eine selektivere Kontrolle der Schlammverweilzeit der verschiedenen Fraktionen erforderlich. Deshalb haben sich insbesondere Reaktorkonzepte auf Biofilmbasis mit langen Schlammaltern, wie Granula oder Träger-basierte Biofilme bewährt (Gilbert et al. 2014b, Gilbert et al. 2015, Laurenzi et al. 2016, Lotti et al. 2014a, Lotti et al. 2014b). Da Anammox-Bakterien auch unter Hauptstrom-Bedingungen zur Granulierung neigen, wenden auch eher schlamm-basierte Systeme Konzepte für einen selektiven Rückhalt dieser Granula an. Der Biomasserückhalt kann entweder mittels Dichteseperation im Hydrozyklon (Wett et al. 2013) oder auch mittels Größenfraktionierung durch Siebe (Han et al. 2016) realisiert werden. Das Auswaschen von NOB und HB erfolgt in diesen Systemen über die kürzeren Verweilzeiten der flockigen Biomasse. Wett et al. (2013) nutzen außerdem Biomasse (Überschussschlamm) aus dem Teilstrom um den Hauptstrom kontinuierlich mit Anammox-Bakterien anzupflanzen.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Anwendung der Deammonifikation im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen möglich ist und neue Wege zur weiteren Energieeinsparung bereiten kann. Wichtig für einen stabilen Betrieb der Deammonifikation ist eine effektive Vorbehandlung zur Kohlenstoffelimination (A-Stufe) ohne die wohl auch eine Deammonifikation schwierig werden dürfte (Lotti et al. 2014a).

Weiterer Forschungsbedarf besteht sicher auch was den kombinierten Einsatz von Deammonifikation und Denitrifikation angeht, der sich einerseits wohl nicht vermeiden lassen wird, andererseits aber bei guter Steuerung und Abstimmung die Chance bietet stabil niedrige Ablaufwerte zu erreichen.

Außerdem bleiben die Umsatzleistung und die Vermeidung von Nitrit-Akkumulationen bei Temperaturen < 15 °C in Kombination mit einer

geeigneten Belüftungsstrategie weiter Gegenstand der Forschung und Entwicklung, da hier noch keine eindeutig optimale Betriebsstrategie gefunden werden konnte. Auch der effektive Biomasserückhalt ist und bleibt ein zentrales Thema bei der Optimierung.

Die Erkenntnisse der letzten Jahre stimmen jedoch positiv, dass die Umsetzung der Deammonifikation auch ihren Einzug in den Hauptstrom kommunaler Kläranlagen finden wird.

5 Literatur

- Agrawal, S., Seuntjens, D., De Cocker, P., Lackner, S. and Vlaeminck, S.E. (2018) Success of mainstream partial nitritation/anammox demands integration of engineering, microbiome and modeling insights. *Current Opinion in Biotechnology* in press.
- Böhnke, B. (1977) Das Adsorptions-Belebungsverfahren Korrespondenz Abwasser 24(2), 33-42.
- Dosta, J., Fernández, I., Vázquez-Padín, J.R., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Mata-Álvarez, J. and Méndez, R. (2008) Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *Journal of Hazardous Materials* 154(1-3), 688-693.
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F.C., Schwartz, T., Horn, H. and Lackner, S. (2014a) Response of different *Nitrospira* sp. to anoxic periods depends on operational DO. *Environmental Science & Technology* 48(5), 2934–2941.
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Karst, S.M., Horn, H., Nielsen, P.H. and Lackner, S. (2014b) Low Temperature Partial Nitritation/Anammox in a Moving Bed Biofilm Reactor Treating Low Strength Wastewater. *Environmental Science & Technology* 48(15), 8784-8792.
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Schwartz, T., Horn, H. and Lackner, S. (2015) Comparing different Reactor Configurations for Partial Nitritation/Anammox at low Temperatures. *Water Research* 81, 92-100.
- Guisasola, A., Petzet, S., Baeza, J.A., Carrera, J. and Lafuente, J. (2007) Inorganic carbon limitations on nitrification: Experimental assessment and modelling. *Water Research* 41(2), 277-286.
- Han, M., Vlaeminck, S.E., Al-Omari, A., Wett, B., Bott, C., Murthy, S. and De Clippeleir, H. (2016) Uncoupling the solids retention times of flocs and granules in mainstream deammonification: A screen as effective out-selection tool for nitrite oxidizing bacteria. *Bioresource Technology* 221(Supplement C), 195-204.
- Hendrickx, T.L.G., Kampman, C., Zeeman, G., Temmink, H., Hu, Z., Kartal, B. and Buisman, C.J.N. (2014) High specific activity for anammox bacteria enriched from activated sludge at 10°C. *Bioresource Technology* 163(0), 214-221.
- Hu, Z., Lotti, T., de Kreuk, M., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C.M., Kruit, J., Jetten, M.S.M. and Kartal, B. (2013) Nitrogen Removal by a Nitritation-Anammox Bioreactor at Low Temperature. *Applied and Environmental Microbiology* 79(8), 2807-2812.

- Isaka, K., Date, Y., Yuya, K., Sumino, T. and Satoshi, T. (2008) Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures. *FEMS Microbiology Letters* 282(1), 32-38.
- Jetten, M.S.M., Horn, S.J. and vanLoosdrecht, M.C.M. (1997) Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system. *Water Science and Technology* 35(9), 171-180.
- Kuenen, J.G. (2008) Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature Reviews Microbiology* 6(4), 320-326.
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014) Full-scale Partial Nitritation/Anammox Experiences - an Application Survey. *Water Research* 55, 292-303.
- Lackner, S., Thoma, K., Gilbert, E.M., Gander, W., Schreff, D. and Horn, H. (2015) Start-up of a full-scale deammonification SBR-treating effluent from digested sludge dewatering. *Water Science & Technology* 71(4), 553-559.
- Laureni, M., Falås, P., Robin, O., Wick, A., Weissbrodt, D.G., Nielsen, J.L., Ternes, T.A., Morgenroth, E. and Joss, A. (2016) Mainstream partial nitritation and anammox: long-term process stability and effluent quality at low temperatures. *Water Research* 101, 628-639.
- Laureni, M., Weissbrodt, D.G., Szivák, I., Robin, O., Nielsen, J.L., Morgenroth, E. and Joss, A. (2015) Activity and growth of anammox biomass on aerobically pre-treated municipal wastewater. *Water Research* 80, 325-336.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Hu, Z., Kartal, B., de Kreuk, M.K., van Erp Taalman Kip, C., Kruit, J., Hendrickx, T.L.G. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014a) Pilot-scale evaluation of anammox-based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater. *Environmental Technology* 36(9), 1167-1177.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Hu, Z., Kartal, B., Jetten, M.S.M. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014b) Simultaneous partial nitritation and anammox at low temperature with granular sludge. *Water Research* 66(0), 111-121.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Lubello, C. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014c) Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research* 60(0), 1-14.
- Lotti, T., Kleerebezem, R. and van Loosdrecht, M.C.M. (2015) Effect of temperature change on anammox activity. *Biotechnology and Bioengineering* 112(1), 98-103.
- Meerburg, F.A., Boon, N., Van Winckel, T., Vercamer, J.A.R., Nopens, I. and Vlaeminck, S.E. (2015) Toward energy-neutral wastewater treatment: A high-rate contact stabilization process to maximally recover sewage organics. *Bioresource Technology* 179(0), 373-381.
- Mulder, A., van de Graaf, A.A., Robertson, L.A. and Kuenen, J.G. (1995) Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology* 16(3), 177-183.
- Perez, J., Isanta, E. and Carrera, J. (2015) Would a two-stage N-removal be a suitable technology to implement at full scale the use of anammox for sewage treatment? *Water Science and Technology* 72(6), 858-864.
- Pérez, J., Lotti, T., Kleerebezem, R., Picioreanu, C. and van Loosdrecht, M.C.M. (2014) Outcompeting nitrite-oxidizing bacteria in single-stage nitrogen removal in sewage treatment plants: A model-based study. *Water Research* 66(1), 208-218.

- Persson, F., Sultana, R., Suarez, M., Hermansson, M., Plaza, E. and Wilén, B.-M. (2014) Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification–anammox at low temperatures. *Bioresource Technology* 154(0), 267-273.
- Piculell, M., Suarez, C., Li, C., Christensson, M., Persson, F., Wagner, M., Hermansson, M., Jönsson, K. and Welander, T. (2016) The inhibitory effects of reject water on nitrifying populations grown at different biofilm thickness. *Water Research* 104, 292-302.
- Poot, V., Hoekstra, M., Geleijnse, M.A.A., van Loosdrecht, M.C.M. and Pérez, J. (2016) Effects of the residual ammonium concentration on NOB repression during partial nitrification with granular sludge. *Water Research* 106(Supplement C), 518-530.
- Regmi, P., Miller, M.W., Holgate, B., Bunce, R., Park, H., Chandran, K., Wett, B., Murthy, S. and Bott, C.B. (2014) Control of aeration, aerobic SRT and COD input for mainstream nitrification/denitrification. *Water Research* 57(0), 162-171.
- Schipper, L.A., Hobbs, J.K., Rutledge, S. and Arcus, V.L. (2014) Thermodynamic theory explains the temperature optima of soil microbial processes and high Q10 values at low temperatures. *Global Change Biology* 20(11), 3578-3586.
- Schmidt, I., Sliemers, O., Schmid, M., Cirpus, I., Strous, M., Bock, E., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. (2002) Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria - competitors or natural partners? *FEMS Microbiology Ecology* 39(3), 175-181.
- Siegrist, H., Salzgeber, D., Eugster, J. and Joss, A. (2008) Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N-removal. *Water Science and Technology* 57(3), 383-388.
- Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M.W., Horn, M., Daims, H., Bartol-Mavel, D., Wincker, P., Barbe, V., Fonknechten, N., Vallenet, D., Seguren, B., Schenowitz-Truong, C., Médigue, C., Collingro, A., Snel, B., Dutilh, B.E., Op den Camp, H.J.M., van der Drift, C., Cirpus, I., van de Pas-Schoonen, K.T., Harhangi, H.R., van Niftrik, L., Schmid, M., Keltjens, J., van de Vossenberg, J., Kartal, B., Meier, H., Frishman, D., Huynen, M.A., Mewes, H.-W., Weissenbach, J., Jetten, M.S.M., Wagner, M. and Paslier, D.L. (2006) Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature* 440, 790-794.
- Strous, M., van Gerven, E., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S.M. (1997) Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 63(6), 2446-2448.
- Van Hulle, S.W.H., Vandeweyer, H.J.P., Meesschaert, B.D., Vanrolleghem, P.A., Dejans, P. and Dumoulin, A. (2010) Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *Chemical Engineering Journal* 162(1), 1-20.
- Wang, D., Wang, Q., Laloo, A.E. and Yuan, Z. (2016) Reducing N₂O Emission from a Domestic-Strength Nitrifying Culture by Free Nitrous Acid-Based Sludge Treatment. *Environmental Science & Technology* 50(14), 7425-7433.

- Wett, B., Omari, A., Podmirseg, S.M., Han, M., Akintayo, O., Brandon, M.G., Murthy, S., Bott, C., Hell, M., Takacs, I., Nyhuis, G. and O'Shaughnessy, M. (2013) Going for mainstream deammonification from bench to full scale for maximized resource efficiency. *Water Science and Technology* 68(2), 283-289.
- Wett, B. and Rauch, W. (2003) The role of inorganic carbon limitation in biological nitrogen removal of extremely ammonia concentrated wastewater. *Water Research* 37(5), 1100-1110.

Korrespondenz an:

Prof. Dr. Susanne Lackner

Technische Universität Darmstadt

Institut IWAR

Fachgebiet Abwasserwirtschaft

Franziska-Braun-Straße 7

D 64287 Darmstadt

Tel.: 06151/16 20301

Mail: s.lackner@iwar.tu-darmstadt.de

Abwasserreinigung mit aerob granuliertem Schlamm

Lydia Jahn, Karl Svardal, Jörg Krampe

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Abstract: Im Rahmen des Forschungsprojektes „KontiGran“ wurden labortechnische Anlagen betreut und Versuche zur aeroben Granulierung durchgeführt. Neben Untersuchungen zum Verhalten der aerob granulierten Biomasse im SBR, fokussierte das Projekt die aerobe Granulierung in einer kontinuierlich durchflossenen Versuchsanordnung. Die SBR-Versuche dienten dazu, grundlegende Erkenntnisse für die Umsetzung des Verfahrens in einer kontinuierlich durchflossenen Anlage zu erarbeiten. Für diese Fragestellung wurden die bisher bekannten Voraussetzungen für die aerobe Granulierung im SBR berücksichtigt. Vor allem die Anwendung einer anaeroben plug-flow Beschickung sowie die Selektion der Biomasse hinsichtlich ihrer Absetzeigenschaften sind hierfür notwendig. Für den kontinuierlich durchflossenen Versuchsaufbau wurde daher eine räumliche Trennung der im SBR periodisch ablaufenden Reinigungsphasen angestrebt und ein verhältnismäßig großes anaerobes Volumen, ein aerob-anoxischer Reaktor, sowie ein kleines Nachklärbecken gewählt. Die Schlämme der beiden Versuchsanlagen wurden nach der Inbetriebnahme hinsichtlich ihrer Struktur und Absetzeigenschaften verglichen. Im nachfolgenden Beitrag werden theoretische Grundlagen zur aerob granulierten Biomasse zusammengefasst sowie das Projekt mit der Versuchsdurchführung und wesentliche Erkenntnisse vorgestellt. Die Ergebnisse beziehen sich hierbei auf das Absetzverhalten der Biomasse (ISV, SV-Verhältnisse) sowie auf die Partikelgrößenverteilungen und die Reinigungsleistung.

Key Words: Aerob granulierter Schlamm, SBR, kontinuierlich durchflossener Betrieb

1 Allgemeines

1.1 Entdeckung und Entwicklung

Mishima und Nakamura (1991) beobachteten aerobe Granula erstmals bei dem Betrieb von aufwärts durchströmten Schwebebettreaktoren. Obwohl granulierter Schlamm bereits seit den 80er Jahren aus dem Bereich der anaeroben Abwasserreinigung, vor allem aus dem Betrieb von UASB-Reaktoren bekannt war, weckte die Entdeckung der aeroben Granula das Interesse verschiedener

Forschungsgruppen, die ausgesprochen guten Absetzeigenschaften der Biomasse für die biologische Abwasserreinigung zu nutzen. In den folgenden Jahren wurde intensive Forschungsarbeit unternommen, um die Bedingungen für die aerobe Granulierung zu verstehen und den Schlamm hinsichtlich seiner Eigenschaften und Zusammensetzung zu beschreiben. In ersten Laborversuchen im SBR wurde der aerob granuliertem Schlamm unter Verwendung einer aeroben Beschickung und hohen O₂-Konzentrationen gebildet (Beun et al., 1999; Morgenroth et al., 1997). Die Senkung der O₂-Konzentration nach der Inbetriebnahme führte jedoch zu einem Zerfall und Verlust der Granula (Mosquera-Corral et al., 2005). Erst mit der Implementierung einer anaeroben Beschickungsphase konnte die Stabilität der aeroben Granula wesentlich erhöht und ein dauerhaft stabiler Betrieb sichergestellt werden (de Kreuk und van Loosdrecht, 2004).

Aufbauend auf den Erkenntnissen aus Labor- und auch Pilotversuchen (Ede, Niederlande) wurde in einer Zusammenarbeit zwischen der Universität Delft und der Royal HaskoningDHV das Nereda-Verfahren entwickelt, welches auf der Nutzung von aerob granuliertem Schlamm (AGS) beruht. Eine erste kommunale Kläranlage (Epe, Niederlande) wurde 2011 mit dieser Technologie in Betrieb genommen. Weltweit sind 24 Anlagen mit dem Nereda-Verfahren in Betrieb oder in Planung (Lehmann and Kasper, 2017). Trotz der steigenden Anzahl an Anlagen mit AGS, bezieht sich die großtechnische Anwendung des Verfahrens bisher lediglich auf den Betrieb von SBR-Anlagen.

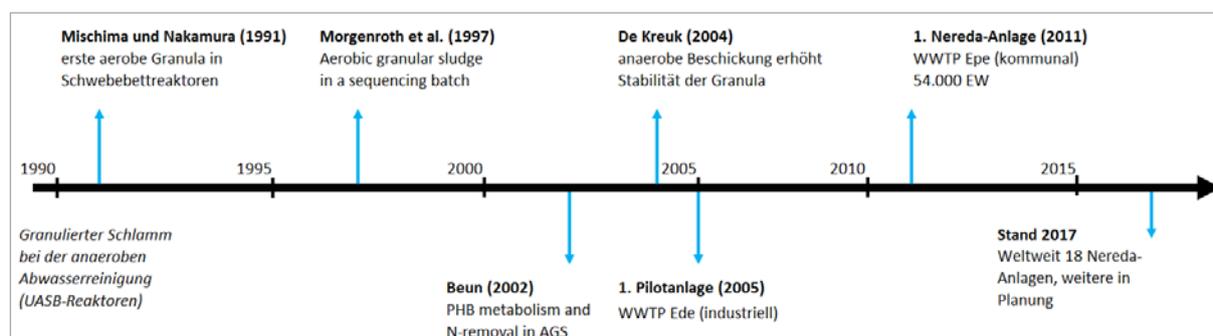


Abbildung 1: Zeitstrahl der Entwicklung und Anwendung von aerob granuliertem Schlamm bei der biologischen Abwasserreinigung

1.2 Definition und Eigenschaften

In einem ersten Workshop (München 2004) wurden Definitionen für AGS erarbeitet, die eine Abgrenzung der granulierten Biomasse vom herkömmlichen Belebtschlamm ermöglichen. AGS besteht demnach aus suspendierten Biofilmaggregaten, die sich ohne den Einsatz von Trägermaterialien bilden und nicht unter reduzierter Scherbeanspruchung koagulieren (Bathe et al., 2005). AGS setzt sich durch seine kompakte Struktur wesentlich schneller ab als flockiger Belebtschlamm. Diese

Eigenschaft der Biomasse wird genutzt, um eine effizientere Trennung des Schlammes vom gereinigten Abwasser zu realisieren und somit das Volumen für die Schlammabtrennung zu reduzieren. Aufgrund des guten Absetzverhaltens kann zudem der TS-Gehalt in der biologischen Stufe erhöht werden, ohne dass dies zu einer reduzierten Absetzgeschwindigkeit des Schlammбетtes führt. Seit einem zweiten Workshop (September 2006, Delft) wird die Siebung der granulierten Biomasse als eine Methode anerkannt, um AGS aus dem Belebtschlamm zu separieren.

Das ausgesprochen gute Absetzverhalten resultiert aus der Größe und der kompakten Struktur der Biomasse. Charakteristisch für AGS ist ein Durchmesser von mindestens 200 μm ; wobei der erforderliche Anteil dieser Partikelgröße nicht definiert ist. Eine gängige Methode zur Kontrolle des Absetzverhaltens von Belebtschlamm ist die Bestimmung des Schlammindex (ISV) [ml/g]. Bei der Reinigung von kommunalem Abwasser kann AGS einen ISV zwischen 40 und 60 ml/g erreichen (de Kreuk and van Loosdrecht, 2006; Schwarzenbeck et al., 2004; Wagner et al., 2015). Dieser Bereich liegt somit deutlich unter dem von flockigem Belebtschlamm, der üblicherweise mit 80 bis 120 ml/g angegeben wird. Eine weitere Beurteilung des Absetzverhaltens ist über die Bestimmung der Schlammvolumen (SV)-Verhältnisse nach 5, 10 und 30 min Absetzzeit möglich. Liegt das $\text{SV}_5/\text{SV}_{30}$ - bzw. $\text{SV}_{10}/\text{SV}_{30}$ -Verhältnis nahe 1, nimmt die Biomasse bereits nach 5 bzw. 10 min Absetzzeit ein vergleichbares Schlammvolumen ein, wie es sich nach 30 min Absetzzeit ergeben würde.

Eine weitere Eigenschaft des AGS ist die Fähigkeit zur simultanen Stickstoffentfernung. Aufgrund der kompakten Struktur bilden sich über die Granula verteilt Zonen mit unterschiedlichen Substrat- und Sauerstoffgradienten aus (Abbildung 2). Während im äußeren Bereich aerobe Bedingungen vorliegen und nitrifizierende Prozesse ablaufen, dominieren im Inneren der Granula anaerobe und anoxische Verhältnisse, sodass in diesen Bereichen denitrifiziert wird. Das Ausmaß der simultanen Stickstoffentfernung hängt hierbei neben der Partikelgröße auch von der O_2 -Konzentration und -Diffusion sowie der Verteilung der Mikroorganismen ab. Während die Ausbildung anoxischer Zonen in kleinen Granula durch die Sauerstoffdiffusion begrenzt ist, weisen Partikel mit einem großen Durchmesser, ein entsprechend größeres anoxisches Volumen auf.

Neben der Fähigkeit zur simultanen Stickstoffentfernung, ergibt sich durch die wechselnde Betriebsweise mit anaeroben und aeroben Bedingungen, das Potential zur vermehrten biologischen Phosphatentfernung. Fermentative Bakterien bauen hierbei zunächst CSB-Verbindungen des Zulaufs zu Acetat und Propionat ab. Phosphat akkumulierende Organismen (PAO) können diese Abbauprodukte unter anaeroben Bedingungen aufnehmen und in energiereiche zellinterne Poly-Hydroxyalkanoate (PHA) umwandeln. Unter aeroben Bedingungen verwenden

PAOs Sauerstoff als Elektronenakzeptor, wobei Ortho-Phosphat erneut aus dem Medium aufgenommen und die Poly-P-Reserve innerhalb der Zelle wieder aufgefüllt wird. Das im Vorfeld gespeicherte PHA wird als Energiequelle verwendet, um die Glykogenreserven wiederherzustellen, ATP (Adenosintriphosphat) zu generieren sowie neue Biomasse zu produzieren.

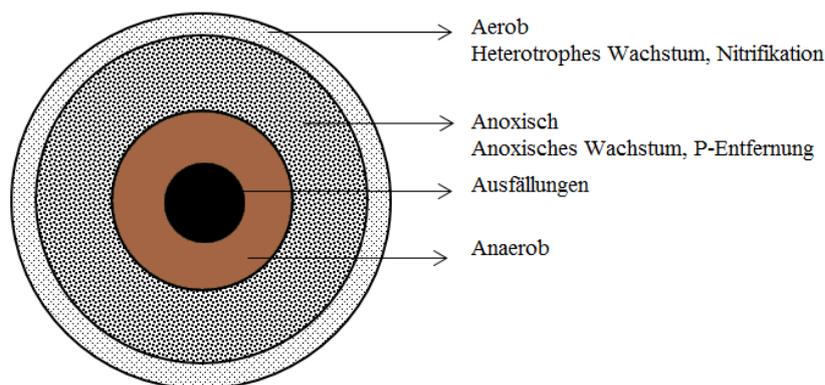


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Granula mit Zonen unterschiedlicher O₂-Konzentrationen

1.3 Voraussetzungen für eine aerobe Granulierung

Die aerobe Granulierung wird nach heutigem Wissensstand durch zwei wesentliche Bedingungen induziert. Dies ist zum einen die Anwendung einer anaeroben (plug-flow) Beschickung, wodurch die Ansiedlung langsam wachsender substratspeichernder Organismen (bspw. PAOs) begünstigt wird (de Kreuk und van Loosdrecht, 2004). Zum anderen ermöglicht die Einstellung kurzer Absetzzeiten während der Sedimentation die Trennung von schnell und langsam sedimentierender Biomasse. Durch den regelmäßigen Austrag flockiger Biomasse mit langsamer Absetzgeschwindigkeit, wird gezielt Schlamm im System zurückgehalten, der kompakter ist und gleichzeitig höhere Absetzgeschwindigkeiten aufweist.

In AGS wurden zudem vermehrt extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) nachgewiesen (Adav et al., 2008; Corsino et al., 2016; McSwain et al., 2005; Wang et al., 2005). EPS beeinflussen die physikalisch-chemischen Eigenschaften mikrobieller Aggregate, speziell die Oberflächenladung und Flockungseigenschaften und fördern somit deren Granulierung. EPS verbinden Bakterienzellen durch komplexe netzartige Strukturen mit hohem Wasseranteil und schützen die Zellen gleichzeitig gegen Entwässerung (Wingender et al., 1999).

1.4 Einflussfaktoren

Es gibt eine Vielzahl von Faktoren, welche die Struktur und das Verhalten von AGS direkt oder indirekt beeinflussen. Zahlreiche Studien untersuchten die Auswirkungen

von Temperatur, Belüftungs- und Beschickungsstrategien sowie der Reaktorgeometrie (McSwain et al., 2004; Winkler et al., 2012). Die folgende Tabelle fasst wesentliche Einflussfaktoren zusammen, die sich auf die Granulastruktur und Absetzeigenschaften auswirken.

Tabelle 1: Einflussfaktoren auf die Struktur der Granula

Parameter	Bedeutung
Belastung	Eine Erhöhung der Belastung führte zu einer schnelleren Bildung großer, aber weniger dichter Granula (Kim et al., 2008; Li et al., 2008; Moy et al., 2002).
Abwasserbeschaffenheit	Partikuläre Abwasserinhaltsstoffe begünstigen die Bildung unregelmäßiger Auswüchse (de Kreuk et al., 2010; Pronk et al., 2015a). Synthetisches Abwasser mit leicht verfügbarem Kohlenstoff fördert die Bildung regelmäßiger Granula mit sehr niedrigem ISV.
Nitrat	Das Auftreten erhöhter NO _x -N-Konzentrationen führt zu einer instabilen Struktur und höherem ISV. Anaerobe Bedingungen sind während der Beschickung unbedingt erforderlich.
Selektion	Die minimale Absetzgeschwindigkeit $v_{s,min}$ bestimmt den Anteil der flockigen Biomasse und der Schwebstoffe, die über den Ablauf ausgetragen werden.
Belüftung, Durchmischung	Eine erhöhte Scherbeanspruchung fördert die Bildung regelmäßiger Granula (McSwain et al., 2005; Sturm and Irvine, 2008; Tay et al., 2001). Die O ₂ -Konzentration bestimmt die Verteilung der aeroben und anoxischen Zonen innerhalb der Granula.

1.5 Vorzüge des Verfahrens und Forschungsbedarf

Im Folgenden werden die Vorzüge des Verfahrens mit aerob granuliertem Schlamm sowie der bestehende Optimierungsbedarf zusammengefasst. Die Nutzung von AGS im Rahmen der biologischen Abwasserreinigung ermöglicht:

- Die Planung kleinerer SBR-Anlagen aufgrund einer kürzeren erforderlichen Absetzzeit des Schlammes (kürzere SBR-Zyklen insgesamt) (Pronk et al., 2017).

- Die gegenüber herkömmlichem Belebtschlamm besseren Absetzeigenschaften ermöglichen den Betrieb mit höheren TS-Gehalten und erhöhen somit die Behandlungskapazität der Anlagen.
- Durch fehlende Rührer und Rücklaufschlammführung, sowie aufgrund eines geringeren Energiebedarfes in der biologischen Stufe, ergibt sich ein insgesamt niedrigerer Energieverbrauch (Giesen and Thompson, 2013; Pronk et al., 2017).
- Der erhöhte EPS-Gehalt bietet eine größere Resistenz gegenüber toxischen Einwirkungen (Bassin et al., 2011).
- Durch die gezielte biologische P-Entfernung reduziert sich der Fällmittelbedarf.

Für die großtechnische Anwendung von AGS besteht weiterhin Forschungs- bzw. Optimierungsbedarf hinsichtlich:

- der Dauer der Inbetriebnahme (Die aerobe Granulierung erfordert eine gewisse Einlaufzeit, um die geforderte Reinigungsleistung zu erreichen).
- der teils erhöhten Schwebstoffkonzentrationen im Ablauf, welche eine zusätzliche Reinigungsstufe erfordern (nachgeschaltete Filterstufe).
- der Anwendung des Verfahrens für kontinuierlich durchflossene Belebungsbecken.

2 Forschungsprojekt „KontiGran“

2.1 Zielsetzung

Das Projekt „Granulares Belebtschlammverfahren in kontinuierlich durchflossenen Anlagen (KontiGran)“, gefördert vom Ministerium für ein lebenswertes Österreich, umfasste einen Zeitraum von 30 Monaten. Im Rahmen des Projektes wurden Erfahrungen zum Betrieb von AGS im SBR erarbeitet als auch Versuche zur aeroben Granulierung in einer kontinuierlich durchflossenen Versuchsanordnung durchgeführt. Da die Mehrzahl der Kläranlagen in Österreich als kontinuierlich durchflossene Belebungsanlagen konzipiert ist, ergab sich als vordergründige Fragestellung, unter welchen Bedingungen das Verfahren mit AGS in einer kontinuierlich durchflossenen Anlage umgesetzt werden kann. Für diesen Schwerpunkt wurden drei Versuchsphasen durchgeführt und die aus dem SBR-Betrieb bekannten Anforderungen für die Granulierung berücksichtigt. Die wesentlichen Fragestellungen für die kontinuierlich durchflossene Anlage waren hierbei:

- Unter welchen Bedingungen ist eine aerobe Granulierung im Durchlaufbetrieb möglich?
- Wie kann der Versuchsaufbau gestaltet und betrieben werden?
- Inwieweit verändern sich die Schlammstruktur und die Absetzeigenschaften?
- Welche Reinigungsleistung ergibt sich mit den gewählten Einstellungen?

Die SBR-Versuche dienten zur Beschreibung folgender Punkte:

- Verlauf und Dauer der aeroben Granulierung,
- Schlammstruktur, Partikelgrößen und Absetzeigenschaften,
- Bewertung der Reinigungsleistung, Ablaufqualität und Schwebstoffe,
- Auswirkungen unterschiedlicher Belüftungsstrategien auf die Ges.N.-Entfernung
- Grundlegende Erkenntnisse für die Umsetzung des Verfahrens im kontinuierlich durchflossenen Betrieb

Vor dem Hintergrund der großtechnischen Anwendung des Verfahrens für die biologische Abwasserreinigung ergaben sich weitere Fragestellungen hinsichtlich der Auswirkungen auf die nachfolgenden Prozessschritte, der Schlammbehandlung und -Entwässerung sowie bzgl. der Auswirkungen auf die Emissionen an klimarelevantem N₂O. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind nicht Bestandteil des Beitrages.

2.2 SBR-Versuche

2.2.1 Versuchsaufbau und -Betrieb

Der Versuchsbetrieb im SBR war in vier Phasen unterteilt. Im Rahmen des Beitrages wird nur auf einzelne Ergebnisse der Versuchsphasen, speziell der Versuchsphase 1, eingegangen. Während der Versuchsphase 1 wurde eine Zyklusdauer von 3 h mit einer anaeroben Beschickung von 60 min angewendet. Abbildung 3 zeigt den Reaktorzustand während der einzelnen zeitlichen Phasen mit Beschickung, Belüftung und Sedimentation.

Der Reaktor wurde zu Beginn der Versuche mit flockigem Belebtschlamm einer kommunalen Kläranlage befüllt. Das Volumen des Reaktors betrug entsprechend der Beschickungsmenge 6-8 L. Die Austauschverhältnisse lagen zwischen 30 und 40% und somit in einem üblichen Bereich für SBR-Anlagen (DWA, 2010). Für die Einstellungen der einzelnen Zyklusphasen wurde eine Siemens Logo Steuerung

genutzt, die den automatisierten Betrieb von Pumpen, Abzug (Schlauchquetschventil) und Belüftung ermöglichte. Das für die Versuche verwendete kommunale Abwasser wurde in einem Vorlagebehälter bereitgestellt. Die Beschickung erfolgte als vertikaler plug-flow durch das am Reaktorboden abgesetzte Schlammbett. Die Raum- und Schlammbelastungen lagen zwischen 0,5 bis 1,0 gCSB/(L·d) sowie 0,25 bis 0,35 gCSB/(gTS·d). Ab der zweiten Versuchsphase wurde eine Sauerstoffsonde (Endress und Hauser, Oxymax COS61D) zur Belüftungsregelung sowie eine kombinierte pH-/Redoxsonde (Endress und Hauser, Memosens, Model CPS16D) verwendet. Die Sauerstoffsonde ermöglichte über die Vorgabe von Minimal- und Maximalwerten die Einstellung vorgegebener Konzentrationen sowie die fortlaufende Aufzeichnung der online-Messdaten in der Messnetzplattform iTUWmon. Nach Ende der belüfteten Phase sowie der eingestellten Absetzzeit öffnete sich ein zeitgesteuertes Schlauchquetschventil. Überstehender Ablauf floss im freien Gefälle aus dem Reaktor, wobei ein Ausgangsvolumen von 4 L zurückgehalten wurde. Nach dem Schließen des Ventils startete der Zyklus erneut mit einer anaeroben Beschickung.

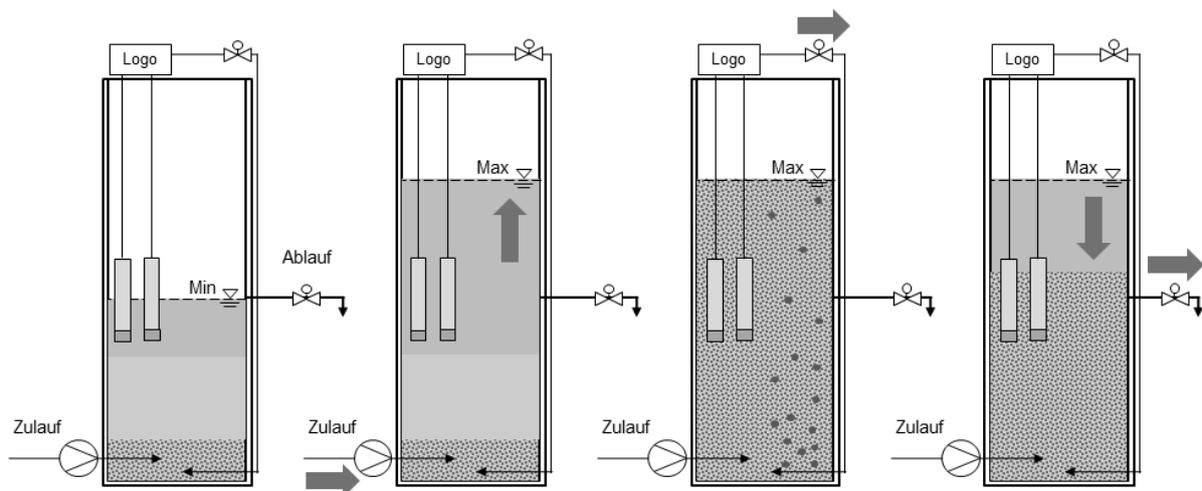


Abbildung 3: Beschickung Anfang, Beschickung Ende, Belüftungsphase, Sedimentation und Ablauf (von links nach rechts)

2.2.2 Struktur und Absetzverhalten

Im Rahmen der SBR-Versuche wurden zunächst der Verlauf und die Dauer der Granulierung unter Berücksichtigung der Schlammstruktur, Partikelgrößen und Absetzeigenschaften beschrieben. Abbildung 4 zeigt den ISV sowie die minimale Absetzgeschwindigkeit $v_{s,min}$ während der Versuchsphase 1. Der Parameter $v_{s,min}$ ergibt sich als Quotient der Sedimentationshöhe L und der vorgegebenen Absetzzeit t [Einheit: m/h] (Wang et al., 2006). Je größer $v_{s,min}$ ist, desto höher ist der Anteil der Biomasse, der über den Ablauf ausgeschwemmt wird. Der Austrag von flockiger Biomasse während der Einfahrphase ist erwünscht, um schneller sedimentierende Biomasse gezielt im System anzureichern. Während der Inbetriebnahme des SBR in

Versuchsphase 1 wurde ein $v_{s,min}$ von ca. 3 m/h eingestellt und somit ein ISV von ca. 60 ml/g erreicht. Die anschließende Erhöhung von $v_{s,min}$ auf 4 m/h führte zu einer weiteren Abnahme des ISV auf 40 ml/g. Dieser Wert konnte jedoch nicht dauerhaft gehalten werden, sodass ab Versuchstag 125 der ISV zwischen 50 und 60 ml/g schwankte.

Im Verlauf der Inbetriebnahme konnte eine zunehmend kompaktere Schlammstruktur mit der Ausbildung einzelner Granula beobachtet werden. Der Versuchsbetrieb zeigte, dass mit den für die SBR-Anlagen gewählten Einstellungen eine Granulierung innerhalb von 20 bis 28 Tagen erreicht werden konnte. Das SV_{10}/SV_{30} -Verhältnis der granulierten Biomasse lag nach der Inbetriebnahme bei 1,0 bis 1,1. Im Vergleich dazu weist flockiger Belebtschlamm meist ein SV_{10}/SV_{30} -Verhältnis von 1,5 bis 1,8 auf. Die Absetzgeschwindigkeiten einzelner Granula erreichten während dieser Versuchsphase bis zu 23 m/h, wohingegen für konventionellen Belebtschlamm ein Bereich von 7 bis 10 m/h angegeben wird.

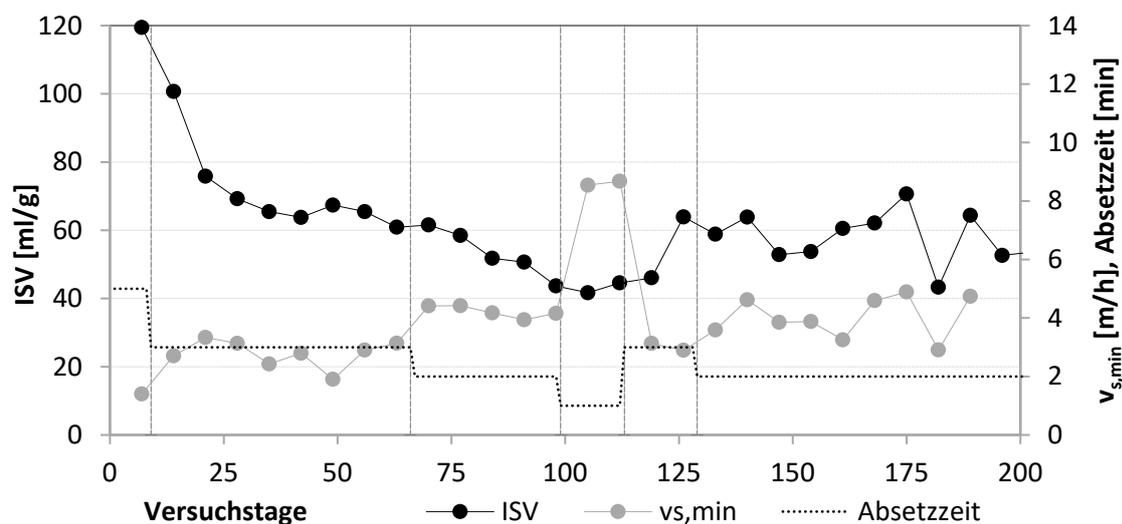


Abbildung 4: Verlauf des ISV, $v_{s,min}$ und Absetzzeit für Versuchsphase 1

Ergänzend wurden die Partikelgrößenverteilungen eines flockigen Vergleichsschlammes und eines AGS aus dem SBR gemessen. Der AGS wurde an Versuchstag 186 aus dem Reaktor entnommen und wies bei der Entnahme einen ISV von 63 ml/g und ein SV_{10}/SV_{30} -Verhältnis von 1,14 auf. Die Partikelgrößenverteilung veranschaulicht, dass ca. 50% der Biomasse des flockigen Belebtschlammes kleiner als 235 μm waren. Im Vergleich dazu waren ca. 50% der Partikel des AGS größer als 548 μm und lediglich 10% der Biomasse kleiner als 143 μm . Diese Messung veranschaulicht die Unterschiede der Partikelgrößen zwischen flockigem und granuliertem Schlamm. Dennoch lag auch nach längerem Versuchsbetrieb ein hoher Anteil an flockiger Biomasse in der granulierten Schlammsuspension vor. Pronk et al. (2015b) als auch Wagner et al. (2015) berichten, dass bei der Reinigung von kommunalem Abwasser mit partikulären Stoffen immer ein Anteil an flockiger

Biomasse im System erhalten bleibt. Der flockige Anteil resultiert hierbei aus Schwebstoffen des Zulaufs, abgetrennten Partikeln der granulierten Biomasse und aus dem Biomassenwachstum auf zugeführten polymeren Substrat (de Kreuk et al., 2010). Der flockige Anteil trägt dabei zum Rückhalt von Schwebstoffen (SS) bei, indem diese an die Oberfläche der Flocken adsorbiert werden.

Charakteristisch für die aerob granuliert Biomasse sind ein erhöhtes Auftreten festsitzender Ciliaten sowie ein geringeres Auftreten fadenförmiger Organismen. Abbildung 5 zeigt mikroskopische Aufnahmen von Granula mit und ohne Bewuchs von Glockenkolonien und die hierbei ermittelten Absetzgeschwindigkeiten (links, Mitte). Wie anhand begleitender Absetzversuche festgestellt werden konnte, führte die teils massenhafte Entwicklung von Glockentierchen an der Oberfläche der Granula zu einer Abnahme der Absetzgeschwindigkeit. Dennoch wird auch berichtet, dass das Auftreten von Glockentierchen die Ablaufqualität durch die Filtrierung des Abwassers begünstigt (Li et al., 2013; Pronk et al., 2015b).

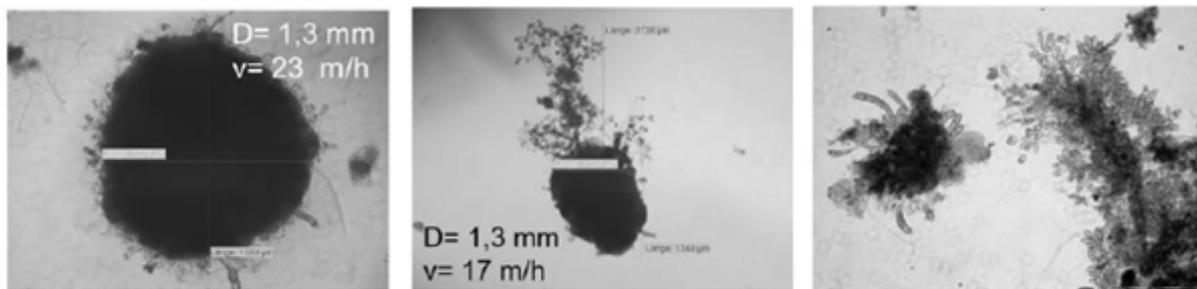


Abbildung 5: Absetzgeschwindigkeit von Granula ohne (links) und mit festsitzenden Ciliaten (Mitte) sowie die massenhafte Entwicklung von Räder- und Glockentierchen (rechts)

Das vermehrte Wachstum von Glocken- und Rädertierchen (Rotaria) an der Granulaoberfläche wurde auch von Li et al. (2013) bei der Beschickung eines Reaktors mit kommunalem Abwasser beobachtet. Durch den gezielten Rückhalt der gut absetzbaren Biomasse erhöht sich zu Beginn der Granulierung das Schlammalter. In der Folge wachsen zunächst vereinzelte Glocken auf den Granula auf. Da aufgrund der fortschreitenden Granulierung und der reduzierten spezifischen Oberfläche des Schlammes, weniger Schwebstoffe an die Belebtschlammflocken adsorbiert werden, ergibt sich ein hohes Substratangebot, welches die Bildung großer Glockenkolonien begünstigt. In den SBR-Versuchen des Projektes KontiGran wurde zudem ein erhöhtes Auftreten von Rotaria beobachtet. Im Vergleich zu Glockentierchen besitzen Rotaria eine längere Generationszeit (Li et al., 2013) und wurden daher erst zu einem späteren Zeitpunkt im Versuchsbetrieb beobachtet.

Während der Untersuchungen (Versuchsphase 1 bis 4) wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten und Betriebsbedingungen die Partikelgrößen-verteilerungen der Schlämme gemessen. Abbildung 6 zeigt den ISV bzw. die Mittel der volumetrischen

Äquivalentdurchmesser der Proben in Korrelation zu $v_{s,min}$. Die Werte für $v_{s,min}$ lagen hierbei zwischen 1,7 und 5,8 m/h. Mit einem höheren $v_{s,min}$ konnte insgesamt eine Zunahme der Partikelgrößen festgestellt werden, da kleinere Partikel mit langsamerer Sinkgeschwindigkeit regelmäßig ausgewaschen werden. Dies führt folglich zu einer höheren Belastung der einzelnen Granula, die wiederum größer und schneller wachsen. Bei einem $v_{s,min}$ von 5,8 m/h lag das Mittel des volumetrischen Äquivalentdurchmessers der Partikel bei 900 μm . Bei dieser Messung wurde jedoch im Vorfeld synthetisches Abwasser verwendet, wobei anzunehmen ist, dass die Dosierung einer gut verfügbaren Kohlenstoffquelle ohne partikuläre Abwasserinhaltsstoffe die Bildung regelmäßiger kompakter Granula begünstigt hat (de Kreuk et al., 2010; Pronk et al., 2015a). Im Weiteren wurde beobachtet, dass die Granula mit einem größeren Durchmesser einen signifikant niedrigeren ISV erreichten. Die Ergebnisse veranschaulichen den Zusammenhang zwischen der Selektion während der Sedimentation und der Partikelgrößen sowie dem ISV der AGS. Von einem weiteren Zusammenhang zwischen dem Granulierungsgrad (Anteil der Granula zur gesamten Biomasse) und den Schwebstoffen im Ablauf berichten Rocktäschel et al. (2015), wobei mit einem Granulierungsgrad von über 80% die SS-Konzentrationen im Ablauf nicht unter 50 mg/L gehalten werden konnte.

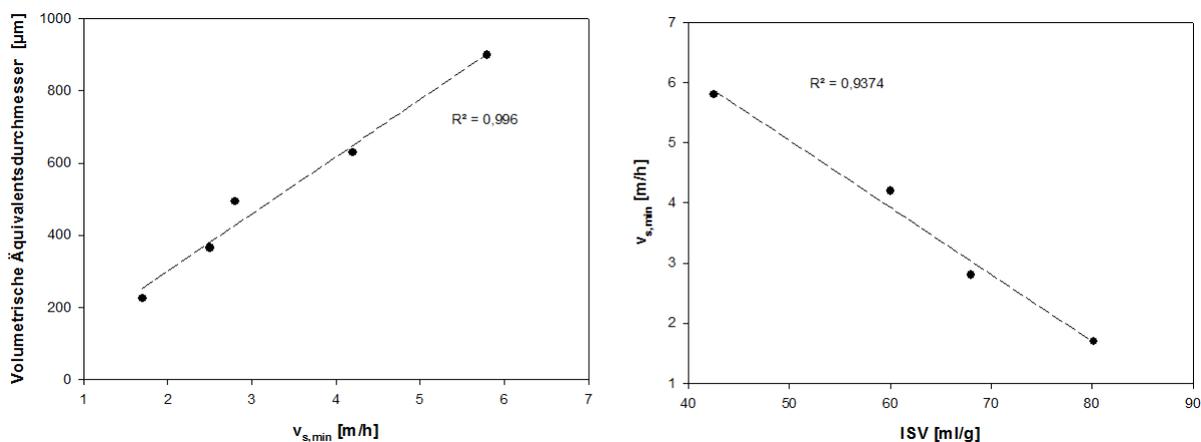


Abbildung 6: Korrelation zwischen $v_{s,min}$ und dem Mittel des volumetrischen Äquivalentdurchmessers sowie dem ISV

2.2.3 Stickstoffentfernung

Abbildung 4 zeigt die CSB-, Ges.N.- und Ges.P.-Entfernung während der Versuchsphase 1. Die CSB- und $\text{NH}_4\text{-N}$ -Entfernung erreichten im Durchschnitt 82,6% und 88,3%. Die Nitrifikationsrate betrug 3,3 bis 3,7 $\text{mgNH}_4\text{ N}/(\text{gTS h})$.

Bis zum Versuchstag 100 konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Ges.N.-Entfernung beobachtet werden. Die Ges.N.-Entfernung hängt neben der Belastung auch von der O_2 -Konzentration und dem Durchmesser der Granula ab. Somit bestimmt die Sauerstoffdiffusion die Verteilung der aeroben und anoxischen Zonen innerhalb der

Granula. Die Zunahme der Granuladurchmesser (Partikelgrößenverteilung) führt gleichzeitig zu einer Vergrößerung der anoxischen Zonen innerhalb der Biomasse und erklärt somit die Zunahme der Ges.N.-Entfernung im Verlauf des Versuchsbetriebes. Darüber hinaus zeigte sich eine Korrelation zwischen Ges.N.- und Ges.P.-Entfernung. Die Ges.P.-Entfernung erreichte während der Versuche 50 bis 90%. Das Ausmaß der biologischen Phosphatentfernung hängt von mehreren Faktoren ab, wie dem Schlammalter, der Temperatur und Abwasserzusammensetzung sowie dem Gehalt an Phosphat akkumulierenden Organismen (PAO). Winkler et al. (2011) untersuchten die Verteilung von PAOs und GAOs (Glykogen akkumulierende Organismen) bei Temperaturen von 20 und 30 °C und fanden einen Wachstumsvorteil für GAOs in dem höheren Temperaturbereich. Da PAOs und GAOs um das gleiche Substrat konkurrieren und GAOs nicht in der Lage sind, vermehrt Phosphat aufzunehmen, ist das Wachstum dieser Organismen weniger erwünscht. Eine geeignete Strategie zur gezielten Anreicherung von PAOs wurde in einer selektiven Entfernung von Granula aus dem oberen Schlammbett gefunden (Winkler et al., 2011). In der vorliegenden Studie wurde jedoch, um auch ältere und besonders große Granula zu entfernen, der Überschussschlamm während der belüfteten Phase unter gemischten Bedingungen entfernt. Eine im Vergleich zu den Literaturangaben niedrigere Ges.P.-Entfernung kann vermutlich auf diese Strategie zurückgeführt werden.

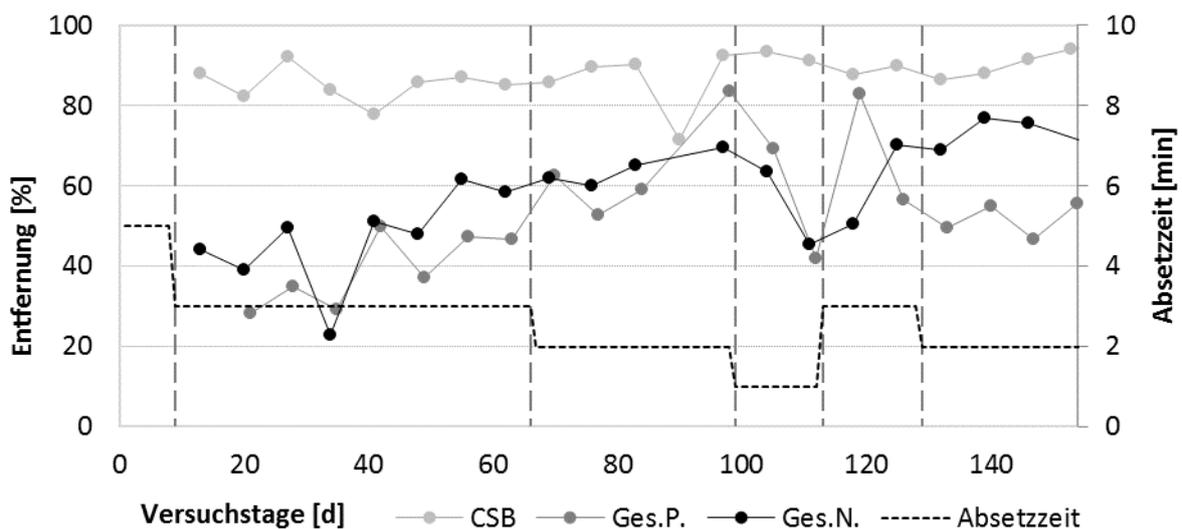


Abbildung 7: Absetzzeit, CSB-, Ges.N.- und Ges.P.-Entfernung des SBR

2.2.4 Optimierungsbedarf

Anhand der Ergebnisse wird deutlich, dass der flockige Anteil im AGS für den Rückhalt von Schwebstoffen bedeutend ist und ein permanenter Austrag von Flocken über ein zu hohes $v_{s,min}$ den Rückhalt von Schwebstoffen reduziert. Trotz der

guten Reinigungsleistung und Absetzeigenschaften ergaben sich zum Teil sehr hohe Schwebstoffkonzentrationen (über 100 mg/L) im Ablauf der Reaktoren, sodass eine großtechnische Filtration des Ablaufs erforderlich sein kann.

Mit den Versuchen konnte zudem ein Zusammenhang zwischen hohen $\text{NO}_x\text{-N}$ -Konzentrationen und dem Absetzverhalten der Biomasse festgestellt werden. Der Anstieg der $\text{NO}_x\text{-N}$ -Konzentrationen verursachte hierbei eine Zunahme des ISV, während der granulierten Belebtschlamm eine weiterhin kompakte Struktur aufwies. Als Erklärung kann eine unzureichende Ausbildung anaerober Bedingungen während der Beschickung genannt werden, wodurch der Wachstumsvorteil für die substratspeichernden Organismen reduziert wird, die für die Bildung kompakter Granula erforderlich sind. Mit einer internen Rezirkulation von Überstand während der Beschickung konnten die $\text{NO}_x\text{-N}$ -Konzentrationen gesenkt werden, was zu einer erneuten Verbesserung der Absetzeigenschaften führte.

2.3 Kontinuierlich durchflossener Versuchsbetrieb

2.3.1 Versuchsaufbau und –Betrieb

Bei der kontinuierlich durchflossenen Anlage wurde eine räumliche Trennung der anaeroben und aerob-anoxischen SBR-Phasen umgesetzt. Die Gestaltung und der Betrieb der anaeroben Stufe wurden in drei Versuchsphasen variiert. Der Beitrag fasst den Betrieb und die Ergebnisse der ersten Versuchsphase zusammen. Diese Versuchsphase umfasste einen Zeitraum von 121 Tagen. Abbildung 8 zeigt eine Skizze des Versuchsaufbaus. Da sich in den SBR-Versuchen der Einsatz der anaeroben plug-flow Beschickung für die aerobe Granulierung bewährt hat, wurde für diese Versuchsphase ein geteilt anaerobes Volumen gewählt. Die anaerobe Stufe bestand aus einem horizontal durchflossenen Rohrreaktor mit einem Volumen von 2,4 L und einem gerührten Reaktor mit 6,4 L. Mit dem Rohrreaktor wurde ein horizontal durchflossener plug-flow Betrieb nachgestellt. Diese Betriebsweise wurde gewählt, um die Biomasse hohen Substrat-konzentrationen auszusetzen, wie es auch bei der Beschickung durch das Schlammbett im SBR erfolgt. Im Durchschnitt wurden 44 L/d zur Anlage gepumpt. Das Verhältnis des anaeroben Volumens zum Gesamtvolumen betrug ca. 18% und war mit dem Verhältnis der anaeroben Beschickungsdauer zur Gesamtzykluszeit im SBR vergleichbar (20-25%). Die Nachklärung umfasste ein Volumen von 2,3 L und wurde vertikal durchströmt. Die Oberflächenbeschickung der Nachklärung q_A betrug im Mittel 0,23 m/h. Die mittlere Schlammvolumen-beschickung q_{sv} lag bei 53 L/(m²·h). Der Rücklaufschlamm wurde von der Nachklärung zurück in den anaeroben Reaktor gepumpt, wobei das Rücklaufschlammverhältnis im Mittel 1,6 betrug. Der Schwebstoffabtrieb wurde über einen nachgeschalteten Sammelbehälter erfasst.

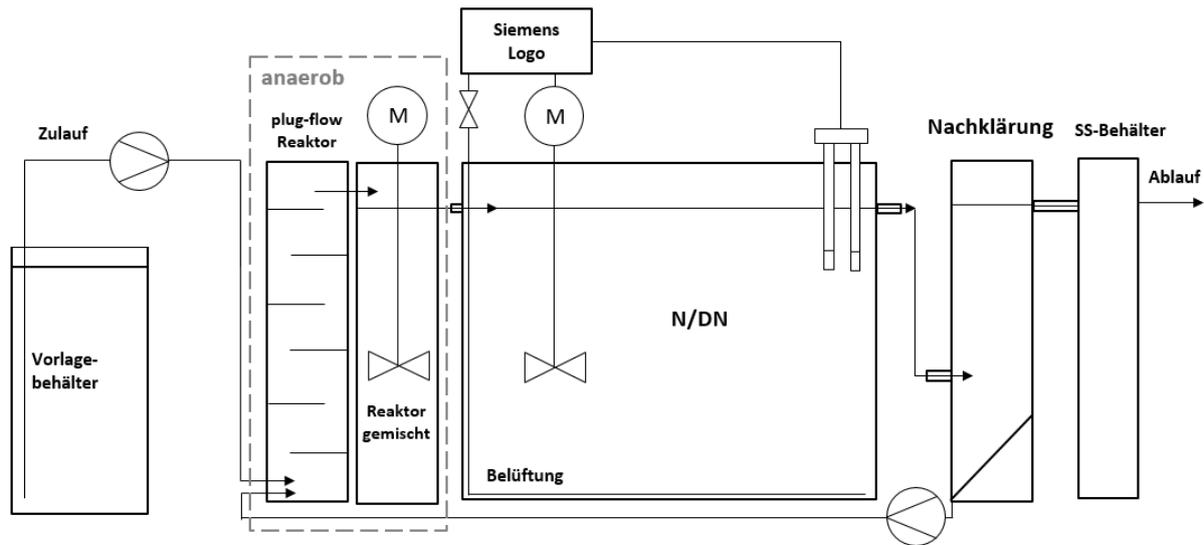


Abbildung 8: Versuchsanordnung der kontinuierlich durchflossenen Anlage

Die Anlage wurde zu Versuchsbeginn mit flockigem Belebtschlamm einer kommunalen Kläranlage befüllt. Für die dargestellte Versuchsphase wurde vorgeklärtes Abwasser einer kommunalen Kläranlage verwendet. Die mittleren N/CSB- sowie P/CSB-Verhältnisse ergaben sich mit 0,12 und 0,02. Die Ges.P.-Konzentration betrug im Mittel 11,8 mg/L. Die Schlammbelastung wurde in Anlehnung an die SBR-Versuche mit im Mittel 0,36 gCSB/(gTS·d) eingestellt, die Raumbelastung lag im Durchschnitt bei 0,7 gCSB/(L·d). Die Belüftung erfolgte intermittierend in Belüftungsgrenzen zwischen 2 mg/L und 3 mg/L für einen Zeitraum von 40 min. Anschließend folgte eine 20-minütige Belüftungspause für die Denitrifikation.

2.3.2 Struktur und Absetzverhalten

Abbildung 9 zeigt Mikroskopaufnahmen des Schlammes aus dem kontinuierlichen Versuchsbetrieb. Mit der gewählten Betriebsweise konnten im Vergleich zum Impfschlamm deutlich größere und kompaktere Strukturen, ähnlich wie mit dem SBR-Betrieb, erzeugt werden. Es wurde zudem ein erhöhtes Auftreten von Zoogloea festgestellt, was häufig für AGS berichtet wird. Das Auftreten festsitzender Ciliaten war im Vergleich zu der granulierten Biomasse aus dem SBR weniger stark ausgeprägt. Dennoch konnten vereinzelte Kolonien von Glocken- und auch Rädertierchen an der Oberfläche der Granula beobachtet werden.

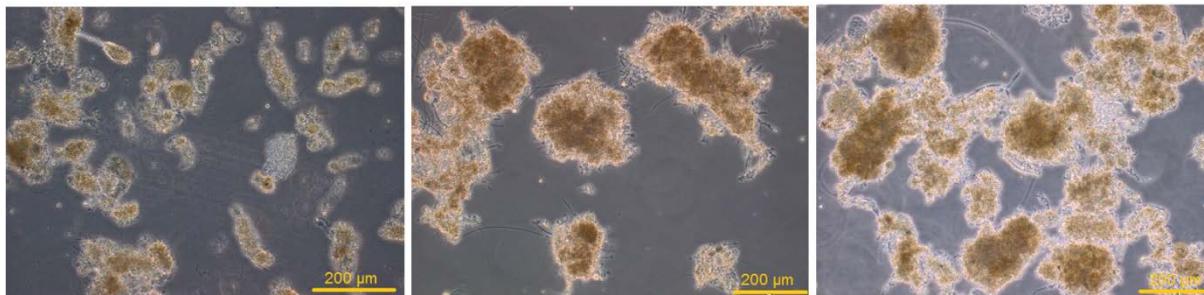


Abbildung 9: Mikroskopische Aufnahmen des Schlammes während der Versuchsphase 1

Ziel der Untersuchungen war es, dass Absetzverhalten der Biomasse zu beschreiben, wobei dieselben Bewertungskriterien wie für die SBR-Versuche angewendet wurden. Die nachfolgende Abbildung 10 zeigt den Verlauf der SV_5/SV_{30} - und SV_{10}/SV_{30} -Verhältnisse. Für beide Parameter konnte über den Versuchszeitraum eine Abnahme festgestellt werden. Während das SV_5/SV_{30} -Verhältnis zu Versuchsbeginn bei ca. 2,5 lag, konnte das Verhältnis bis zum Ende der Versuchsphase auf ca. 1,5 gesenkt werden. Ein ähnlicher Verlauf ergab sich für das SV_{10}/SV_{30} -Verhältnis, wobei eine stetige Abnahme von ca. 1,6 auf 1,2 möglich war.

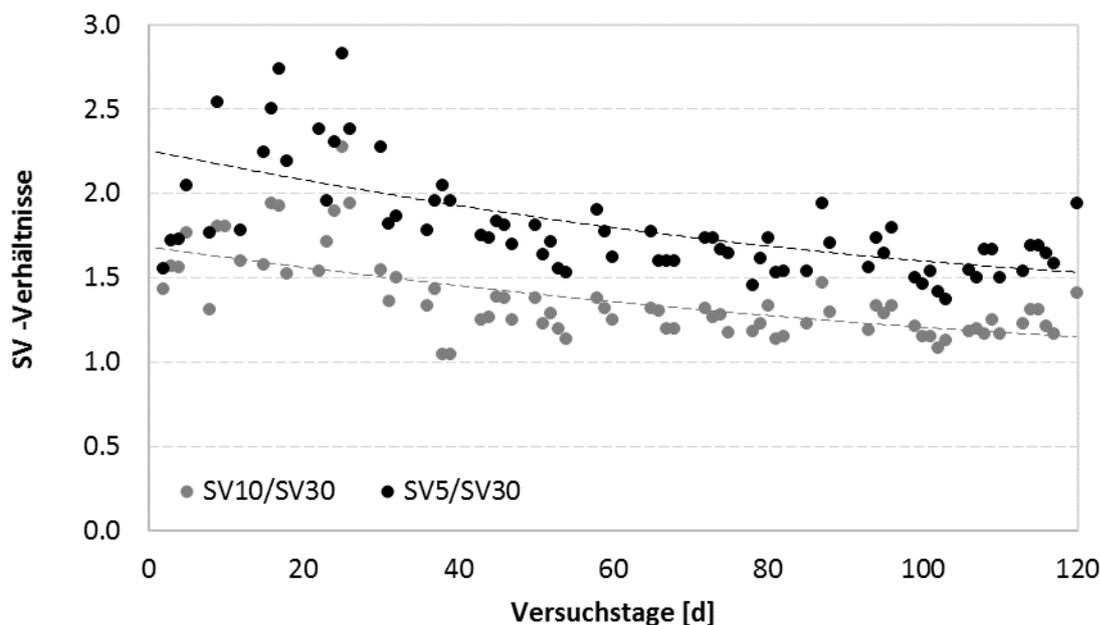


Abbildung 10: Verlauf der SV_5/SV_{30} - und SV_{10}/SV_{30} -Verhältnisse während der Versuchsphase

Abbildung 11 zeigt den Verlauf des ISV für die Versuchsphase 1. Der ISV konnte mit den gewählten Prozessbedingungen auf bis zu 80 bis 85 ml/g gesenkt werden und pendelte in diesem Bereich bis zum Versuchstag 79, an dem es zu einem Auftreten von Nitrat in der anaeroben Stufe kam. In der Folge erhöhte sich der ISV auf über 100 ml/g. Wie auch mit dem SBR-Betrieb gesehen werden konnte, zeigte sich die Einhaltung anaerober Bedingungen als unbedingt erforderlich, um einen niedrigen ISV und gute Absetzeigenschaften zu erreichen.

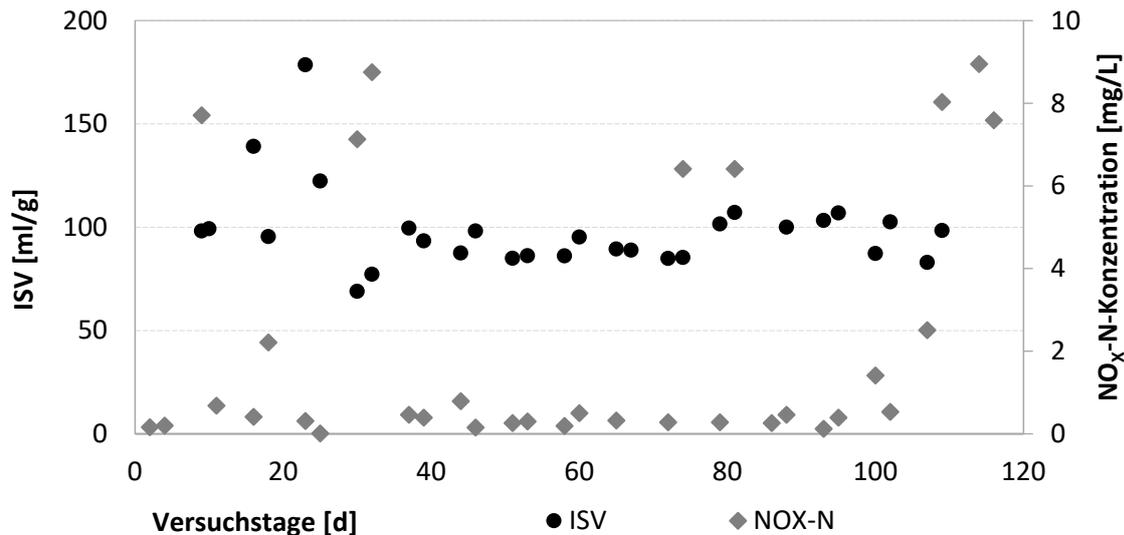


Abbildung 11: Verlauf des ISV und NO_x-N-Konzentration im Ablauf des anaeroben Reaktors

An Versuchstag 102 wurde Schlamm aus der kontinuierlich durchflossenen Anlage und dem SBR entnommen und die Partikelgrößenverteilungen gemessen (Abbildung 12). Bei der Probe des flockigen Belebtschlammes waren ca. 90% der Partikel kleiner als 400 µm. Die größten Strukturen konnten für den AGS aus dem SBR festgestellt werden. Hierbei waren etwa 50% der Partikel größer als 450 µm und lediglich 10% kleiner als 146 µm. Für den aerob granulierten Schlamm aus der kontinuierlich durchflossenen Anlage lagen ca. 50% der Partikel mit einer Größe von über 300 µm vor, wobei lediglich 10% kleiner als 110 µm waren. Die Messung verdeutlicht die im Vergleich zum flockigen Belebtschlamm insgesamt vergrößerten Strukturen der Biomasse aus der kontinuierlich durchflossenen Anlage. Laut der Definition von AGS wird eine Größe von mehr als 200 µm vorausgesetzt, sodass mit den gewählten Versuchseinstellungen ca. 72% der gemessenen Partikel diese Größe erreichten.

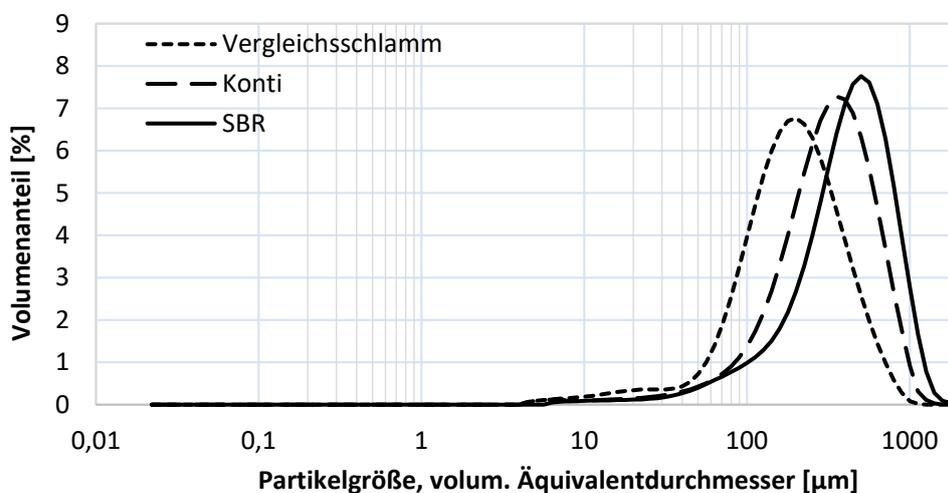


Abbildung 12: Partikelgrößenverteilung des Schlammes aus der kontinuierlich durchflossenen Anlage im Vergleich mit AGS aus dem SBR und flockigen Belebtschlamm

2.3.3 Reinigungsleistung

Die Aufgabe des anaeroben Reaktors besteht darin, den substratspeichernden Organismen bevorzugte Wachstumsbedingungen zu bieten. In dieser anaeroben Stufe kommt es zu einer Adsorption und Aufnahme von zugeführtem Substrat (CSB). Der CSB soll hierbei möglichst weitgehend gespeichert werden, um ein aerobes Wachstum zu vermeiden. Die CSB-Konzentrationen im Ablauf der anaeroben Stufen lagen im Durchschnitt bei 47 mg/L. Anhand der Zu- und Ablaufwerte ergab sich somit eine CSB-Reduktion von durchschnittlich 76%. Im Ablauf der anaeroben Stufe ergaben sich Phosphatkonzentrationen von bis zu 24 mg/L, welche durch eine Rücklösung verursacht wurden. Das Auftreten von $\text{NO}_x\text{-N}$ an einzelnen Versuchstagen zeigt, dass nicht durchgehend anaerobe Bedingungen sichergestellt werden konnten. In diesem Zusammenhang wurde keine bzw. eine verringerte Phosphatrücklösung beobachtet.

Im Folgenden wird die Reinigungsleistung bzw. Entfernung der relevanten Parameter beschrieben. Die CSB-Entfernung während der Versuchsphase 1 lag zwischen 87,1 und 97,8%. Im Durchschnitt ergab sich die CSB-Entfernung mit 95,3%. Die Ges.N.-Entfernung lag mit ein paar wenigen Ausnahmen bei 78,9%. Die Ergebnisse zeigen eine Korrelation zwischen der Ges.N.- und Ges.P.-Entfernung. Beispielsweise wurde an den Versuchstagen 77, 112 und 119 eine verringerte Ges.N.- und gleichzeitig eine verringerte Ges.P.-Entfernung verzeichnet. Die Ges.P.-Entfernung lag an den übrigen Versuchstagen zwischen 43 und 80%.

2.3.4 Zusammenfassung und Ausblick

Mit dem Betrieb der kontinuierlich durchflossenen Anlage war es möglich, eine Biomasse anzureichern, die überwiegend (>72%) aus Granula mit Durchmessern von über 200 μm bestand. Hierbei muss angemerkt werden, dass kommunales Abwasser für die Beschickung und herkömmlicher Belebtschlamm als Impfschlamm für die Versuche verwendet wurden, während die bisher veröffentlichten Studien zumeist auf der Verwendung von bereits granuliertem Schlamm bzw. synthetischem Abwasser basierten (Liu et al., 2012). Die Dauer der Granulierung umfasste ca. 40 Tage bei einer mittleren Schlammbelastung von 0,36 gCSB/(gTS·d). Die mikroskopischen Aufnahmen des Schlammes während der Versuchsphase zeigen zahlreiche große und kompakte Schlammpartikel in einer sonst weitgehend flockigen Biomasse.

Die aerob granuliert Biomasse war insgesamt kleiner als in den SBR-Versuchen. Als Ursache für die kleineren Granula können Scherkräfte, verursacht durch den Einsatz der Rührer in den anaeroben sowie aeroben Reaktoren angenommen werden. Rocktäschel et al. (2013) berichteten von kleineren Granula in einem SBR, bei dem

der Beschickung ein anschließendes anaerobes Mischen folgte, im Vergleich zu einem Reaktor, der nach der Beschickung nicht gerührt wurde. Nor Anuar et al. (2007) untersuchten in einer Studie die Auswirkungen von Mischern auf die Absetzbarkeit eines granulierten Schlammes und fanden geringfügig reduzierte Absetzgeschwindigkeiten bei höheren Scherraten. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die durch das Mischen verursachte Turbulenz und die damit verbundene Abscherung einen Einfluss auf das Absetzverhalten des AGS besitzen. Neben dem Effekt der Rührenergie auf die Struktur und das Absetzverhalten der Granula ergibt sich ein weiterer Einfluss durch die erforderliche Schlammförderung (Rücklaufschlammumpen). Es besteht demnach weiterer Optimierungs- und Forschungsbedarf für die Anwendung von AGS in kontinuierlich durchflossenen Belebungsanlagen sowie dem Einfluss der maschinellen Ausrüstung auf die Struktur und das Absetzverhalten der Granula.

3 Literatur

- Adav, S.S., Lee, D.J., Tay, J.H., 2008. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule. *Water Res* 42, 1644-1650.
- Bathe, S., De Kreuk, M.K., McSwain, B.S., Schwarzenbeck, N., 2005. Aerobic granular sludge London Water and Environmental Management Series (WEMS).
- Beun, J.J., Hendriks, A., van Loosdrecht, M.C.M., Morgenroth, E., Wilderer, P.A., Heijnen, J.J., 1999. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Res* 33, 2283–2290.
- Corsino, S.F., Capodici, M., Torregrossa, M., Viviani, G., 2016. Fate of aerobic granular sludge in the long-term: The role of EPSs on the clogging of granular sludge porosity. *J Environ Manage* 183, 541-550.
- de Kreuk, M.K., Kishida, N., Tsuneda, S., Loosdrecht, M.C.M., 2010. Behavior of polymeric substrates in an aerobic granular sludge system. *Water Res* 44, 5929-5938.
- de Kreuk, M.K., van Loosdrecht, M.C.M., 2004. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. *Water Sci Technol* 49, 9-17.
- de Kreuk, M.K., van Loosdrecht, M.C.M., 2006. Formation of aerobic granules with domestic sewage. *J Environ Eng* 132, 694-697.
- Giesen, A., Thompson, A., 2013. Aerobic granular biomass for cost-effective, energy efficient and sustainable wastewater treatment 7th European Waste Water Management Conference.
- Kim, I.S., Kim, S.M., Jang, A., 2008. Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates. *Bioresour Technol* 99, 18-25.
- Lehmann, C., Kasper, M., 2017. Nered - Leistungsfähiges biologisches Abwasserbehandlungsverfahren für die Schweiz. *Aqua & Gas* 1.

- Li, A.J., Yang, S.F., Li, X.Y., Gu, J.D., 2008. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates. *Water Res* 42, 3552-3560.
- Li, J., Ma, L., Wei, S., Horn, H., 2013. Aerobic granules dwelling vorticella and rotifers in an SBR fed with domestic wastewater. *Separation and Purification Technology* 110, 127-131.
- Liu, H., Li, Y., Yang, C., Pu, W., He, L., Bo, F., 2012. Stable aerobic granules in continuous-flow bioreactor with self-forming dynamic membrane. *Bioresour Technol* 121, 111-118.
- McSwain, B.S., Irvine, R.L., Hausner, M., Wilderer, P.A., 2005. Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. *Appl Environ Microbiol* 71, 1051-1057.
- McSwain, B.S., Irvine, R.L., Wilderer, P.A., 2004. The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure. *Water Sci Technol* 49, 19-25.
- Mishima, K., Nakamura, M., 1991. Self-Immobilization of aerobic activated sludge- A pilot study of the aerobic upflow sludge blanket process in municipal sewage treatment. *Water Sci Technol* 23, 981-990.
- Morgenroth, E., Sherden, T., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., Wilderer, P.A., 1997. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Res* 31, 3191-3194.
- Mosquera-Corral, A., de Kreuk, M.K., Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C., 2005. Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. *Water Res* 39, 2676-2686.
- Moy, B.Y.P., Tay, J.H., Toh, S.K., Liu, Y., Tay, S.T.L., 2002. High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. *Lett Appl Microbiol* 34, 407-412.
- Nor Anuar, A., Ujang, Z., van Loosdrecht, M.C., de Kreuk, M.K., 2007. Settling behaviour of aerobic granular sludge. *Water Sci Technol* 56, 55-63.
- Pronk, M., Abbas, B., Al-zuhairy, S.H.K., Kraan, R., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M., 2015a. Effect and behaviour of different substrates in relation to the formation of aerobic granular sludge. *Appl Microbiol Biotechnol* 99, 5257-5268.
- Pronk, M., de Kreuk, M.K., de Bruin, B., Kamminga, P., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C., 2015b. Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment. *Water Res* 84, 207-217.
- Pronk, M., Giesen, A., Thompson, A., Robertson, S., van Loosdrecht, M., 2017. Aerobic granular biomass technology: advancements in design, applications and further developments. *Water Practice and Technology* 12, 987-996.
- Rocktäschel, T., Klarmann, C., Helmreich, B., Ochoa, J., Boisson, P., Sorensen, K.H., Horn, H., 2013. Comparison of two different anaerobic feeding strategies to establish a stable aerobic granulated sludge bed. *Water Res* 47, 6423-6431.
- Rocktäschel, T., Klarmann, C., Ochoa, J., Boisson, P., Sørensen, K., Horn, H., 2015. Influence of the granulation grade on the concentration of suspended solids in the effluent of a pilot scale sequencing batch reactor operated with aerobic granular sludge. *Separation and Purification Technology* 142, 234-241.

- Schwarzenbeck, N., Erley, R., Wilderer P.A., 2004. Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. *Water Science & Technology* 11-12 41-46.
- Sturm, B.S., Irvine, R.L., 2008. Dissolved oxygen as a key parameter to aerobic granule formation. *Water Sci Technol* 58, 781-787.
- Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y., 2001. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules. *Letters in Applied Microbiology* 33, 222-226.
- Wagner, J., Weissbrodt, D.G., Manguin, V., da Costa, R.H., Morgenroth, E., Derlon, N., 2015. Effect of particulate organic substrate on aerobic granulation and operating conditions of sequencing batch reactors. *Water Res* 85, 158-166.
- Wang, Z.W., Liu, Y., Tay, J.H., 2005. Distribution of EPS and cell surface hydrophobicity in aerobic granules. *Appl Microbiol Biotechnol* 69, 469-473.
- Wang, Z.W., Liu, Y., Tay, J.H., 2006. The role of SBR mixed liquor volume exchange ratio in aerobic granulation. *Chemosphere* 62, 767-771.
- Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.-C., 1999. What are Bacterial Extracellular Polymeric Substances?, in: Wingender, J., Neu, T.R., Flemming, H.-C. (Eds.), *Microbial Extracellular Polymeric Substances, Characterization, Structure and Function*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, pp. 1-19.
- Winkler, M.K., Bassin, J.P., Kleerebezem, R., de Bruin, L.M., van den Brand, T.P., van Loosdrecht, M.C., 2011. Selective sludge removal in a segregated aerobic granular biomass system as a strategy to control PAO-GAO competition at high temperatures. *Water Res* 45, 3291-3299.
- Winkler, M.K.H., Bassin, J.P., Kleerebezem, R., van der Lans, R.G.J.M., van Loosdrecht, M.C.M., 2012. Temperature and salt effects on settling velocity in granular sludge technology. *Water Res* 46, 3897-3902.

Korrespondenz an:

Lydia Jahn

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement
Technische Universität Wien
Karlsplatz 13
1040 Wien

Tel.: + 43 588 01 22631

Mail: ljahn@iwag.tuwien.ac.at

Deammonifikation im Nebenstrom: Das DEMON[®]-Verfahren aus mikrobiologischer Sicht

Thomas Pümpel ¹⁾, Benjamin Bachmann ^{1) 2)}, Bernhard Wett ³⁾

¹⁾ Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie,

²⁾ Abwasserverband Zirl und Umgebung

³⁾ ARAconsult GmbH, Innsbruck

Abstract: Für die biologische Behandlung von Schlammwasser aus der Klärschlammfäulung durch Deammonifikation ist das DEMON[®]-Verfahren mit derzeit rund 80 installierten Anlagen Marktführer. In dem Einschlammsystem mit intermittierender Belüftung organisieren sich die Mikroorganismen in leichten Flocken und kompakten Granula mit unterschiedlichen Abbauaktivitäten. Die physikalischen und mikrobiologischen Charakteristika dieser speziellen Biomasse und das Prinzip des DEMON[®]-Verfahrens, die Steuerung der Balance zwischen den aeroben und anaeroben biologischen Prozessen, werden beschrieben.

Key Words: Demon, Granula, Anammox, Schlammwasserbehandlung

1 Einleitung

Die modernen Schlagworte „Energieeffiziente Abwasserreinigung“, das „Energie-Plus-Klärwerk“ oder „vom Klärwerk zum Kraftwerk“ sind heute keine leeren Versprechungen mehr, sondern stehen für bereits funktionierende Konzepte aktueller Abwasserreinigung. Stetige Verbesserungen bei herkömmlichen Anlagen und Anlagenkonzepten wie der Einsatz effizienterer Pumpen und optimierter Steuerungsstrategien, die Ausschleusung von organischem Kohlenstoff aus der Wasserlinie in die Schlammlinie (A- bzw. Adsorptionsstufe), der weitgehende Verzicht auf elektro-mechanische Ausrüstung (alternative Verfahrenskonzepte wie BIOCOS[®]) und nicht zuletzt die Nutzung des in den 1990er Jahren entdeckten mikrobiellen Stoffwechselweges „Anammox“ haben diese Erfolge möglich gemacht.

Schon bald nach der zufälligen Entdeckung der autotrophen, anaeroben Ammoniumoxidation (Anammox) in einem ursprünglich denitrifizierenden Wirbelbettreaktor zur Behandlung von Prozesswasser aus einem Biogasreaktor (Mulder et al., 1995) wurde die enorme Bedeutung des Prozesses für die Abwasserreinigung klar. Mit der Kombination autotropher, aerober und anaerober Ammoniumoxidation, der Deammonifikation, kann auf einen Beitrag heterotropher Organismen zur Denitrifikation und damit auf die Zudosierung von organischem Kohlenstoff wie Methanol für Abwässer mit geringem C/N-Verhältnis vollkommen verzichtet werden. Und der um 60% geringere Sauerstoffbedarf schlägt mit entsprechenden Einsparungen bei der Belüftungsenergie zu Buche.

Beim ersten realisierten Konzept „Sharon-Anammox“ (van Dongen et al., 2001) setzte man auf ein zweistufiges Verfahren mit räumlich getrennter aerober und anaerober Ammoniumoxidation. Nachdem bekannt wurde, dass die Anammoxbakterien durch gelösten Sauerstoff nicht irreversibel gehemmt werden, wurden mehrere einstufige Verfahren mit gemischter Biomasse zur technischen Reife entwickelt. Dabei laufen die beiden Prozesse entweder simultan bei sehr geringen Sauerstoffkonzentrationen ab wie bei CANON, (Third et al., 2001) oder Anammox[®] (Abma et al., 2007), kleinräumig getrennt in unterschiedlichen Tiefen in Träger-gestützten Biofilmen wie bei ANITA[™] Mox, (Christensson et al., 2013), oder sequentiell mit intermittierender Belüftung wie bei DEMON[®] (Wett, 2006).

2 Das DEMON[®] Verfahren

2.1 Pionieranlage Strass

An der Kläranlage Strass im Zillertal wurde bereits ab 1997 ein SBR-Verfahren mit einer gezielten Abkürzung im Stickstoff-Metabolismus (Nitritation/Denitritation bzw. Nitrite-Shunt) zur Prozesswasserreinigung betrieben. Trotz großer Zufriedenheit seitens der Betreiber wurde 2003 beschlossen, mit der Deammonifikation einen weiteren Innovationssprung zu versuchen. Beginnend mit einer Schlammprobe aus einer Versuchsanlage der EAWAG in Zürich wurde über einen Zeitraum von zwei Jahren die Biomasse in Rührkesselreaktoren von 0,3 und 2,4 m³ Volumen und schließlich im 500 m³ SBR-Becken angereichert. Ende 2004 erreichte man den Zielwert von 250 kg Ammoniumstickstoffumsatz pro Tag durch Deammonifikation.

Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, korrespondiert mit der Umstellung auf das DEMON®-Verfahren sowohl eine Reduktion des Energieverbrauchs als auch eine Steigerung der Energieeigenproduktion. Für den ursprünglichen Betrieb der Nitrifikation/Denitrifikation an der ARA Strass wurde Primärschlamm als Kohlenstoffquelle zudosiert. Nach der Umstellung auf Deammonifikation konnte auf diese Kohlenstoffdosierung völlig verzichtet und der gesamte Schlamm den Faultürmen zugeführt werden. Ohne Kohlenstoffdosierung entfiel nicht nur der Sauerstoffverbrauch für die teilweise aerobe Stabilisierung, sondern es erhöhte sich zudem das Biogaspotential beim anaeroben Abbau im Faulturm um ca. 7%. Der spezifische Energieverbrauch wurde von im Mittel 2,9 auf 1,1 kWh/kg N (minus ca. 62%) abgesenkt, bezogen auf die eliminierte Ammoniumfracht. Die Gesamtbilanz verbesserte sich durch die Summe aus geringerem Belüftungsbedarf und erhöhter Gasausbeute um insgesamt ca. 12% des elektrischen Gesamtenergieverbrauchs der Kläranlage (Wett, 2007).

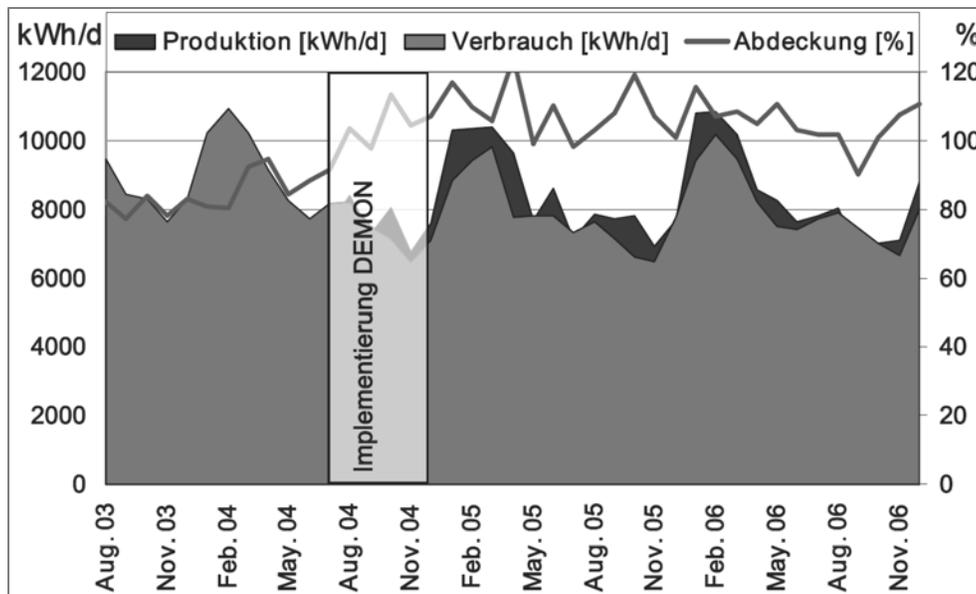


Abbildung 1: Verlauf von Gesamtenergieverbrauch und –produktion an der ARA Strass vor und nach der Umstellung auf Deammonifikation des Prozesswassers.

2.2 Die pH-geregelte, intermittierende Belüftung

Kern des DEMON®-Verfahrens ist, dass der pH-Wert des Reaktors, in dem die beiden Prozesse der Deammonifikation alternierend ablaufen, durch die Regelung der Belüftung auf einem vorgegebenen Sollwert gehalten wird. Die wesentlichen pH-bestimmenden Parameter und Prozesse sind:

- pH-Wert bzw. Alkalinität des zu behandelnden Wassers in Relation zum Ammoniumgehalt (relative Pufferkapazität)
- Ansäuerung durch die aerobe Ammoniumoxidation (Nitritation; Verbrauch von Alkalinität)
- Alkalisierung durch die anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox; Rückgewinnung von Alkalinität)
- Alkalisierung durch Strippung von CO₂ während der Belüftung.

Die pH-Regelung begrenzt die Dauer der einzelnen Belüftungsintervalle. Während der Belüftung dominiert die Ansäuerung durch Nitritation, die solange erfolgt, bis der untere pH-Schwellenwert erreicht wird. Innerhalb der typischerweise sehr eng gesetzten pH-Bandbreite von 0,01 bis 0,02 bis zum oberen Schwellenwert wird die Alkalinität durch die Prozesswasserzufuhr und die anaerobe Ammoniumoxidation wieder zurückgewonnen, der pH steigt. Der durchschnittliche Soll-pH-Wert ist somit entscheidend, wo das Reaktionsgleichgewicht zwischen aeroben und anaeroben Prozessen liegt, während die Hysterese zwischen den beiden pH-Schaltpunkten die absolute Dauer der Belüftungsphasen und damit die Nitritanreicherung beeinflusst (Abbildung 2).

Die Sauerstoffsteuerung regelt innerhalb der einzelnen Belüftungsintervalle mit einem sehr niedrigen Sollwert von ca. 0,3 mg/L das Geschwindigkeitsverhältnis zwischen den beiden Teilprozessen aerobe und anaerobe Ammoniumoxidation.

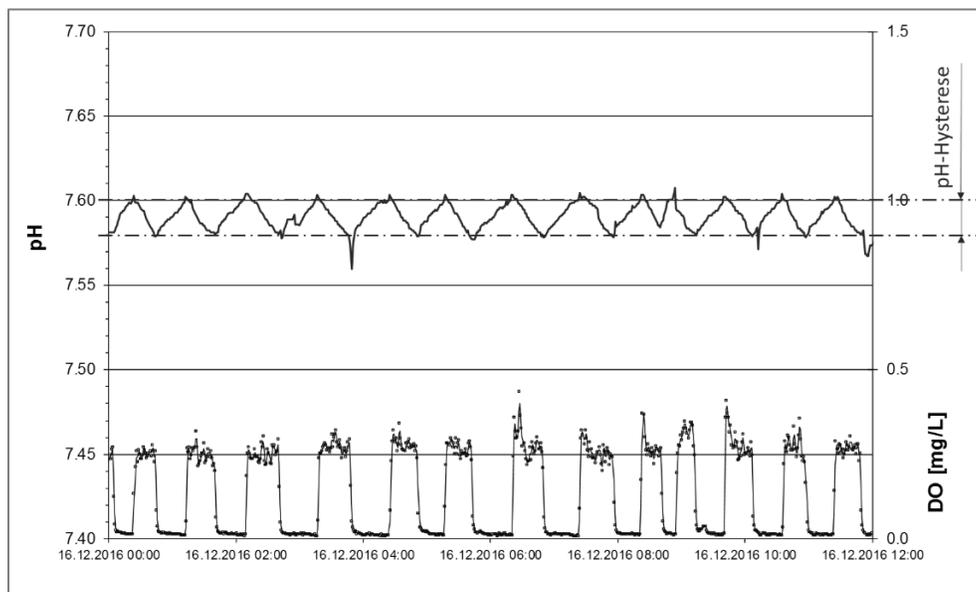


Abbildung 2: Typischer zeitlicher Verlauf von pH-Wert und gelöstem Sauerstoff (DO).

2.3 Flocken, Granula und ihre Separation

Die an der Deammonifikation beteiligten Mikroorganismen organisieren sich selbstständig in verschiedene Aggregatformen wie Granula, Flocken, Biofilm-ähnliche Strukturen und Mikrokolonien (Vlaeminck et al., 2010). Während die klassischen, kleinen Belebtschlammflocken mit ihrem geringen Diffusionswiderstand vor allem von schnell wachsenden aeroben Mikroorganismen gebildet werden, leben die anaeroben Anammoxbakterien fast ausschließlich in den verfahrenstypischen roten, kompakteren Granula (siehe 3.4 und 3.5).

Die Granulum-Struktur scheint nicht willkürlich zu sein, es gilt schließlich zu bedenken, dass die anaeroben Organismen zeitweise auch aeroben Bedingungen ausgesetzt sind. Die Kompaktheit der Granula erhöht den Diffusionswiderstand nicht nur für Sauerstoff und garantiert zumindest im Inneren dauerhaft anaerobe Bedingungen. In den äußeren Schichten hingegen herrschen, zumindest zeitweise während der Belüftungsphasen, aerobe bis mikroaerobe Bedingungen.

Die Bildung von Flocken und Granula erfolgt durch die Produktion extrazellulärer polymerer Substanzen (EPS), vor allem von Proteinen und Polysacchariden mit negativ geladenen funktionellen Gruppen und damit einer hohen Effizienz als Ionenaustauscher (Ferris et al., 1989). Viele Organismen können diese produzieren und in erheblichen Mengen ausscheiden, wobei EPS in weiterer Folge als Kittsubstanz bei der Bildung schleimiger und kompakter Aggregate, dem Halt an Oberflächen, einem Schutz gegen Austrocknung und toxische Substanzen aber auch der Abwehr von Phagen dienen. Meist erfolgt auch eine Sekundärbesiedelung dieser EPS-Matrix. Dies dürfte auch ein Grund für die Vielfalt in der mikrobiellen Lebensgemeinschaft Anammoxgranulum sein. Die Fähigkeit zur EPS-Bildung ist dabei sowohl artspezifisch als auch abhängig von den Wachstumsbedingungen (Stehr et al., 1995).

Die Unterschiede der beiden Aggregatformen der aeroben und anaeroben Ammoniumoxidierer in den physikalischen Parametern Dichte und Größe sind hinreichend für ihre physikalische Separation (Abbildungen 3 und 4).

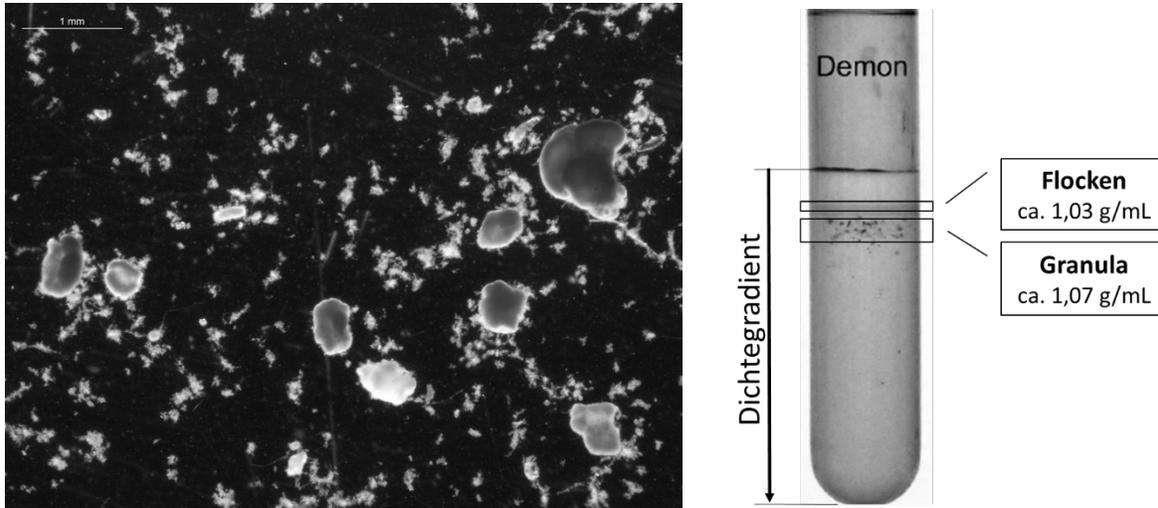


Abbildung 3: Links: Flokken und Granula (DEMON-Biomasse Strass i.Z.); rechts: Trennung und Dichtebestimmung von Flokken und Granula im Percoll-Dichtegradienten.

Durch die Separation erhält man den zusätzlichen Freiheitsgrad zur unabhängigen Einstellung unterschiedlicher Schlammalter für die beiden Fraktionen. Das ist zwingend erforderlich, da Anammoxbakterien mit typischen Generationszeiten von über 10 Tagen einen erheblichen Nachteil gegenüber der schnellwüchsigen, aeroben Biomasse haben und beim Überschussschlammabzug verloren gehen würden. Gleichzeitig hemmt ein für die aeroben Ammonium-oxidierenden Mikroorganismen (aerAOM) knapp bemessenes Flocken-Schlammalter eine Etablierung der unerwünschten Nitrit-Oxidierer. Geeignet für die Trennung der beiden Biomasse-Fraktionen ist die beschleunigte Sedimentation im Zentrifugalfeld eines Hydrozyklons, d.h. der dichtere Zyklonunterlauf mit hohem Anteil an Anammox-Granula wird in den DEMON-Reaktor zurückgeführt und der Zyklonüberlauf mit hohem Flockenanteil wird entsorgt. Damit werden in der gleichen Reaktionsumgebung zwei verschiedene Ziel-Schlammalter gefahren – mindestens 50 Tage für die Anammox-Biomasse und maximal 10 Tage für die aerAOM-Biomasse.

Für die Weiterentwicklung DEMON 2.0 wurde der Hydrozyklon durch ein Trommel-Mikrosieb ersetzt und damit die Effizienz des Granula-Rückhalts von ca. 80% auf über 95% gesteigert. Damit konnte auch vom bisher präferierten SBR zu kontinuierlicher Betriebsweise gewechselt werden, was auch die maximale spezifische Raumbelastung auf ca. 1.5 kg N/m³/d erhöht. Das „pulsierende Herz“ von DEMON[®], die bewährte pH-gesteuerte, intermittierende Belüftung, wurde unverändert beibehalten.

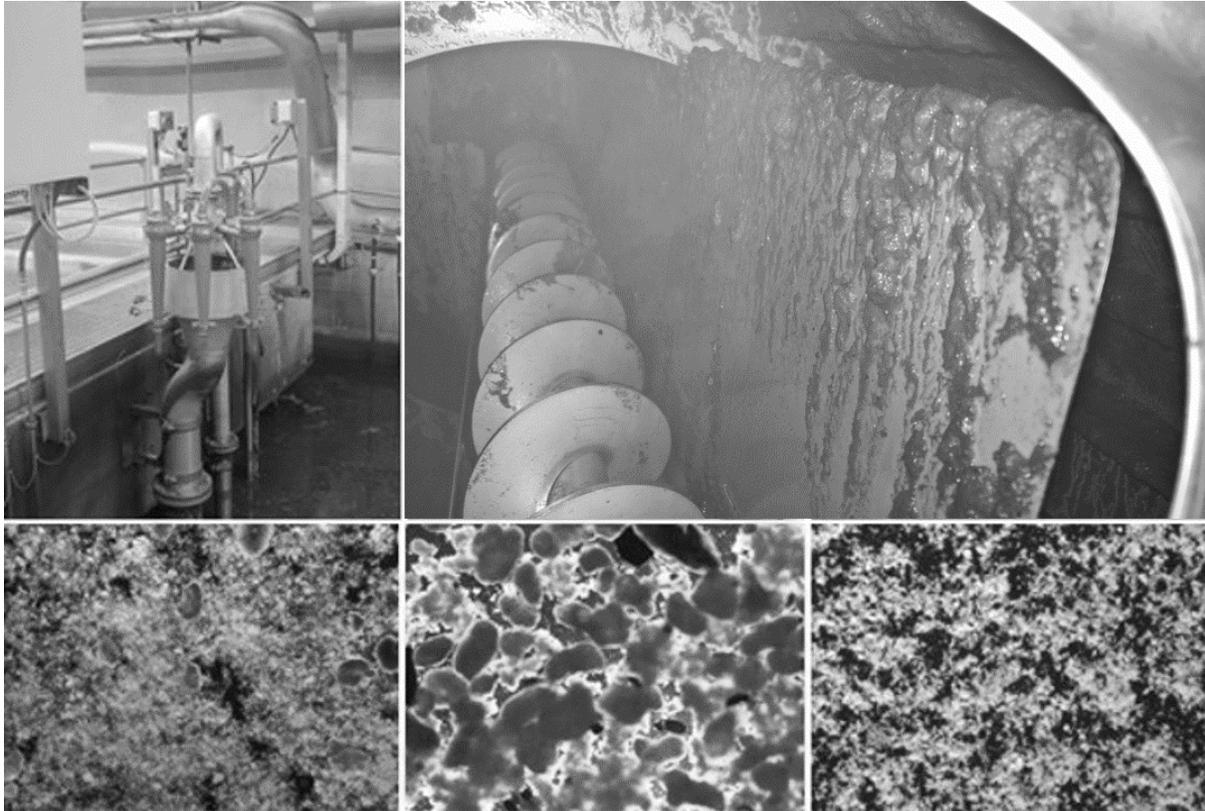


Abbildung 4: Die mechanische Separation beider Aggregatformen anhand physikalischer Parameter durch Hydrozyklone (oben links) und Trommelsiebe (oben rechts). Untere Reihe von links: gemischte DEMON-Biomasse, zurückgehaltene Granula und separierte Flocken im Siebdurchlauf.

2.4 Weiterentwicklung und Verbreitung von DEMON®

Im Nebenstrom bei der Schlammwasserreinigung wurde erstmals 2004 in Strass i.Z. die Etablierung eines technisch effizienten Deammonifikationsprozesses erreicht (Wett, 2007). Dadurch waren in der Folge ausreichende Impfschlammengen verfügbar, wodurch die Anfahrzeiten für neue Anlagen drastisch reduziert werden konnten.

Laut einer Aufstellung von Lackner und Coautoren waren im Jahr 2014 weltweit ca. 100 Deammonifikationsanlagen zur Behandlung hochkonzentrierter, warmer Abwässer mit geringem C/N-Verhältnis installiert. Davon waren mehr als 50% SBR-Verfahren, und 88% einstufig. Innerhalb der SBR-Systeme führte DEMON® mit 80% Marktanteil (Lackner et al., 2014). Heute sind ca. 80 DEMON®-Anlagen weltweit implementiert, darunter auch Großanlagen mit Bemessungsbelastungen bis zu 12000 kg N/d (z.B. in Washington DC und in Singapore).

3 DEMON-Mikrobiologie

3.1 Deammonifikation im Überblick

Mit „Deammonifikation“, heute auch oft als „pNA“ für „partielle Nitritation/Anammox“ bezeichnet, fasst man die beiden Teilprozesse 1) aerobe partielle Nitritation (pN) und 2) anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox) zusammen. „Partielle“ Nitritation deshalb, weil nur knapp 60% des Ammoniums aerob zu Nitrit oxidiert werden müssen, während das restliche Ammonium direkt in die Anammoxreaktion eingeht (Abbildung 5).

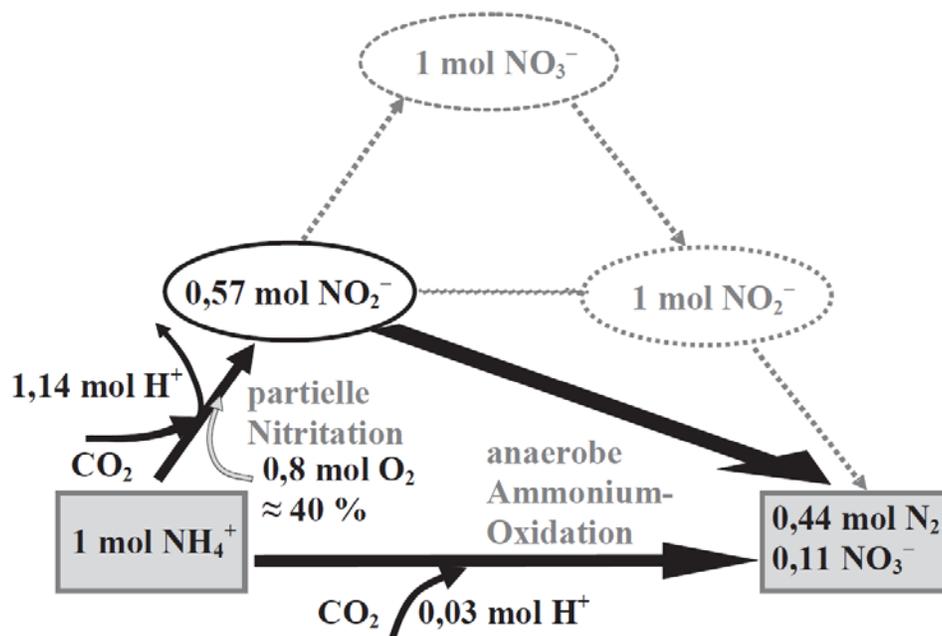


Abbildung 5: Maximal verkürzte Reaktionspfade der Stickstoffelimination durch Deammonifikation und ihr Ressourcenbedarf.

Gemeinsam ist den beiden Prozessen, die von verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen katalysiert werden, deren Chemolithoautotrophie: die Mikroorganismen beziehen sowohl ihre Zellbausteine als auch ihre Stoffwechselenergie von anorganischen Substanzen. Daher ist die Deammonifikation das ideale Verfahren zur Entfernung von Ammonium-Stickstoff aus Wässern, denen nutzbare organische Verbindungen (CSB) für die herkömmliche, heterotrophe Denitrifikation fehlen. Typischerweise zählen dazu Prozesswässer aus einer anaeroben biologischen Stufe wie Klärschlammfäulung oder Reaktordeponie, in der die abbaubare Organik zu Biogas (Methan und Kohlendioxid) umgesetzt wird und sich Ammonium als anaerobes Abbauprodukt aller stickstoffhaltigen

Verbindungen in der Flüssigphase anreichert. In den letzten Jahren gibt es zunehmend Bemühungen, ein Maximum an organischen Verbindungen schon aus dem Hauptstrom von Kläranlagen in die anaerobe Behandlung zu leiten, und mit Deammonifikation den Mangel an CSB für die vollständige herkömmliche Stickstoffentfernung zu kompensieren.

Eine weitere Gemeinsamkeit der aeroben und anaeroben Ammoniumoxidation ist der im Vergleich zum heterotrophen Wachstum geringere Biomassertrag. Dem Vorteil, wenig Überschussbiomasse zu produzieren steht der technische Aufwand gegenüber, die wertvolle Biomasse möglichst gut kontrolliert im Reaktor zu halten.

3.2 Die anaeroben Ammonium-oxidierenden Bakterien (Anammox)

Wegen ihrer besonderen Bedeutung für die Deammonifikation, ihrer relativ kurzen Bekanntheit und wegen ihrer einzigartigen physiologischen und morphologischen Eigenschaften werden die Anammoxbakterien hier kurz charakterisiert.

Schon 1977 sagte der Wiener Chemiker Engelbert Broda (Broda, 1977) die Existenz von zwei Gruppen von Bakterien vorher, welche aufgrund von thermodynamischen Berechnungen existieren müssten, aber noch nicht entdeckt worden waren: anaerobe Phototrophe und Lithotrophe, welche Ammonium als Elektronendonator verwenden und mit Nitrit molekularen, gasförmigen Stickstoff produzieren und so Energie gewinnen. Die Phototrophen, welche einen Stoffwechsel analog zu dem der Schwefelpurpurbakterien haben sollten, wurden noch nicht gefunden. Aber der anaerobe lithotrophe Stoffwechsel wurde 1995 in einem Testreaktor nachgewiesen und von Mulder et al. (1995) als anaerobe Ammoniumoxidation, kurz Anammox, bezeichnet. Vier Jahre später wurde Anammox von Strous et al. (1999) beschrieben und die Bakterien den *Planctomycetales* zugeordnet. Die bisher beschriebenen Arten werden auf fünf Gattungen aufteilen, die alle der Familie *Brocadiaceae* zugeordnet sind. Da sie alle noch nicht als Reinkultur gezüchtet werden konnten, haben sie noch den Status „Candidatus“ (NCBI, 2018; Youssef & Elshahed, 2014):

- *Anammoxoglobus* mit *A. propionicus*
- *Brocadia* mit *B. anammoxidans*, *B. fulgida*, *B. sinica*, *B. brasiliensis*, *B. sapporoensis* und *B. caroliniensis*
- *Jettenia* mit *J. asiatica*, *J. caeni* und *J. moscovienalis*
- *Kuenenia* mit *K. stuttgartiensis*
- *Scalindua* mit *S. marina*, *S. brodae*, *S. rubra*, *S. profunda*, *S. richarsii*, *S. arabica*, *S. sorokinii* und *S. wagneri*.

Die Arten der Gattungen *Kuenenia*, *Brocadia*, *Anammoxoglobus* und *Jettenia* wurden hauptsächlich aus Kläranlagen angereichert. *Scalindua* wurde ursprünglich nur im Meer gefunden, inzwischen aber auch in Süßwasserökosystemen (Kartal et al., 2013).

Die Mikroorganismen werden heute relativ klar den Gram-negativen Bakterien zugeordnet (Boedeker et al., 2017), besitzen aber einige Besonderheiten, die sonst nur bei *Archaea* oder Eukaryoten vorkommen. Eine spezielle Struktur dieser Bakterien, eine Art Organell, ist das Anammoxosom, welches bis zu 70 Prozent des Zellvolumens einnehmen kann, keine Ribosomen besitzt und der Ort der anaeroben Ammoniumoxidation ist (Jetten et al., 2009). Das giftige Hydrazin, ein Zwischenprodukt der Anammoxreaktion, wird vermutlich durch die einzigartigen, leiterförmigen Ladderan-Lipide, Moleküle mit Cyclobutan-Ringen in der Anammoxosom-Membran, innerhalb des Anammoxosoms zurückgehalten (Sinninghe Damste et al., 2002). Die Verknüpfung von Fettsäuren erfolgt mittels Ester- und Etherbindungen, wobei letztere bisher nur bei *Archaea*, nicht jedoch Bakterien, gefunden wurden (Jetten et al., 2001). Eine weitere Besonderheit ist das Fehlen von Peptidoglykan in der Zellwand, dafür besitzen sie eine Protein S-Layer. In Abbildung 6 sind die charakteristischen Kompartimente der Anammoxbakterien dargestellt.

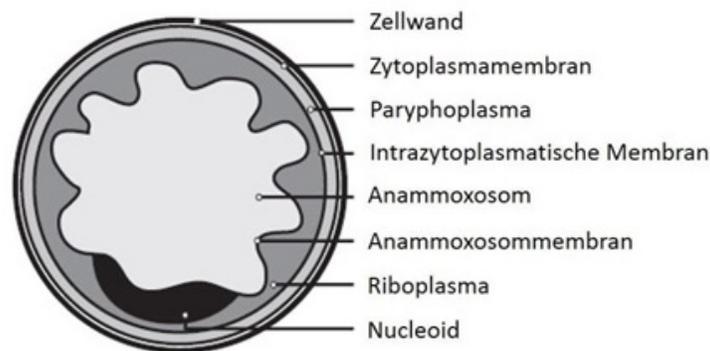
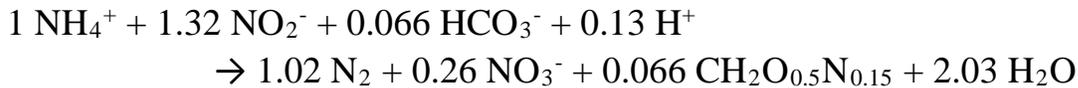


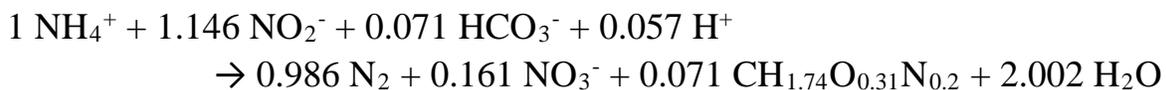
Abbildung 6: Zellmorphologische Eigenheiten der Anammoxbakterien (nach Van Niftrik et al. (2008a).

Die typische Rotfärbung verdanken Anammoxbakterien ihrem hohen Anteil an Häm-Proteinen. Häm ist als prosthetische Gruppe Bestandteil des Redoxsystems und erreicht in diesen Mikroorganismen wesentlich höhere Gehalte als in anderen Bakterien. Mehr als 20 Prozent aller Proteine können Häm-Proteine sein (Van Niftrik et al., 2008b). Anammoxbakterien im Einzelzellstadium sind rundlich und zwischen 800 und 1100 nm groß (Van Niftrik & Jetten, 2012).

Viele Jahre wurde und wird nach wie vor die folgende, von Strous et al. (1998) aufgestellte Stöchiometrie der Anammoxreaktion benutzt, wobei die Biomasse mit der Summenformel $\text{CH}_2\text{O}_{0.5}\text{N}_{0.15}$ näherungsweise dargestellt ist.



Aus Messungen mit einer hochangereicherten Kultur einzelliger Anammoxbakterien aus der Gattung *Brocadia* in einem Membranbioreaktor haben Lotti et al. (2014) die folgende, leicht abweichende Stöchiometrie berechnet, bei der mit einer veränderten Summenformel der Biomasse etwas weniger Nitrit pro Ammonium benötigt und weniger Nitrat produziert wird.



Für die praktische Anwendung sind die relativ geringen Unterschiede ohne Bedeutung, zumal die Anammoxreaktion dort immer mit anderen Stickstoffumsätzen verknüpft ist. Für eine möglichst gute Modellierung der Prozesse sind diese Daten allerdings sehr wohl von Relevanz.

3.3 Unterdrückung der Nitritoxidation

Für eine gut funktionierende und effiziente Deammonifikation ist die Repression der Nitritoxidation essentiell. Beim DEMON®-Verfahren verhindern mehrere Faktoren synergistisch das Aufkommen Nitrit-oxidierender Bakterien (NOB):

- Die sehr geringe Sauerstoffkonzentration während der Belüftungsphasen bevorzugt die aerAOM aufgrund ihrer höheren Sauerstoff-Affinität.
- Die Betriebstemperatur von typisch 30°C oder höher bevorzugt ebenfalls die aerAOM; in Verbindung mit einem „sportlichen“ Schlammalter für die aerAOM werden die NOB vermehrt ausgewaschen.
- Im balancierten Betrieb wird Nitrit in den anaeroben Phasen praktisch vollständig durch Anammox aufgebraucht. Zu Beginn der aeroben Phase ist Ammonium für die aerAOM verfügbar, während Nitrit erst langsam gebildet wird und die NOB somit eine deutlich längere Verzögerungsphase haben; und noch bevor die NOB ihre volle Aktivität erreicht haben, endet bereits die aerobe Phase.
- Und schließlich reagieren NOB empfindlicher auf erhöhte Ammoniakkonzentrationen als aerAOM.

Obwohl Adaptierungen von NOB Populationen an geringe Sauerstoffkonzentrationen und erhöhte Ammoniakkonzentrationen bekannt sind, belegen mehr als zehn Jahre Betriebserfahrung mit DEMON[®]-Anlagen bei der Schlammwasserbehandlung die technische und mikrobiologische Funktionalität des Verfahrens auch bezüglich NOB-Unterdrückung. Wahrscheinlich macht gerade die Kombination mehrerer Faktoren den Erfolg aus. Abbildung 7 zeigt das Ergebnis eines typischen aeroben Aktivitätstests bei erhöhter, ca. 50%iger Sauerstoffsättigung mit Biomasse aus dem DEMON[®] Strass, wo Ammonium nur bis zum Nitrit oxidiert wird.

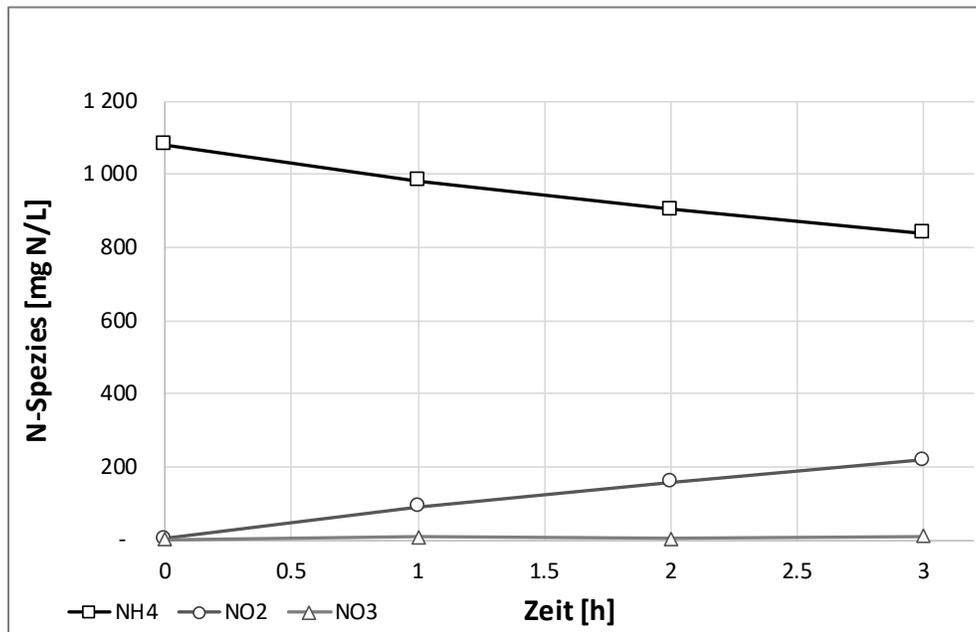


Abbildung 7: Beispielhafter, aerober Aktivitätstest mit DEMON Biomasse aus Strass zeigt die vernachlässigbare Nitritoxidation.

Auch Comammox-Bakterien (complete ammonia oxidizer), deren Existenz schon lange vermutet, die aber erst vor kurzem entdeckt wurden (Daims et al., 2015), wären eine unerwünschte Konkurrenz bei der Deammonifikation, da sie Ammonium vollständig zu Nitrat oxidieren. Nach bisherigen Erkenntnissen scheinen sich Comammox-Bakterien eher bei tieferen Temperaturen, geringen Stickstoffkonzentrationen und höheren Sauerstoffkonzentrationen gegenüber partiellen, „kanonischen“ Ammoniumoxidierern durchzusetzen; Bedingungen, die in biotechnischen Anlagen eher bei der Trinkwasseraufbereitung und im Kläranlagen-Hauptstrom als im Nebenstrom bei der Schlammwasserbehandlung vorherrschen (Gonzalez-Martinez et al., 2016).

3.4 Mikrobielle Aktivitäten der Flocken und Granula

Wie in Kapitel 2.3 gezeigt, organisieren sich die Mikroorganismen in den Deammonifikationsbecken mit suspendierter Biomasse und ohne Biofilmträger, wie bei DEMON®, selbständig in zwei deutlich unterscheidbaren Aggregatformen, klassischen Belebtschlammflocken und den Verfahrens-charakteristischen, roten Anammoxgranula. Grob betrachtet verteilen sich die für die Deammonifikation relevanten mikrobiellen Aktivitäten wie folgt auf diese Aggregate: In den kleinen Flocken mit geringem Diffusionswiderstand residieren vor allem relativ raschwüchsige, aerobe oder fakultativ anaerobe Mikroorganismen. Das sind hier vor allem die wesentlichen aeroben Ammonium-oxidierenden Mikroorganismen (aerAOM) und, da auch in gut ausgefaultem Schlammwasser meist Reste von nutzbaren organischen Verbindungen (CSB) enthalten sind, immer auch heterotrophe Bakterien (Speth et al., 2016). Die sehr langsam wüchsigen, anaeroben Ammonium-oxidierenden Bakterien leben praktisch ausschließlich in den größeren und viel kompakteren Granula (Abbildung 9, links).

Besonders in den äußeren Schichten der Granula herrschen wegen der intermittierenden Belüftung zeitweise aerobe Bedingungen. Ein Teil der aeroben Ammoniumoxidation ist daher auch an Granula gebunden zu finden. Es wird angenommen, dass die äußeren, rasch wachsenden Schichten von Granula durch Scherkräfte (Belüftung, Zyklone, Siebe) regelmäßig abgetragen und gemeinsam mit den Flocken ausgetragen werden.

Das typische geringe C/N-Verhältnis von Deammonifikations-geeigneten Abwässern ermöglicht nur eine eher marginale Aktivität von heterotrophen Bakterien. In konventioneller Hauptstrombiomasse verteilt sich der Sauerstoffbedarf grob zu je 50% auf die autotrophen und heterotrophen Populationen. Bei DEMON® Biomasse liegt hingegen der autotrophe Sauerstoffbedarf bei rund 85%. Auch wenn der Zustrom an nutzbaren organischen Verbindungen typischerweise eher gering ist (außer bei Störungen der Faulung), darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die autotrophen Mikroorganismen als Primärproduzenten erhebliche Mengen an Biomasse produzieren, deren abgestorbene oder ausgeschiedene Komponenten heterotrophes Leben ermöglichen (siehe 3.5.2).

Für das Monitoring der Anammoxbakterien vor Ort steht seit kurzem ein photometrischer Test zur Verfügung, der auf der Quantifizierung des charakteristischen roten Farbstoffs, des Häm, dieser Mikroorganismen beruht (Podmirseg et al., 2015). Da der Hämgehalt von Anammoxbakterien rund zwei

Größenordnungen über dem von anderen Mikroorganismen liegt, ist dieser Farbstoff ein ausgezeichneter, rasch und vor Ort bestimmbarer Anammox-Indikator. Abbildung 8 zeigt den Zusammenhang zwischen Hämgehalt der Biomasse und ihrer Anammoxaktivität (als Nitrate unter Vernachlässigung von Denitrifikation) mit Daten aus fünf verschiedenen DEMON[®]-Anlagen. Damit können nun zeitliche Trends bei der Entwicklung von Anammoxpopulationen dokumentiert und Fehlentwicklungen rasch erkannt, die spezifische Aktivität der Anammoxbakterien analysiert, und auch die Trennschärfe von Selektoren präzise gemessen werden (am Beispiel Trommelsieb in Abbildung 9, links).

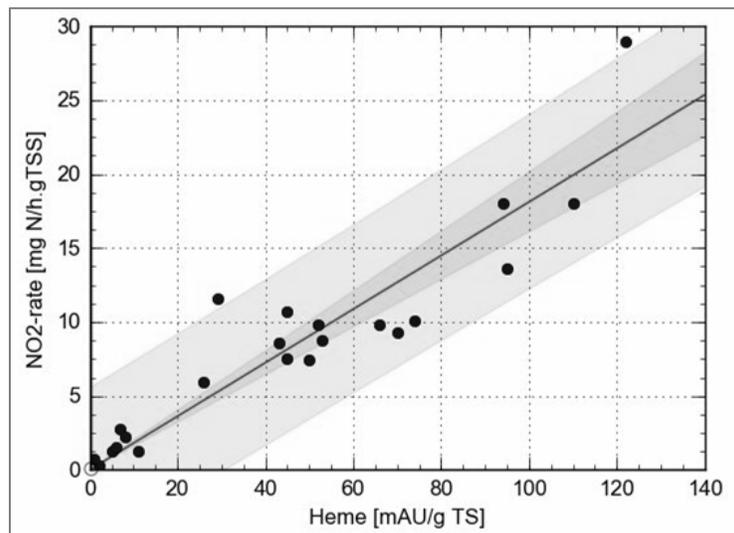


Abbildung 8: Korrelation zwischen Häm-Gehalt und Nitrit-Umsatzraten; Daten aus verschiedenen DEMON-Anlagen.

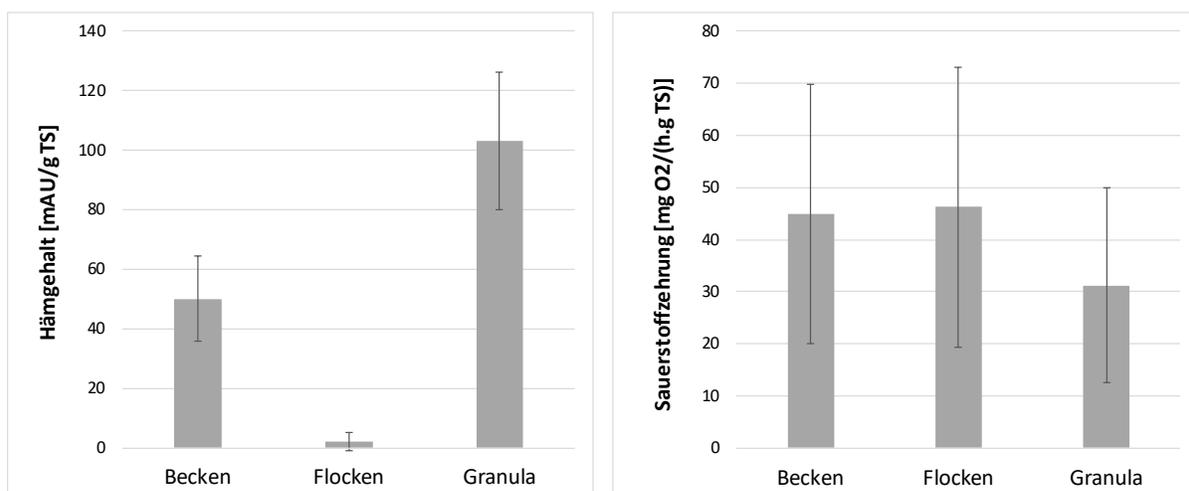


Abbildung 9: DEMON 2.0 mit Trommelsieb: Aktivitäten von Beckenbiomasse, Flocken (Siebdurchgang) und Granula (Siebrückhalt). Links: Anammoxaktivität als spezifischer Hämgehalt, rechts: gesamte aerobe Aktivität.

3.5 Das Ökosystem Anammoxgranulum

Die Anammoxaktivität konzentriert sich in einem gemischten Schlammsystem praktisch vollständig auf die typischen Granula (Abbildung 10), in denen die dafür verantwortlichen Bakterien aus der Gruppe der *Planctomycetes* aber nur einen erstaunlich geringen Anteil an der Gesamtpopulation stellen. Erst der Einsatz moderner molekularbiologischer Methoden, mit denen nicht nur die systematische Vielfalt, Zuordnung und Verwandtschaft der Organismen analysiert, sondern auch potentielle Stoffwechselwege aufgezeigt werden können, bringt nun seit wenigen Jahren zunehmend Licht in diesen komplexen Lebensraum, seine Bewohner und ihre Beziehungen.

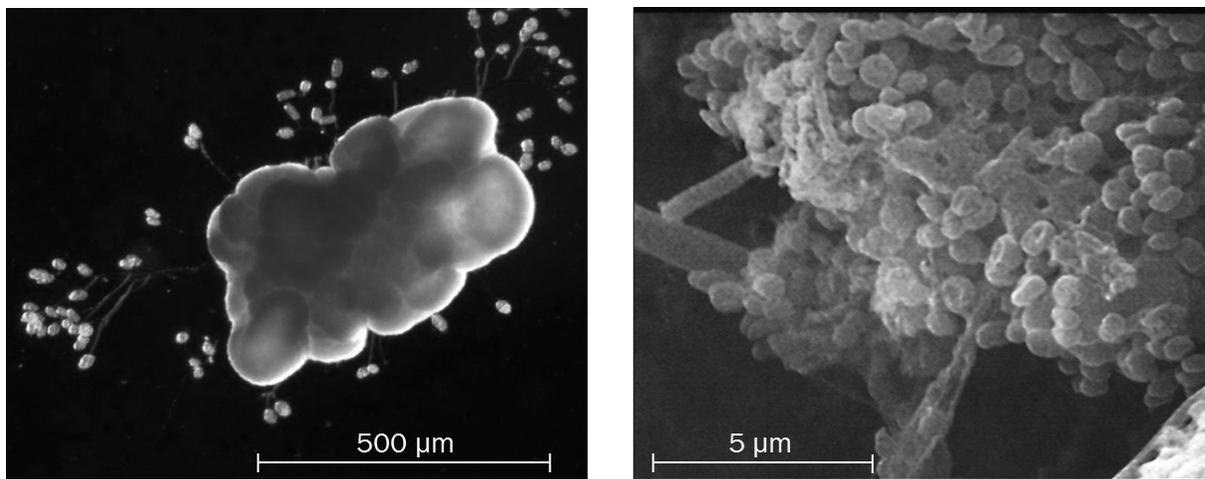


Abbildung 10: Das für den Deammonifikations-Prozess charakteristische, rotgefärbte Anammoxgranulum ist ein komplexes Ökosystem verschiedenster Mikroorganismen wie Bakterien, Archaeen und sogar darin verankerten Glockentierchen (links). Die Aufnahmen im Raster-Elektronenmikroskop geben Einblicke in die zelligen Strukturen der Anammoxgranula (rechts).

Anammoxgranula bestehen aus einer Mischung von Zellaggregaten und mineralischen Partikeln, eingebettet in eine Matrix organischer Polymere (Ni et al., 2010; Gonzalez-Gil et al., 2015). Aus den Arbeiten von Cho et al. (2010), Vlaeminck et al. (2010), Gonzalez-Martinez et al. (2015b), Rodriguez-Sanchez et al. (2014), Bachmann (2015), Speth et al. (2016), Lawson et al. (2017), und anderen Beiträgen über granuläre Biomassen aus verschiedenen Deammonifikationsreaktoren kann übereinstimmend bzw. sich ergänzend folgendes aktuelles Bild von der Funktion eines Anammoxgranulums gezeichnet werden.

3.5.1 Die aerobe Hülle

Die regelmäßige intermittierende oder auch schwache kontinuierliche Belüftung der untersuchten Reaktoren ermöglicht aeroben Bakterien die Besiedlung der Granulum-Oberfläche. Hier leben vor allem aerobe Ammoniumoxidierer wie *Nitrosomonas europaea* und *Nitrosococcus* sp. sowie, wenn auch unerwünscht, eventuell einige Nitritoxidierer (*Nitrospira* sp.). Weiters sind hier aerobe und fakultativ anaerobe, heterotrophe Bakterien zu finden, die sich einerseits von verfügbarem CSB aus dem Reaktorzulauf, und andererseits sehr wahrscheinlich von Ausscheidungs- und Abbauprodukten der autotrophen Bakterien ernähren.

3.5.2 Das anaerobe Innere

Die Kompaktheit der Granula begrenzt die Sauerstoffdiffusion und begünstigt so die Vermehrung von Anammox und anderen anaeroben Bakterien im Inneren. Während bei der Laborkultivierung von hochangereicherten, einzelligen Anammoxbakterien die Sauerstoffkonzentration strikt unter 0,05 mg/L gehalten werden muss (Lotti et al., 2014), sind bei granulärer Biomasse in einem DEMON[®]-Reaktor bei 0,3 mg/L Sauerstoff noch etwa 20% Anammoxaktivität zu beobachten (Pümpel, nicht publiziert).

Neben Anammox-aktiven *Planctomycetes* wie *Brocadia* sp., die meist weniger als 10% der Granulum-Biomasse ausmachen, findet sich eine Vielzahl von heterotrophen Bakterien aus den wesentlichen Phyla *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria* und *Firmicutes*. Gonzalez-Martinez et al. (2015a) fanden auch einige Prozent an methanogenen Archaeen-Genen in Granula eines DEMON[®]-Reaktors; allerdings ist nicht klar, ob die Organismen aktiv sind oder ob es sich um verschlepptes inaktives Material aus der vorgeschalteten Schlammfäulung handelt.

Aus molekularbiologischen Analysen der Stoffwechselwege einzelner, identifizierter Bakterien zeichnen sich nun erste, synergistische Funktionen der Mikroorganismen ab. So bildet z.B. *Flavobacterium* sp. hydrophobe Exopolymere, die als wesentlich für die (aerobe) Granulation angesehen werden, und daher auch bei der Bildung der Anammoxgranula relevant sein dürften. Von besonderem Interesse sind jedoch die vielen partiellen Denitrifizierer, z.B. die nicht-phototrophen Vertreter der *Chlorobi*, die meist die stärkste oder zweitstärkste Gruppe in einem Granulum bilden. Speth et al. (2016) haben bei ihren Untersuchungen sogar kein einziges Bakterium mit vollständigem Denitrifikationsweg gefunden, d.h. diese Mikroorganismen reduzieren Nitrat nur bis Nitrit, das dann wieder in die

Anammoxreaktion einfließen kann. Dieser Austausch von Nitrit und Nitrat zwischen den beiden Gruppen von Mikroorganismen wird als Nitrit-Loop bezeichnet und verbessert die Gesamteffizienz eines Deammonifikationssystems, da Nitrat aus der Anammoxreaktion reduziert und als Nitrit diesen wieder zugeführt wird. Als Elektronendonator für die Denitrifikanten können Wasserstoff, der aus verschiedenen Gärungen stammen kann, oder abbaubare organische Verbindungen aus dem Zulauf-CSB, oder auch Abbau- oder Ausscheidungsprodukte der autotrophen Bakterien dienen (Abbildung 11). Lawson et al. (2017) konnten beispielsweise die nötigen Membrantransportprozesse für den Austausch von Aminosäuren zwischen *Brocadia* und *Chlorobi* nachweisen. Ebenso wurden bei *Chlorobi* Aufnahmewege für Di- und Oligopeptide identifiziert, die nahelegen, dass Proteine aus den Exopolymeren der autotrophen Bakterien extrazellulär enzymatisch zerlegt und die Bruchstücke dann genutzt werden. In derselben Untersuchung wird auch gezeigt, dass *Brocadia* Vitamin B₁₂ (Cobalamin) für die *Chlorobi* liefern kann.

Die neuen molekularbiologischen Untersuchungswerkzeuge und mächtige Biostatistik Tools werden in nächster Zeit sicher weiter dazu beitragen, interessante Einblicke in den gegenseitigen Stoffaustausch der Mikroorganismen in so komplexen Lebensgemeinschaften wie Anammoxgranula zu gewinnen. Mit dem wachsenden Verständnis der Prozesse eröffnen sich natürlich auch neue Möglichkeiten von Einflussnahme und Optimierung technischer Anwendungen.

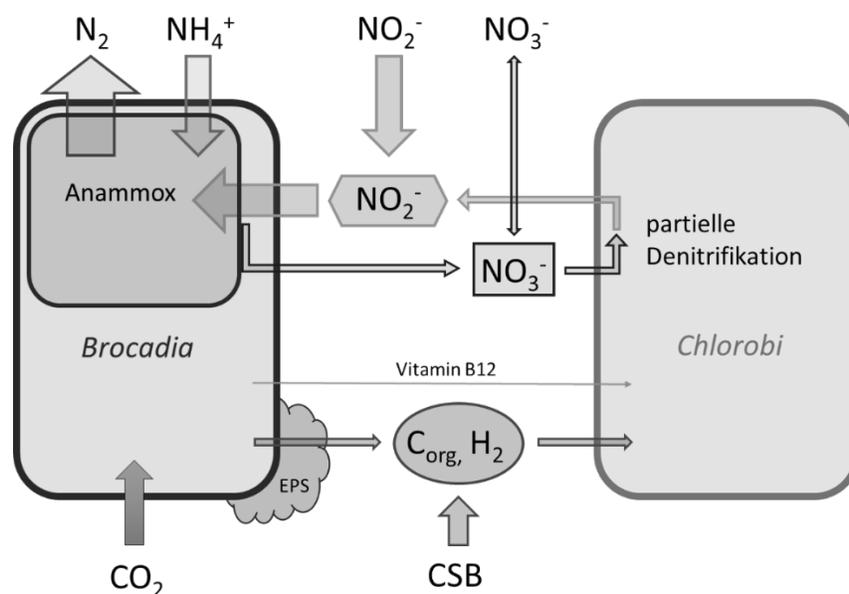


Abbildung 11: Symbiotische Beziehung zwischen autotrophen Anammoxbakterien (*Brocadia*) und heterotrophen, partiell denitrifizierenden Bakterien (*Chlorobi*) in Anammoxgranula. (Vereinfacht nach Lawson et al., 2017 und Speth, et al., 2016)

4 Literatur

- Abma, W.R., Schultz, C.E., Mulder, J.W., van der Star, W.R.L., Strous, M., Tokutomi, T., van Loosdrecht, M.C.M. 2007. Full-scale granular sludge Anammox process. *Water Science and Technology*, **55**(8-9), 27-33.
- Bachmann, B. 2015. Ursachen der Deammonifikationshemmung in Prozesswasser. Masterarbeit. Institut für Mikrobiologie, Universität Innsbruck.
- Boedeker, C., Schuler, M., Reintjes, G., Jeske, O., van Teeseling, M.C.F., Jogler, M., Rast, P., Borchert, D., Devos, D.P., Kucklick, M., Schaffer, M., Kolter, R., van Niftrik, L., Engelmann, S., Amann, R., Rohde, M., Engelhardt, H., Jogler, C. 2017. Determining the bacterial cell biology of Planctomycetes. *Nature Communications*, **8**.
- Broda, E. 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie*, **17**(6), 491-493.
- Cho, S., Takahashi, Y., Fujii, N., Yamada, Y., Satoh, H., Okabe, S. 2010. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. *Chemosphere*, **78**(9), 1129-1135.
- Christensson, M., Ekstrom, S., Chan, A.A., Le Vaillant, E., Lemaire, R. 2013. Experience from start-ups of the first ANITA Mox Plants. *Water Science and Technology*, **67**(12), 2677-2684.
- Daims, H., Lebedeva, E.V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R.H., von Bergen, M., Rattei, T., Bendinger, B., Nielsen, P.H., Wagner, M. 2015. Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature*, **528**(7583), 504-
- Ferris, F.G., Schultze, S., Witten, T.C., Fyfe, W.S., Beveridge, T.J. 1989. Metal Interactions with Microbial Biofilms in acidic and neutral pH Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, **55**(5), 1249-1257.
- Gonzalez-Gil, G., Sougrat, R., Behzad, A.R., Lens, P.N.L., Saikaly, P.E. 2015. Microbial Community Composition and Ultrastructure of Granules from a Full-Scale Anammox Reactor. *Microbial Ecology*, **70**(1), 118-131.
- Gonzalez-Martinez, A., Morillo, J.A., Garcia-Ruiz, M.J., Gonzalez-Lopez, J., Osorio, F., Martinez-Toledo, M.V., van Loosdrecht, M.C.M. 2015a. Archaeal populations in full-scale autotrophic nitrogen removal bioreactors operated with different technologies: CANON, DEMON and partial nitritation/anammox. *Chemical Engineering Journal*, **277**, 194-201.
- Gonzalez-Martinez, A., Rodriguez-Sanchez, A., Munoz-Palazon, B., Garcia-Ruiz, M.J., Osorio, F., van Loosdrecht, M., Gonzalez-Lopez, J. 2015b. Microbial community analysis of a full-scale DEMON bioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **38**(3), 499-508.
- Gonzalez-Martinez, A., Rodriguez-Sanchez, A., van Loosdrecht, M.C.M., Gonzalez-Lopez, J., Vahala, R. 2016. Detection of comammox bacteria in full-scale wastewater treatment bioreactors using tag-454-pyrosequencing. *Environmental Science and Pollution Research*, **23**(24), 25501-25511.
- Jetten, M.S.M., van Niftrik, L., Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J.T., Op den Camp, H.J.M. 2009. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **44**(2-3), 65-84.

- Jetten, M.S.M., Wagner, M., Fuerst, J., Van Loosdrecht, M., Kuenen, G., Strous, M. 2001. Microbiology and Application of the Anaerobic Ammonium Oxidation ('anammox') Process. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**(3), 283-288.
- Kartal, B., de Almeida, N.M., Maalcke, W.J., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., Keltjens, J.T. 2013. How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. *Fems Microbiology Reviews*, **37**(3), 428-461.
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M.C.M. 2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences-An application survey. *Water Research*, **55**, 292-303.
- Lawson, C.E., Wu, S., Bhattacharjee, A.S., Hamilton, J.J., McMahon, K.D., Goel, R., Noguera, D.R. 2017. Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules. *Nature Communications*, **8**.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Lubello, C., Van Loosdrecht, M.C.M. 2014. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Research*, **60**, 1-14.
- Mulder, A., van de Graaf, A.A., Robertson, L.A., Kuenen, J.G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *Fems Microbiology Ecology*, **16**(3), 177-183.
- NCBI (2018) The NCBI taxonomy database: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser> (Zugriff: 2018-02-15)
- Ni, B.J., Hu, B.L., Fang, F., Xie, W.M., Kartal, B., Liu, X.W., Sheng, G.P., Jetten, M., Zheng, P., Yu, H.Q. 2010. Microbial and Physicochemical Characteristics of Compact Anaerobic Ammonium-Oxidizing Granules in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**(8), 2652-2656.
- Podmirseg, M.S., Pümpel, T., Markt, R., Murthy, S., Bott, C., Wett, B. 2015. Comparative evaluation of multiple methods to quantify and characterise granular anammox biomass. *Water Research*, **68**, 194-205.
- Rodriguez-Sanchez, A., Gonzalez-Martinez, A., Martinez-Toledo, M.V., Garcia-Ruiz, M.J., Osorio, F., Gonzalez-Lopez, J. 2014. The Effect of Influent Characteristics and Operational Conditions over the Performance and Microbial Community Structure of Partial Nitrification Reactors. *Water*, **6**(7), 1905-1924.
- Sinninghe Damste, J.S., Strous, M., Rijpstra, W.I.C., Hopmans, E.C., Genevasen, J.A.J., Van Duin, A.C.T., Van Niftrik, L.A., Jetten, M.S.M. 2002. Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane. *Nature*, **419**(6908), 708-12.
- Speth, D.R., in 't Zandt, M.H., Guerrero-Cruz, S., Dutilh, B.E., Jetten, M.S.M. 2016. Genome-based microbial ecology of anammox granules in a full-scale wastewater treatment system. *Nature Communications*, **7**.
- Stehr, G., Zorner, S., Bottcher, B., Koops, H.P. 1995. Exopolymers – An Ecological Characterization of a Floc-attached, Ammonia oxidizing Bacterium. *Microbial Ecology*, **30**(2), 115-126.
- Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*, **400**(6743), 446-449.

- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **50**(5), 589-596.
- Third, K.A., Sliemers, A.O., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. 2001. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, **24**(4), 588-596.
- van Dongen, U., Jetten, M.S.M., van Loosdrecht, M.C.M. 2001. The SHARON((R))-Anammox((R)) process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*, **44**(1), 153-160.
- Van Niftrik, L., Geerts, W.J.C., van Donselaar, E.G., Humbel, B.M., Webb, R.I., Fuerst, J.A., Verkleij, A.J., Jetten, M.S.M., Strous, M. 2008a. Linking ultrastructure and function in four genera of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: cell plan, glycogen storage, and localization of cytochrome c proteins. *Journal of Bacteriology*, **190**(2), 708-717.
- Van Niftrik, L., Geerts, W.J.C., van Donselaar, E.G., Humbel, B.M., Yakushevskaya, A., Verkleij, A.J., Jetten, M.S.M., Strous, M. 2008b. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: a membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. *Journal of Structural Biology*, **161**(3), 401-410.
- Van Niftrik, L., Jetten, M.S.M. 2012. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: unique microorganisms with exceptional properties. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **76**(3), 585-596.
- Vlaeminck, S.E., Terada, A., Smets, B.F., De Clippeleir, H., Schaubroeck, T., Bolca, S., Demeestere, L., Mast, J.A.N., Boon, N., Carballa, M., Verstraete, W. 2010. Aggregate Size and Architecture Determine Microbial Activity Balance for One-Stage Partial Nitritation and Anammox. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**(3), 900-909.
- Wett, B. 2006. Solved upscaling problems for implementing deammonification of rejection water. *Water Science and Technology*, **53**(12), 121-128.
- Wett, B. 2007. Development and implementation of a robust deammonification process. *Water Science and Technology*, **56**(7), 81-88.
- Youssef, N.H., Elshahed, M.S. 2014. The Phylum Planctomycetes. in: *The Prokaryotes – Other Major Lineages of Bacteria and the Archaea*, (Eds.) E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, F. Thompson, Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, pp. 759-810.

Korrespondenz an:

Dr. Thomas Pümpel

Universität Innsbruck
Institut für Mikrobiologie
Technikerstraße 25
A-6020 Innsbruck

Tel.: +43 512 507 51231

Mail: Thomas.Puempel@uibk.ac.at

Anwendung membranbelüfteter Biofilme zur Trübwasserbehandlung

Vanessa Parravicini, Karl Svoldal, Jörg Krampe

TU Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Abstract: Membranbelüftete Biofilm-Reaktoren (MABR, Membrane Aerated Biofilm Reactor) gewinnen zunehmend an Relevanz im Bereich der kommunalen Abwasserreinigung sowohl für die Anwendung im Hauptstrom als auch bei der Trübwasserbehandlung (Nebenstrom). Bei diesem Verfahren dienen gasdurchlässige Hohlmembranen im Becken gleichzeitig als Belüftungselemente und Aufwuchsträger für den Biofilm. Der Sauerstoff im Hohlraum der Membran diffundiert durch die Membranwand und steht den Mikroorganismen zur Verfügung, die im Biofilm auf der Außenoberfläche der Membran angesiedelt sind. Der Biofilm wird daher von der Membranseite mit Sauerstoff und von der Abwasserseite mit Substrat versorgt (Couter-Diffusion-Biofilm). Als Vorteile gegenüber herkömmlichen Biofilmsystemen (Co-Diffusion von Sauerstoff und Substrat beide von der Abwasserseite) werden die flexible Regelbarkeit der Prozess/Redox-Bedingungen in den Biofilmschichten und der günstigere Sauerstofftransport hervorgehoben. Da die Sauerstoffversorgung in MABRs „bubbleless“ erfolgt, kann die Freisetzung in die Atmosphäre von im Abwasser gelösten Gasen (z.B. Strippung des Treibhausgases Lachgas) verringert werden. Dieser Beitrag gibt einen Überblick über die Anwendungsmöglichkeit von MABR im Bereich der Trübwasserbehandlung auf kommunalen Kläranlagen und berichtet über eigene Erfahrungen im Labormaßstab an der TU Wien.

Key Words: Trübwasserbehandlung, Biofilm, Nitrifikation, Anammox.

1 Trübwasserbehandlung in Nebenstrom

Der Faulungsprozess wird üblicherweise in größeren Kläranlagen eingesetzt, um den Klärschlamm zu stabilisieren und gleichzeitig den erneuerbaren Energieträger Biogas zu gewinnen. Bei der Entwässerung von Faulschlamm fällt ein Abwasserstrom an (in der Folge als „Trübwasser“ bezeichnet), der hohe Konzentrationen an Ammoniumstickstoff aufweist. Die Ammoniumfracht im Trübwasser kann bis zu 25% zur Stickstoffbelastung einer Kläranlage beitragen (Meyer *et al.*, 2004). Das Trübwasser wird i.d.R. in den Hauptstrom der

Kläranlage zurückgeführt und im Belebungsbecken mitbehandelt, wodurch sich der Sauerstoffbedarf für die Nitrifikation deutlich erhöht.

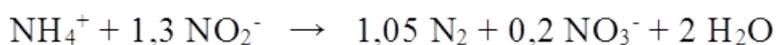
Ein innovatives Behandlungskonzept zielt auf die Nitritation der Stickstofffracht (Oxidation von Ammonium bis Nitrit durch ammoniumoxidierende Bakterien - AOB) im Nebenstrom ab, bevor das behandelte Trübwasser in einen anoxischen Teil der Hauptstrombelebung zurückgeführt wird (Krampe *et al.*, 2016; Baumgartner *et al.*, 2017):

Nitritation in Nebenstrom: $\text{NH}_4^+ + 1,5 \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$

Denitritation in Hauptstrom: $\text{NO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow 0,5 \text{N}_2 + 1,5 \text{O} + 0,5 \text{H}_2\text{O}$

Das Konzept bietet eine vorteilhafte Reduktion der Belüftungsenergie, insbesondere bei zweistufigen Kläranlagen, weil die Sauerstoffzufuhr in der Trübwasserbehandlung energetisch effizienter erfolgt als im Hauptstrom. Am effizientesten ist es, wenn das im Nebenstrom energetisch günstiger gebildete Nitrit (höherer α -Wert) zum Abbau von organischen Kohlenstoffverbindungen in der 1. Belebungsstufe (niedrigerer α -Wert) unter anoxischen Bedingungen (Denitritation) genutzt wird.

Als alternatives Verfahren kann die Nitritation im Nebenstrom mit dem Anammoxprozess kombiniert werden, bei dem Anammoxbakterien aus Ammonium und Nitrit molekularen Stickstoff bilden, wie die vereinfachte chemische Reaktion veranschaulicht:



Für die Trübwasserbehandlung ist es besonders vorteilhaft, dass die Stickstoffentfernung beim Anammoxprozess – anders als bei der heterotrophen Denitrifikation bzw. Denitritation – ohne Bedarf an organischem Kohlenstoff abläuft. Auch bei diesem Verfahren kann der Energieverbrauch für die Belüftung der Kläranlage reduziert werden, wobei die Einsparungen bei Nebenstrom-Anammox und bei der oben genannten Variante Nebenstrom-Nitritation + Hauptstrom-Denitritation vergleichbar sind (Baumgartner *et al.*, 2016).

Die zwei Prozesse Nitritation und Anammox können in zwei räumlich getrennten, kaskadierten Becken (zweistufige Konfiguration) oder zeitversetzt bzw. simultan in einem einzelnen diskontinuierlich belüfteten Becken (einstufige Konfiguration) durchgeführt werden. Für einen ausführlichen Überblick über die in der Praxis angewendeten unterschiedlichen Verfahren zur Nitritation/Anammox wird auf Lackner *et al.* (2014) verwiesen.

Für die Nitrifikation von Trübwasser haben sich CSTRs in der Praxis (Continuously Stirred Tank Reaktor) mit Druckbelüftung und geringer hydraulischer Verweilzeit (je nach Temperatur 2 bis 4 d) gut bewährt (Baumgartner *et al.*, 2016). Für den Nitrifikation/Anammoxprozess werden häufig SBRs (Sequencing Batch Reactor) eingesetzt (Wett *et al.*, 2007; Joss *et al.*, 2009) wobei auch Biofilmverfahren wie der MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) zur Anwendung kommen (Klaus *et al.*, 2017; Mehrdad *et al.*, 2014; Rosenwinkel & Cornelius, 2005). Das sehr hohe Schlammalter im Biofilmverfahren ist für die Anreicherung der langsam wachsenden Anammoxbakterien von Vorteil. Für die Etablierung einer stabilen Nitrifikation kann es hingegen von Nachteil sein, weil nitritoxidierende Bakterien (NOB) - anders als in Reaktoren mit suspendierter Biomasse - aus dem Biofilm nicht selektiv ausgewaschen werden können. Sind NOB im Reaktor aktiv, dann oxidieren sie das von den AOB gebildete Nitrit weiter bis zum Nitrat und konkurrieren mit den Anammoxbakterien um das vorliegende Nitrit. Bei Biofilmverfahren müssen daher geeignetere Betriebsstrategien (u.a. geringere O₂-Konzentration, Hemmung durch Ammoniak NH₃ bzw. salpetrige Säure HNO₂) angewendet werden, um die Aktivität der NOB zu unterdrücken (Ge *et al.*, 2015).

Zusammenfassend bietet die Trübwasserbehandlung in Nebenstrom energetische Vorteile für die Abwasserreinigung. Ein Nachteil der getrennten aeroben Behandlung von ammoniumbeladenen Abwasserströmen ist jedoch, dass während der Nitrifikation eine intensive Lachgasproduktion und -Emission stattfindet (z.B. Desloover *et al.*, 2011; Schneider *et al.*, 2013). Es ist durch zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen belegt, dass das Treibhausgas Lachgas (N₂O) als Nebenprodukt der Oxidation von Ammonium zu Nitrit durch AOB gebildet wird (z.B. Wunderlin *et al.*, 2013). Hohe NH₄⁺- und NO₂⁻-Konzentrationen im Abwasser wurden bereits als Trigger der N₂O-Produktion identifiziert (Law *et al.*, 2012; Mampaey *et al.* 2016). Durch die intensive Belüftung bei der Trübwasserbehandlung wird das gebildete gelöste N₂O in die Umgebungsluft emittiert. Um eine N₂O-Strippung zu vermeiden, kann die Anwendung eines „blasenfreien“ Belüftungssystems wie in membranbelüfteten Biofilmreaktoren (MABR, Membrane Aerated Biofilm Reaktor) von Vorteil sein. Auf diese Weise bleibt das N₂O in der flüssigen Phase und kann nach der Rückführung in die Hauptstrombelebung über heterotrophe Denitrifikation in N₂ umgewandelt werden.

Als weitere Vorteile der Trübwasserbehandlung in MABRs im Vergleich zu herkömmlichen Verfahren mit Druckbelüftung können der günstigere Sauerstofftrag (SAE: kg O₂/kWh) und die Verringerung der Schaumbildung hervorgehoben werden. Wie MABR funktionieren und sinnvoll zur

Trübwasserbehandlung eingesetzt werden können, wird im folgenden Kapitel beschrieben.

2 Trübwasserbehandlung in MABR

2.1 Funktionsweise von MABRs

In einem MABR erfolgt die Sauerstoffversorgung ohne Blasenbildung über gasdurchlässige Hohlmembranen, deren Hohlraum mit Luft befüllt ist und unter leichtem Überdruck steht (notwendigerweise niedriger als der Blasenbildungsdruck der Membran). Die Membranen sind in zu behandelnden Abwasser eingetaucht und dienen gleichzeitig als Belüftungselement und Aufwuchsträger für den Biofilm. Der Sauerstoff der Luft diffundiert durch die Membranwände von innen nach außen und versorgt die Mikroorganismen, die im Biofilm auf der Außenoberfläche der Membran angesiedelt sind. Der Biofilm wird auf der Membranseite mit Sauerstoff und auf der Abwasserseite mit Substrat versorgt (Couter-Diffusion-Biofilm). Bei konventionellen Biofilmen co-diffundieren Sauerstoff und Substrat beide von der Abwasserseite in den Biofilm (Co-Diffusion-Biofilm) (Abbildung 1).

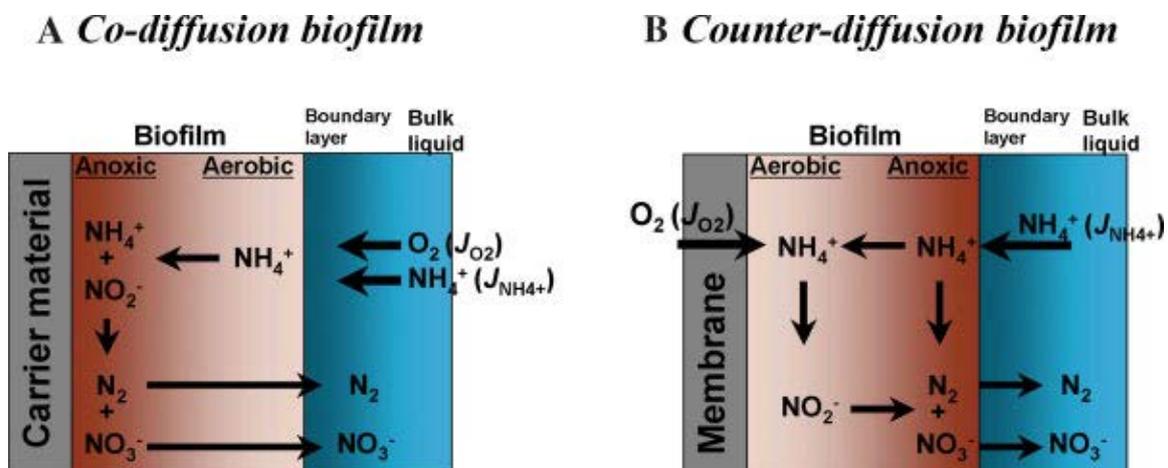


Abbildung 1: Prozess/Redox-Profil bei der autotrophen N-Entfernung über Nitrifikation/Anammox in einem konventionellen Biofilmverfahren (A: Co-Diffusion) und in einem membranbelüfteten Biofilmreaktor (B: Counter-Diffusion) (Terada *et al.*, 2007).

Ähnlich wie bei konventionellen Co-Diffusion-Biofilmen, können in Counter-Diffusion-Biofilmen durch die Bildung verschiedener Redox-Schichten unterschiedliche biologische Prozesse gleichzeitig stattfinden, wie z.B. die Nitrifikation und die Denitrifikation (Semmens *et al.*, 2003; Côte *et al.*, 2015; Downing & Nerenberg, 2008; Kunez *et al.*, 2016). Die hohe O_2 -Konzentration

und niedrige CSB-Konzentration an der Membran-Biofilm-Grenzschicht fördern bei der Reinigung von kommunalem Abwasser die Ansiedlung von nitrifizierenden Bakterien. Die Denitrifikation findet hingegen in der anoxischen Schicht an der Biofilm-Flüssigkeit-Grenzschicht statt (Terada *et al.*, 2003). Die Gefahr, dass nitrifizierende Bakterien beim Wettbewerb um Sauerstoff von heterotrophen Mikroorganismen unterdrückt werden können, soll somit in Counter-Diffusion-Biofilmen im Vergleich zu konventionellen Co-Diffusion-Biofilmen geringer sein. Die Ansiedlung von nitrifizierenden Bakterien an der Membran-Biofilm-Grenzschicht verringert außerdem die Gefahr, dass diese mit dem abgelösten Biofilm aus dem Reaktor ausgewaschen werden (Terada *et al.*, 2003).

Bei der Trübwasserbehandlung ist die heterotrophe Denitrifikation aufgrund des eingeschränkten Vorliegens an biologisch abbaubarem CSB nicht relevant, in anoxischen Schichten kann jedoch die Stickstoffentfernung autotroph über den Anammoxprozess ablaufen (Abbildung 1). Für die Reinigung von kommunalem Abwasser in MABRs liegen bereits mehrere Untersuchungen im Labor- bzw. Pilotmaßstab vor; im Bereich der Trübwasserbehandlung sind bis heute nur vereinzelte Erfahrungen vorhanden. Gong *et al.* (2007) konnten im Labormaßstab zeigen, dass in MABRs eine stabile N-Entfernung über den Anammoxprozess mit 80% Wirkungsgrad möglich ist (synthetisches Trübwasser, 200 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{Zulauf}}/\text{L}$, 35°C). Die für Biofilmsysteme relativ kurze angewendete Versuchsdauer (120d) lässt allerdings offen, ob dieses Ergebnis auch langfristig gewährleistet werden kann. Sun *et al.* (2009) untersuchten zwei unterschiedliche Startup-Strategien für die Nitritation/Anammox in labormaßstäblichen MABRs (synthetisches Trübwasser, 600 mg $\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{Zulauf}}/\text{L}$, 23-32 °C, 260d Versuchsdauer). Die Autoren stellten fest, dass nur eine mäßige N-Entfernung erzielt wird (22-39%), wenn die Aktivität der NOB im Biofilm nicht effektiv unterdrückt werden kann. So lange Nitrit von NOB zum Nitrat umgewandelt wird, ist der Anammoxprozess von der Verfügbarkeit an Nitrit limitiert. Die von Sun *et al.* (2009) unternommenen Versuche, die Aktivität der NOB zu verringern (Ammoniak-Hemmung durch pH-Wert-Anhebung, niedrige O_2 -Konzentration an der Membran-Biofilm-Grenzschicht, Erhöhung der Prozesstemperatur), blieben erfolglos. Es zeigt sich somit, dass bei der Trübwasserbehandlung in MABRs noch weiterer Untersuchungsbedarf für die Einstellung optimaler Prozessbedingungen im Counter-Diffusion-Biofilm besteht. Pellicer-Nàcher *et al.* (2010) entwickelten z.B. in einer Laborversuchsanlage eine neue Betriebsstrategie basierend auf der intermittierenden Belüftung der Membranen, mit der die autotrophe N-Entfernung in einem labormaßstäblichen MABR bis auf 72% optimiert werden konnte (530-780 mg $\text{NH}_4\text{-N}_{\text{Zulauf}}/\text{L}$, 32°C, 300d

Versuchsdauer). N-Massenbilanzen und qPCR-Analyse bestätigten die Anammoxdominanz und die Unterdrückung von NOB im Biofilm.

2.2 Betrieb von MABRs

Bei MABRs kommen vorwiegend Hohlfaser aus Dichtmembranen (z.B. Silicon) zur Anwendung, in denen der Gastransport über das Lösungs-Diffusions-Modell erfolgt. Der O₂-Massentransfer durch die Membran wird von der Differenz des O₂-Partialdrucks im Hohlraum der Membran und im Biofilm angetrieben und ist somit unabhängig vom hydrostatischen Druck der Wassersäule im Becken. Dank des hohen Blasenbildungsdrucks dieser Membranen können hohe O₂-Partialdrücke im Hohlraum der Membran angewendet werden (bis 300 kPa, Casey *et al.*, 1999). Um die Wanddicke der Membran niedrig zu halten (hoher O₂-Massentransfer), können die Hohlfasern um einen Stutzkern (Cord) angebracht werden und somit an Beständigkeit gewinnen (Abbildung 2, links).

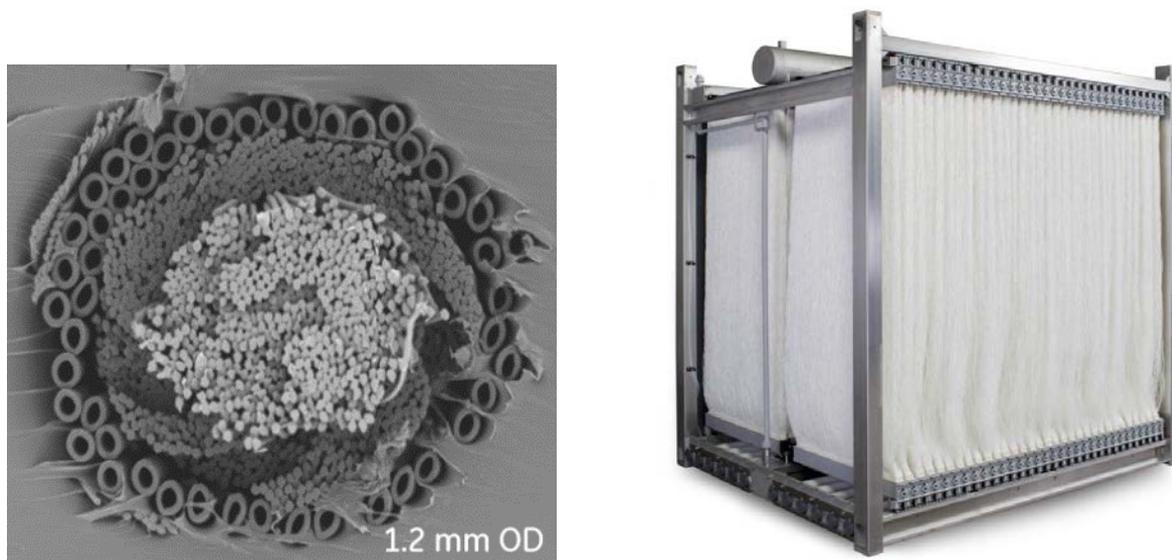


Abbildung 2. Querschnitt und Längsansicht eines Cords mit Zeelung® Hohlfasern (links) und Beispiel eines MABR-Moduls bestehend aus mehreren Cords (rechts) (Abbildungen aus Côte *et al.*, 2015).

Alternativ werden mikroporöse Membranen (z.B. Polypropylen) mit einer dünnen Schicht aus Dichtmembran beschichtet. Mikroporöse Membranen haben einen niedrigeren O₂-Massentransfer-Widerstand und können jedoch in der Praxis ohne Beschichtung nicht eingesetzt werden, weil sonst das zu behandelnde Abwasser bzw. der Biofilm in die Poren eindringen würde (Casey *et al.*, 1999). Bei dieser Membrankombination können die Vorteile beide Membrantypen kombiniert werden.

Der Betrieb der Membranen kann „*flow-through*“ (kontinuierlicher Luftdurchfluss) oder „*sealed-end*“ (diskontinuierliche Luftfüllung) sein. Im letzteren Fall kann bis zu 100% O₂-Ausnutzung erreicht werden (Syron & Casey,

2008; Terada *et al.*, 2003), was eine erhebliche Reduktion der Energiekosten im Vergleich zu konventionellen Belebtschlammssystemen ermöglicht. Bei dieser Betriebseinstellung ist jedoch der O₂-Flux durch die Membrane (gO₂/d/m²_{Membranfläche}) niedriger, weil der O₂-Partialdruck im Hohlraum der Membran mit der Zeit abnimmt. Als Folge ist mehr Membranfläche notwendig, um das erforderliche Reinigungsziel zu gewährleisten. Auch wurde über Betriebsprobleme durch die Akkumulierung von Kondensat berichtet (Cote *et al.*, 1988).

In der *flow-through*-Variante (welche am häufigsten verwendet wird) ist die O₂-Ausnutzung niedriger, der O₂-Flux aber wiederum höher. Côte *et al.* (2015) errechneten in einer mit vorgeklärten kommunalem Abwasser betriebenen MABR-Pilotanlage (Nitritation/Denitritation) eine O₂-Ausnutzung in „*flow-through*“-Betrieb von 35 bis 50%. Die Möglichkeit, in *flow-through*-Betrieb einen Teil des im Biofilm biologisch gebildeten Kohlendioxids auszuschleusen, kann bei der Behandlung von Abwässern mit geringer Pufferkapazität einen weiteren betrieblichen Vorteil mit sich bringen (höherer pH-Wert im Reaktor).

Der O₂-Flux (J_{O₂}) wird vom Gradienten des O₂-Partialdrucks angetrieben, der aufgrund der Sauerstoffzehrung durch die Mikroorganismen zwischen Membran und Biofilm entsteht (Casey *et al.*, 1999b):

$$J_{O_2} = k [(C_{O_2,g} / H) - C_{O_2}] \quad [g \text{ O}_2 / (d \cdot m^2)]$$

k: Massentransfer-Koeffizient der Membran für Sauerstoff [m/d]

C_{O₂g}, C_{O₂}: Sauerstoffkonzentration jeweils im Gas und im Biofilm [gO₂/m³]

H: non-dimensional Henry-Koeffizient [-]

In MABRs kann die O₂-Zufuhr an Schwankungen der Substratbelastung (bei der Trübwasserbehandlung die NH₄-N-Zulaufkonzentration) flexibler angepasst werden. In Co-Diffusion-Biofilmen kann die intensivere Belüftung bei Stoßbelastungen eine stärkere mechanische Beanspruchung auf der Biofilm-Flüssigkeit-Grenzschicht erzeugen, die einen unerwünschten Biofilmverlust verursachen können. In MABRs kann hingegen durch die Regelung des Sauerstoffpartialdrucks und des Luftdurchsatzes im Hohlraum der Membran der O₂-Flux durch die Membranwände wenig invasiv am Bedarf des biologischen Prozesses angepasst werden.

Die angewendeten Luftdrücke (in Labor bzw. Pilotversuchen) schwanken je nach Art der Membran und der Betriebsweise von wenigen kPa bis 50-70 kPa (Côte *et al.*, 2015). Durch die Einstellung des O₂-Partialdrucks wird nicht nur der O₂-Flux geändert, sondern auch die O₂-Konzentration an der Membran-Biofilm-

Grenzschicht sowie die O₂-Penetration in den Biofilm (Lackner *et al.*, 2010). Dies kann eine markante Änderung des Redox-Profiles im Biofilm und somit Schwankungen der angesiedelten Mikroorganismen-Population bewirken. Gerade bei der Nitritation im Trübwasser kann die hohe O₂-Konzentration an der Membran-Biofilm-Grenzschicht nachteilig sein, weil dadurch das Wachstum der NOB unterstützt wird.

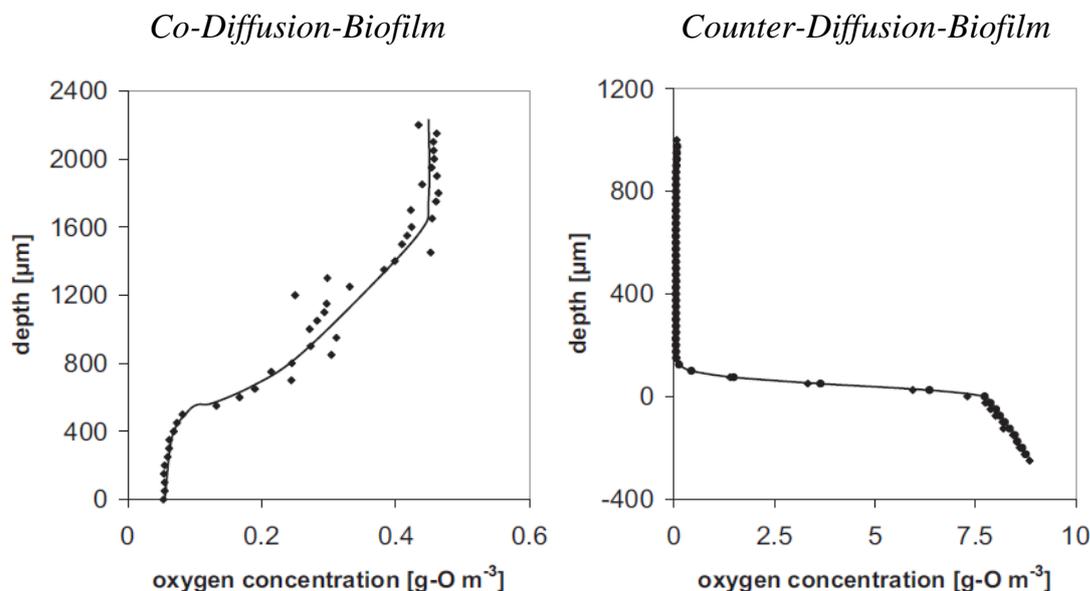


Abbildung 3. Beispiel von O₂-Microsensor-Profilen in Co-Diffusion-Biofilm und Counter-Diffusion-Biofilm. Die Grenzschicht Biofilm-Bulk Liquid ist ~1200µm (links) und 800µm (rechts). Membran/Biofilm-Grenzschicht bei 0 µm, Werte unter 0 µm in der Membrane (Lackner *et al.*, 2010).

Lackner *et al.* (2010) konnte in Laboruntersuchen zeigen, dass die hohe O₂-Konzentration an der Membran-Biofilm-Grenzschicht (> 4 mg/L) das Etablieren einer stabilen Nitritation in Counter-Diffusion-Biofilm erschwert. Im Vergleich dazu, zeigte der konventionelle Co-Diffusion-Biofilm geeignetere Redoxbedingungen für die Nitritation (Abbildung 3). Die Nitritationsperformance im Counter-Diffusion-Biofilm kann durch das Einstellen eines günstigen Verhältnisses zwischen NH₄-Belastung (J_{NH_4} gN/(d·m²)) und O₂-Flux J_{O_2} verbessert werden. Beim Nitritation/Anammox-Prozess soll ein Verhältnis $J_{\text{O}_2}/J_{\text{NH}_4}$ nahe dem stöchiometrischen Wert (1,75 gO₂/gN) günstig sein, wie von Terada *et al.* (2007) sowie Pellicher-Nàcher *et al.* (2010) bekräftigt wird. Auf dieser Weise kann das Wachstum der NOB durch das limitierte O₂-Dargebot kontrolliert werden.

Wie bei den meisten Biofilmverfahren, ist auch bei MABRs die Mischung der flüssigen Phase um den Biofilm ein Schlüsselbetriebsparameter, der einen bedeutenden Einfluss auf die erzielbare Reinigungsleistung hat. Durch die

Mischung soll gewährleistet werden, dass die Grenzschicht zwischen Biofilm und Abwasser regelmäßig erneuert wird und stetig eine hohe Substratkonzentration vorliegt. Auch die Dicke des Biofilms kann die Reinigungsperformance des MABRs beeinträchtigen, z.B. durch die Reduktion des Substratmassentransfers bis in die innere aerobe Schicht bzw. die Bildung von Kurzschlussströmungen in den Membranmodulen. Ein effektives Reaktor-Mixing sowie die Kontrolle der Biofilm-Dicke können durch regelmäßiges Impulsbelüften mittels grob-blasiger Belüftung am Boden der Membranen erzielt werden (Côte *et al.*, 2015). Als weitere Option kann der Reaktorinhalt durch einen internen Wasser-Rezirkulation gemischt und die Biofilm-Dicke durch die Einstellung der Fließgeschwindigkeit des Wassers längs der Membranen kontrolliert werden.

Ein innovativer Aspekt von MABRs ist ohne Zweifel der zu erwartende günstige Sauerstofftrag. Da die O₂-Zufuhr ohne Luftblasen erfolgt, muss der O₂-Partialdruck der Luft in den Membranen den hydrostatischen Druck der Wassersäule im Becken nicht überwinden. Dies kann in der Praxis zu einer signifikanten Reduktion des Energieverbrauchs für die Bereitstellung der Druckluft beitragen. Dies wird in der Folge anhand eines Beispiels erklärt: In einem 3 m tiefen Belebungsbecken wird mit einer fein-blasigen Druckbelüftung eine O₂-Ausnutzung im Abwasser von 15% erreicht (Annahme 5% O₂-Ausnutzung pro m Wassertiefe). Die Druckerhöhung im Gebläse (hydrostatischer Druck der Wassersäule + Druckverluste in den Leitungen und Belüftern) beträgt 35 kPa. In einem MABR wird Luft mit dem gleichen Überdruck von 35 kPa *flow-through* gefördert und im Output der Membranen einen O₂-Gehalt von 15% gemessen (O₂-Ausnutzung von ~30%). Aus dem Beispiel errechnet sich, dass im MABR nur die Hälfte des Luftvolumenstroms notwendig ist, um die gleichen O₂-Zufuhr zu gewährleisten. Die oben genannten Annahmen für den MABR basieren auf Erfahrungen aus Laborversuchen an der TU-Wien.

Côte *et al.*, (2015) geben für eine Pilotanlage mit kommunalem Abwasser einen Sauerstofftrag von 3,5 bis 5 kgO₂/kWh an, wobei die Energie für die Bereitstellung der Druckluft für das Reaktor-Mixing und den Biofilm-Abtrag darin inkludiert sind. Bei der Trübwasserbehandlung wäre aufgrund der geringeren Biomasseproduktion ein höherer Wert zu erwarten.

2.3 Reduktion der Triebhausgasemissionen durch MABR

Die Anwendung einer „bubble-less“ Belüftung hat den Vorteil, dass das im Biofilm produzierte Lachgas durch die Belüftungsluft nicht gestrippt wird und vorwiegend in der flüssigen Phase bleibt. Auf diese Weise kann das gelöste N₂O nach der Rückführung des behandelten Trübwassers in die Hauptstrombelebung über eine heterotrophe Denitrifikation zu molekularem Stickstoff umgewandelt

werden. Jedoch ist zu überprüfen, welcher Impact die unterschiedlichen Redox-Bedingungen im Counter-Diffusion-Biofilm auf die N_2O -Produktion haben. Ein weiterer Aspekt ist die Anreicherung der Abluft aus den Membranen mit dem produzierten N_2O (Back-Diffusion).

Ni *et al.* (2013) zeigten auf Basis eines Simulationsmodells, dass bei der Trübwasserbehandlung über Nitritation/Anammox ein herkömmliches Biofilmsystem unter denselben $J_{NH_4^+}$ und J_{O_2} wesentlich mehr N_2O -Produktion als ein MABR aufweisen würde. Dies sollte auf die höhere Nitritakkumulation und auf die Verteilung von AOB in der äußeren Schicht des Biofilms zurückzuführen sein. Peng *et al.* (2016) entwickelten das Simulationsmodell von Ni *et al.* (2013) weiter und postulierten, dass in beiden Biofilm-Konfigurationen N_2O hauptsächlich über die Nitrifikanten-Denitrifikation produziert wird. Die Simulationsergebnisse von Ni *et al.* (2013) zeigen außerdem, dass die Optimierung der N-Entfernung und die Reduktion der N_2O -Produktion entgegengesetzte Prozessbedingungen benötigen. Als die N-Entfernung im simulierten MABR auf 75% optimiert wurde, stieg die N_2O -Produktion auf 3% der entfernten N-Fracht an.

Pellicer-Nàcher *et al.* (2010) konnten das Reduktionspotential der N_2O -Emission von MABRs in Laborversuchen bestätigen (72% N-Entfernung über Nitritation/Anammox, 530-780 mg NH_4^+ zulauf/L, 32°C, intermittierender *flow-through* Betrieb). Messungen der N_2O -Konzentration in der flüssigen Phase ergaben, dass ~0,015% bzw. ~0,001% der N-Zulauffracht als N_2O -N den MABR mit dem Ablauf verließen, jeweils während der belüfteten und nicht belüfteten Phase. Diese Werte sind sehr gering verglichen mit Emissionswerten von großtechnischen Nitritation-Anammox-Reaktoren. Allerdings muss angemerkt werden, dass die Messungen nur im Bulk-Liquid durchgeführt wurden. Die Abluft aus den Membranen wurde nicht erfasst.

Latschbacher (2017) und Lang (2019) führten Messungen der Lachgasemissionen beim Prozess der Trübwasser-Nitritation in drei labormaßstäblichen MABRs an der TU Wien durch (siehe auch Kapitel 3). Dabei wurde nicht nur die N_2O -Fracht analytisch erfasst, die mit der Mixing-Luft aus dem Reaktor ausgestrippt wird, sondern auch die N_2O -Fracht, die in der Abluft aus den Membranen enthalten ist. Es wurde analytisch überprüft, dass im Biofilm produzierte N_2O und CO_2 durch die Membranwand zurück diffundieren können und den Reaktor über die Abluft verlassen. Die Messergebnisse zeigen, dass die gesamt emittierte N_2O -Fracht ~7% der oxidierten NH_4 -N-Fracht entspricht, wobei ca. 50% der Emissionen aus der Abluft der Membranen stammt (Mittelwert Prozesstage 230 bis 300). Der N_2O -Emissionsfaktor ohne Mixing-Luft liegt bei 3,4% N_2O -N/ NH_4^+ -N_{oxidiert}. In der Literatur schwanken die N_2O -Emissionsfaktoren für die Trübwasser-

Nitritation mit suspendierter Biomasse zwischen 3,4% (Kampschreur *et al.*, 2008) und 11,2% der oxidierten NH_4^+ -N-Fracht (Desloover *et al.*, 2011). Beim reinen Nitritationsprozess (ohne Anammox) im Trübwasser scheint, dass das MABR-Verfahren gegenüber konventionellen Verfahren keinen wesentlichen Beitrag zur Reduktion der N_2O -Emissionen leisten kann. Im weiteren Betrieb der labormaßstäblichen MABRs der TU Wien wird die Betriebsstrategie hinsichtlich der Reduktion der N_2O -Emissionen optimiert.

Aufbauend auf einem Simulationsmodell zur Behandlung von Trübwasser wird postuliert, dass in MABR die Stickstoffentfernung über den Anammoxprozess und die Entfernung von gelöstem Methan über den DAMO-Prozess (Denitrifying Anaerobic Methane Oxidation) kombiniert werden können (Chen *et al.*, 2015). Da allerdings die Fracht an gelöstem Methan im Trübwasser sehr gering ist (\ll 1% der CH_4 -Produktion im Faulturm, entspricht eine Emission an CO_2 -Equivalenten von $\sim 0,03 \text{ kgCO}_2\text{e/EW/a}$ gegenüber $24 \text{ kgCO}_2\text{e/EW/a}$ aus der Gesamtkläranlage), ist das erzielbare Reduktionspotential der CH_4 -Emission der Kläranlage gering (Parravicini *et al.*, 2016).

2.4 Zusammenfassung

Bei der Anwendung von MABRs zur Trübwasserbehandlung sind folgende Vorteile zu erwarten:

- Kompakte Becken mit kleinerem Platzbedarf (wie die meisten Biofilmverfahren)
- Flexible und wenig invasive Anpassung der O_2 -Zufuhr an Belastungsschwankungen gegenüber dem konventionellen Co-Diffusions-Biofilm
- Einsparung bei der Belüftungsenergie
- Hohe O_2 -Ausnutzung auch in flachen Becken möglich
- Potentielle Verringerung der Emissionen von gelösten Gasen (z.B. Lachgas)
- Minderung der Schaumbildung
- Gegenüber MBBR einfacheres Handling mit den im Trübwasser enthaltenen Feststoffen (einfacheres Austrag aus dem Reaktor).

3 Eigene Erfahrungen mit MABRs an der TU Wien

Im „von der Emde Technikum“ der TU Wien werden seit Oktober 2017 drei MABRs zur Trübwasserbehandlung betrieben. Zwei Diplomarbeiten (Markus Latschbacher, 2017; Bernhard Lang, 2019) haben das Thema der Nitritation im Trübwasser in MABRs bearbeitet.

Jede MABR-Anlage besteht aus einer Plexiglas-Säule (Hohe: 1,2 m; Nassvolumen ~0,7 L), in der 10 Cords mit Hohlfasern aus Dichtmembrane eingebracht sind (~0,33 m² Membranfläche, SUEZ Water Technologies & Solutions). Der Luftvolumenstrom durch die Membrane (*flow-through*-Betrieb) wurde bei 2 L/h eingestellt, mit 35 kPa Inputdruck und 25kPa Outputdruck. In der ersten Versuchsphase wurden die drei Reaktoren (A, B, C) als eine gemeinsame Anlage betrieben. Der Ablauf aus allen drei Reaktoren floss bis Versuchstag 216 in ein gemeinsames Nachklärbecken und der abgesetzte Schlamm wurde in den Zulaufstrom rezirkuliert (RV=200%). Danach wurde die Rezirkulierung ausgeschaltet. Das Mixing des Reaktorinhalts und das Abtrag des Biofilms erfolgen mit intermittierender grobblasiger Belüftung.

Für die Versuche wurde reales Trübwasser verwendet (Tabelle 1). Als Impfschlamm wurde Belebtschlamm aus einem großtechnischen nitritierenden Trübwasserbehandlungsbecken genutzt. Das Startup bis zu Etablierung des Biofilms dauerte ca. 2 Monate. Die Erhöhung der NH₄-N-Belastung richtete sich nach dem pH-Wert in den MABRs (Zielwert: 7,5). Die Temperatur schwankte mit der Raumtemperatur von 22 bis 28°C.

Tabelle 1: Zusammensetzung des behandelten Trübwassers (n: Anzahl der Proben).

Versuchsphase [d]	NH ₄ ⁺ -N [mg/L]	CSB [mg/L]	CSB _{mf} [mg/L]	Abfiltr. Stoffe [mg/L]
0-200	1.034 ± 53 (n=16)	270 ± 47 (n=16)	202 ± 11 (n=16)	60 ± 48 (n=16)
201-300	890 ± 103 (n=28)	244 ± 15 (n=5)	198 ± 8 (n=5)	39 ± 8 (n=5)

Die Versuchsergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die NH₄-N-Entfernung lag je nach NH₄⁺-Belastung zwischen 33 und 55%. Da keine Lauge zur pH-Wert-Anhebung dosiert wird, liegt die erwartete NH₄-N-Entfernung bei ca. 55% (Teil-Nitritation, Baumgartner *et al.*, 2016). Die maximal erzielte NH₄⁺-N-Entfernungsrates ist mit ~20 gN/d/m² (Abbildung 4) wesentlich höher verglichen mit Literaturwerten für die

Trübwasser-Nitrifikation in MABRs (z.B. 6-8 gN/d/m² in Lackner *et al.*, 2010) oder Nitrifikation/Denitrifikation von Schweinezuchtabwasser (4,5 gN/d/m² in Terada *et al.*, 2003).

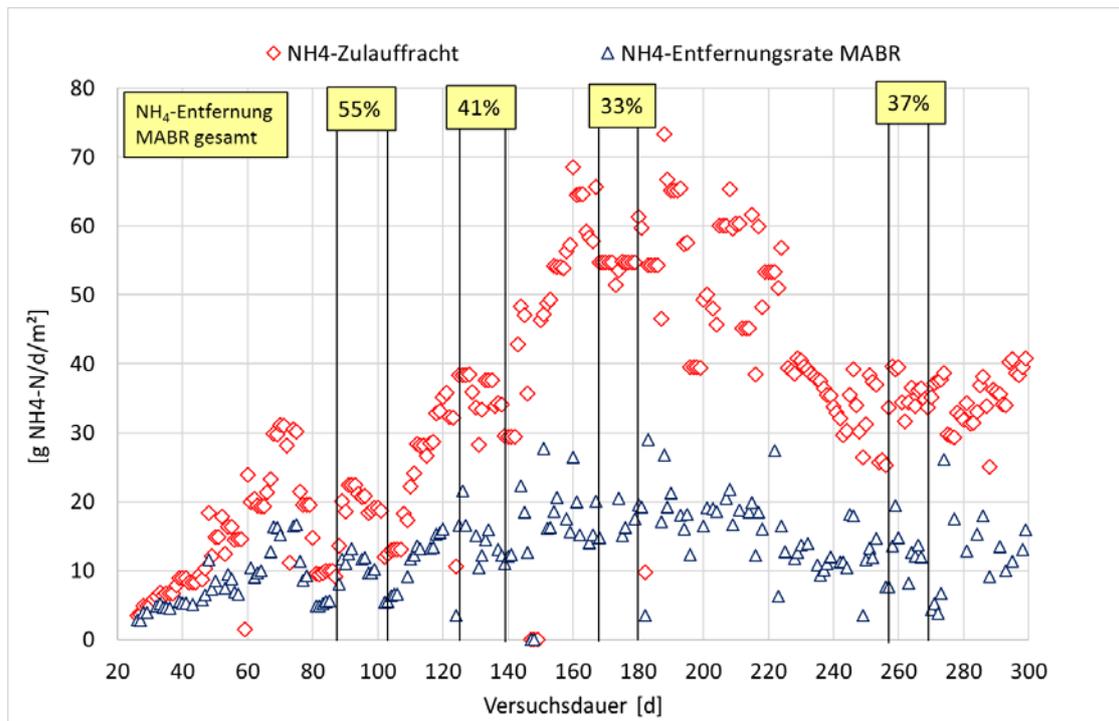


Abbildung 4. NH₄⁺-Belastung und NH₄⁺-Entfernungsrate der MABRs bezogen auf die Membranfläche. In diesem Zeitraum wurden die drei MABRs gleich parallel betrieben.

- Die Nitrifikation-Leistung war bis Versuchstag 220 nicht zufrieden-stellend. Weniger als 30% des oxidierten NH₄⁺-N lag als Nitrit vor, der Rest wurde zum Nitrat weiter oxidiert. Durch die Erhöhung der NH₄⁺-N-Belastung bei gleichbleibendem Druck und Luftvolumenstrom in den Membranen ($J_{O_2}/J_{NH_4^+}=1,23$) gelang es, nach ca. 3 Monaten die Aktivität der NOB zu unterdrücken (Abbildung 5). Der Nitrifikationsgrad stieg in allen drei MABRs auf 90%. Die zu erwartende niedrigere O₂-Konzentration im Biofilm und die höhere Konzentration an Ammoniak (höherer pH-Wert und höhere NH₄⁺-N-Konzentration im MABR) haben wahrscheinlich das Wachstum der NOB selektiv gehemmt. Um zu klären, ob auch die steigende Temperatur, die AOB im Konkurrenzkampf mit NOB unterstützte, wurden die MABRs bei unterschiedlicher Temperatur weiter betrieben. Reaktor C wurde ab Versuchstag 280 über einer Kühlkolonne auf 18-21°C gekühlt und Reaktor A ab Versuchstag 307 auf 27-31°C aufgewärmt (Abbildung 5). Die Auswertung der Messwerte ist im Laufen.
- In den Membranen konnte ein maximaler O₂-Flux von 70 gO₂/d/m² erreicht werden. Die errechnete O₂-Ausnutzung lag i.M. bei 30%.

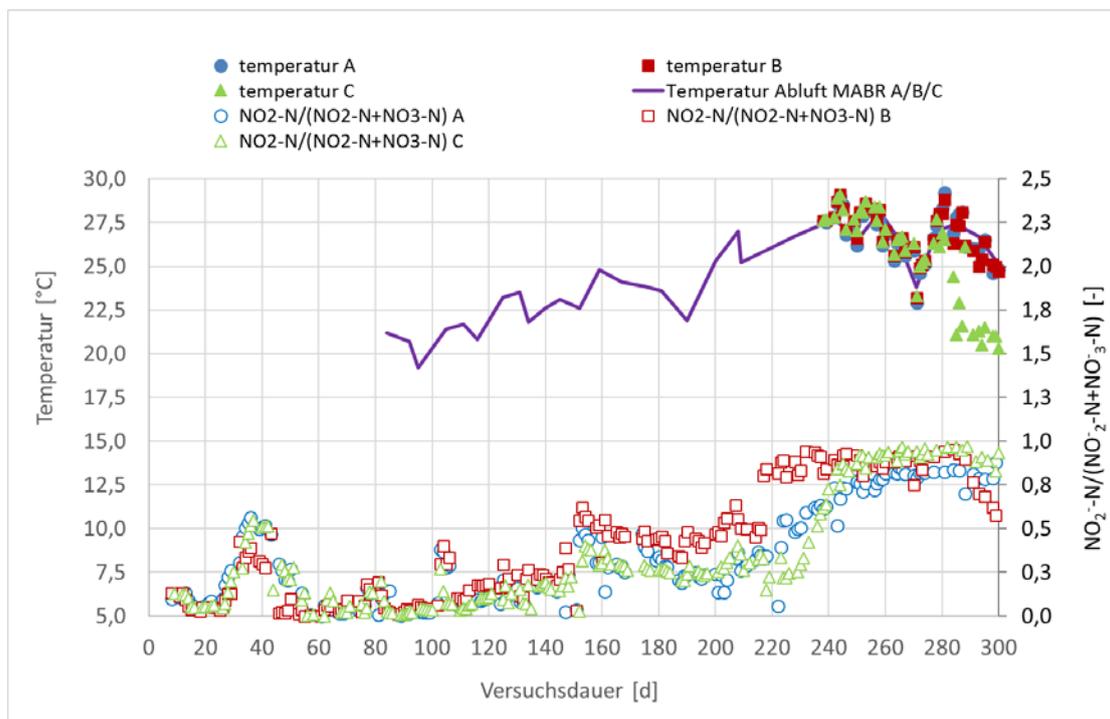


Abbildung 5. Entwicklung der Temperatur und der Nitritation in den drei MABRs A, B, C anhand des Verhältnisses Nitritstickstoff zu oxidiertem N.

4 Ausblick

Membranbelüftete Biofilm-Reaktoren stellen ein viel versprechendes Verfahren zur Behandlung von kommunalem Abwasser dar. Die bis heute gewonnenen Erfahrungen in Labor- und Pilotmaßstab zeigen, dass eine sinnvolle Anwendung auch im Bereich der Trübwasserbehandlung möglich ist. Hier ist jedoch weiterer Forschungsbedarf gegeben, um ein besseres Verständnis über die Vorteile von Counter-Diffusion-Biofilmen hinsichtlich eines stabilen Nitritation- und Anammoxprozesses mit hohem Wirkungsgrad zu erlangen. Die mit dieser innovativen Belüftungstechnologie zu erwartende Energieeinsparung und die mögliche Reduktion der Lachgasemissionen sind zwei wesentliche Aspekte, die das MABR-Verfahren für die Entwicklung energieeffizienter und klimaneutraler Kläranlage qualifizieren.

5 Literatur

Baumgartner T., Valkova T. Krampe J. (2016). Experience and performance data for the implementation of nitritation on a two-stage WWTP. Deliverable4.1, EU-Projekt PowerStep, Horizon 2020, www.powerstep.eu

- Baumgartner T., Parravicini V., Svoldal K., Krampe J. (2017). The relevance of SDE treatment for the energy efficiency of single and 2-stage WWTP concepts; Vortrag: IWA Specialist Conference on Sustainable Wastewater Treatment and Resource Recovery: Research, Planning, Design and Operation (NRR-LWWTP), Chongqing, China; 07.11.2017 - 10.11.2017; in: "*Proceedings*", 9 S.
- Casey E., Glennon B., Hamer G. (1999). Review of membrane aerated biofilm reactors. *Resources, Conservation and Recycling* 27, 203-215.
- Casey E., Glennon B., Hamer G. (1999b). Oxygen mass transfer characteristics in a membrane-aerated bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 62, 183-192.
- Chen X., Guo J., Xie G.J., Liu Y., Yuan Z., Ni B.J. (2015). A new approach to simultaneous ammonium and dissolved methane removal from anaerobic digestion liquor: A model-based investigation of feasibility. *Water Research* 5, 85, 295-303.
- Côté P., Bersillon J.-L., Huyard A. and Faup G. (1988). Bubble-Free Aeration Using Membranes: Process Analysis. *Water Pollution Control Federation*, Vol. 60 (11), 1986-1992.
- Côte P., Peeters J., Adams N., Hong Y. Long Z., Ireland J. (2015). A new membrane-aerated biofilm Reactor for low energy wastewater treatment: pilot results. Oral presentation at WEFTEC Conference 2015.
- Desloover J., De Clippeleir H., Boeckx P., Du Laing G., Colsen J, Verstraete W., Vlaeminck SE. (2011). Floc-based sequential partial nitrification and anammox at full scale with contrasting N₂O emissions." *Water Research* 45 (9), 2811-2821.
- Downing L., Nerenberg R. (2008). Effect of Oxygen Gradients on the Activity and Microbial Community Structure of a Nitrifying, Membrane-Aerated Biofilm. *Biotechnology and Bioengineering* 101(6), 1193-204.
- Ge S., Wang S., Yang X., Qiu S., Li B., Peng Y. (2015). Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: a review. *Chemosphere*, 120, 85-98.
- Gong Z., Yang F., Liu S., Bao H., Hu S., Furukawa K. (2007). Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox. *Chemosphere*, 69, 776-784.
- Joss A., Salzgeber D., Eugster J., König R., Rottenmann K., Burger S., Fabijan P., Leumann S., Mohn J., Siegrist H. (2009). Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitrification and anammox in one SBR. *Environ. Sci. Technol.* 43, 5301-5306.
- Klaus S., Baumler R., Rutherford B., Thesing G., Zhao H., Bott C. (2017). Startup of a partial Nitrification-Anammox MBBR and the implementation of a pH-based aeration control. *Water Environmental Research*, 89, 6, 500-517.
- Krampe J., Parravicini V., Baumgartner T., Svoldal K. (2016). *Die Kläranlage als Baustein zur Energiewende?* Oral presentation at 88. Darmstädter Seminar - Abwassertechnik, 25/05/16, Technische Universität Darmstadt, Institut IWAR (Germany), Tagungsband, IWAR-Schriftenreihe, 236 (2016), ISBN: 978-3-940897-36-7;
- Kampschreur, Marlies J., et al. "Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment." *Water Research* 42.3 (2008): 812-826.
- Kunetz T., Oskouie A., Poonsapaya A., Peeters J., Adams N., Long Z., Côté P. (2016). Innovative Membrane-Aerated Biofilm Reactor Pilot Test to Achieve Low-energy

- Nutrient Removal at the Chicago MWRD. Proceedings of the Water Environment Federation, WEFTEC 2016:pp. 2973-2987.
- Latschbacher M. (2017). *Evaluation of N₂O emissions of MABR treating SDE*. Diplomarbeit, TU Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement.
- Lang B. (2019). Betriebsoptimierung einer MABR-Versuchsanlage zur Behandlung von Trübwasser hinsichtlich der Maximierung der Nitrifikation und der Minimierung der N₂O-Emissionen. Diplomarbeit, TU Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement. Fertigstellung Ende 2019.
- Lackner S., Gilbert E.M., Vlaeminck S. E., Joss A., Horn H., van Loosdrecht M. C.M. (2014). Full-scale partial nitrification/anammox experiences – An application survey. *Water Research* 55, 292-303.
- Law, Y., Ni, B.-J., Lant, P. an Yuan, Z. (2012). N₂O production rate of an enriched ammonia-oxidising bacteria culture exponentially correlates to its ammonia oxidation rate. *Water Research* 46(10): 3409-3419.
- Mampaey, K., De Kreuk, M., van Dongen, U.G.J.M., van Loosdrecht, M.C.M., Volcke, E.I.P. (2016). Identifying N₂O formation and emissions from a full-scale partial nitrification reactor. *Water Research* 88: 575-585.
- Mehrdad M., Park H., Ramalingam K., Fillos J., Beckmann K., Deur A., Chandran K. (2014). Anammox moving bed biofilm reactor pilot at the 26th Ward wastewater treatment plants in Brooklyn, New York: start-up, biofilm population and performance optimization. *Water Sci. Technol.* 70(9), 1448-55.
- Meyer, S. S. & Wilderer P. A. (2004). Reject water: Treating of process water in large wastewater treatment plants in Germany - A case study. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 39.7: 1645-1654.
- Ni B.-J., Z. Yuan (2013). A model-based assessment of nitric oxide and nitrous oxide production in membrane-aerated autotrophic nitrogen removal biofilm systems. *Journal of Membrane Science* 428 163–171
- Parravicini V., Svoldal K., Krampe J. (2016). Greenhaus gas emissions from wastewater treatment plants. *Energy Procedia* 97, 246 – 253.
- Pellicer-Nàcher C., Sun S., Lackner S., Terada A., Schreiber F., Zhou Q., Smets B.F. (2010). Sequential Aeration of Membrane-Aerated Biofilm Reactors for High-Rate Autotrophic Nitrogen Removal: Experimental Demonstration, *Environ. Sci. Technol.*, 44, 7628–7634.
- Peng L., Sun J., Liu Y., Dai X., Ni B.-J. (2016). Nitrous oxide production in Co- versus Counter-Diffusion Nitrifying Biofilms. *Nature, Scientific Reports*, 6: 28880, doi:10.1038/srep28880
- Rosenwinkel K.-H., Cornerlius A. (2005). Deammonification in the Moving-Bed Process for the treatment of wastewater with high ammonia content. *Chem. Eng. Technol.* 28, 49-52.
- Schneider, Y., Beier, M. & Rosenwinkel, K.-H. (2013). Nitrous oxide formation during nitrification and nitrification of high-strength wastewater. *Water Science & Technology*, 67(11), 2494-2502.
- Semmens M.J., Dahm K., Shanahan J., Christianson A. (2003). *Water Research*, 37, 4343-4350.

- Syron E., Casey E. (2008). Membrane-aerated biofilms for high rate biotreatment: performance appraisal, engineering principles, scale-up, and development requirements. *Environ. Sci. Technol.* 42 (6), 1833-1844.
- Sun, S-P., Pellicier-Nàcher, C., Terada, A., Lackner, S., Smets, B. F. (2009). Start-up strategies of membrane-aerated biofilm reactor (MABR) for completely autotrophic nitrogen removal. In Proceedings of the 2nd IWA Specialized Conference on Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes (633-639). IWA Publishing.
- Terada A., Hibiya K., Nagai J., Tsuneda S., Hirata A. (2003). Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to high-strength nitrogenous wastewater treatment. *Journal of bioscience and bioengineering*, 95 (2), 170-178.
- Terada A., Lackner S., Tsuneda S., Smets B. F. (2007). Redox-Stratification Controlled Biofilm (ReSCoBi) for Completely Autotrophic Nitrogen Removal: The Effect of Co- versus Counter-Diffusion on Reactor Performance. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 97 (1), 40-51.
- Wett B. (2007). Development and implementation of a robust deammonification process. *Water Sci. Technol.* 56, 81-88.
- Wunderlin, P.; Lehmann, M. F.; Siegrist, H.; Tuzson, B.; Joss, A.; Emmenegger, L.; Mohn, J (2013). Isotope Signatures of N₂O in a mixed microbial population system: constraints on N₂O producing pathways in wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 47, 1339-1348.

Korrespondenz an:

Vanessa Parravicini

TU Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement
Karlsplatz 13/226/1, 1040 Wien

Tel.: +43/1/58801 22612

Mail: vparravi@iwag.tuwien.ac.at

Vergleich von Verfahren der Trübwasserbehandlung

Thomas Baumgartner, Karl Svardal, Vanessa Parravicini, Jörg Krampe
Technische Universität Wien, Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Abstract: Das bei der Entwässerung von anaerob stabilisiertem Schlamm anfallende Trübwasser stellt für Kläranlagen eine nicht zu unterschätzende Belastung dar. Der über das Schlammwasser in die Belebung kommende Stickstoff muss nitrifiziert und denitrifiziert werden. Steht Kohlenstoff nicht ausreichend zur Verfügung, was bei 2-stufigen Anlagen häufig der Fall ist, kann die geforderte Stickstoffentfernung nicht eingehalten werden. Eine entsprechende Vorbehandlung des Trübwassers ist in diesen Fällen unerlässlich. Dafür stehen physikalische (Strippung), chemische (Fällung) und biologische Verfahren (Nitrifikation, Nitritation, Anammox) zur Verfügung. Eine Bewertung der einzelnen Verfahren kann nur über eine Betrachtung der gesamten Anlage erfolgen. Die Berechnung des Gesamtenergiebedarfs einer Kläranlage zeigt, dass die biologischen Verfahren Nitritation und Anammox energetisch nahezu gleichwertig sind, während im Falle einer Strippung mit einem insgesamt höheren Energiebedarf gerechnet werden muss. Die Betrachtung der Errichtungskosten und der laufenden Kosten macht den Vorteil biologischer Verfahren im Vergleich zu physikalischen auch monetär deutlich. Unter Berücksichtigung des Betreuungsaufwandes und der Betriebsstabilität ergibt sich die Nitritation des Trübwassers im Nebenstrom als insgesamt beste Lösung der Vorbehandlung.

Key Words: Trübwasserbehandlung, Nitritation, N-Rückbelastung, Strippung

1 Einleitung

Trübwässer aus der Schlammbehandlung stellen für Abwasserreinigungsanlagen eine nicht zu unterschätzende Belastung dar (Gujer, 1998; Nowak, 1993). Die wesentliche Komponente im Trübwasser ist dabei Stickstoff in Form von Ammonium. Die Rückbelastung durch CSB ist durch die Stabilisierung des Schlammes vor Entwässerung von untergeordneter Bedeutung. Auch Phosphor im Schlammwasser ist selbst bei Anlagen mit biologischer Phosphor-Entfernung von nur geringer Relevanz.

Bei der Schlammwässerung fällt durch den üblichen Arbeitsablauf auf Kläranlagen Presswasser genau zu der Zeit an, in der die höchste Belastung der Anlage aufgrund von Zulaufspitzen erfolgt. Eine Verlagerung der Entwässerung in die Nachtstunden ist in den meisten Fällen aufgrund des fehlenden Kohlenstoffs im Zulauf nicht zu empfehlen. Der Betrieb eines Trübwasserspeichers mit einer kontinuierlichen Zugabe des Presswassers über den Tag verteilt kann zu einer Vergleichmäßigung der Belastungssituation beitragen und so Belastungsspitzen dämpfen.

Auf Anlagen mit ungünstigem N/CSB-Verhältnis kann die Rückbelastung aus dem Presswasser dazu führen, dass keine ausreichende Stickstoffentfernung erreicht werden kann. Das gilt im Besonderen auch für 2-stufige Anlagen. In diesen Fällen ist eine Vorbehandlung des anfallenden Trübwassers in einer separaten Trübwasserbehandlung erforderlich, um einen ausreichend hohen Stickstoffentfernungsgrad erzielen zu können.

Für die Vorbehandlung des Trübwassers im Nebenstrom stehen mehrere chemische, physikalische und biologische Möglichkeiten zur Verfügung. Bei der biologischen Behandlung des Schlammwassers kann lediglich eine Stickstoffumwandlung erreicht werden, für eine Denitrifikation steht im anfallenden Schlammwasser nicht ausreichend CSB zur Verfügung. Eine Entfernung von Stickstoff bedarf daher der Zugabe einer externen C-Quelle. Bei 2-stufigen Anlagen kann das nitrifizierte Trübwasser in die 1. Stufe eingeleitet werden, wo ausreichend Denitrifikationskapazität ungenutzt zur Verfügung steht. Die Beschaffenheit des Trübwassers führt in vielen Fällen zu einer Hemmung der Nitritoxidation, wodurch die Oxidation des Ammoniums nur bis zum Nitrit erfolgt und dadurch bei der anschließenden Denitrifikation weniger C-Quellen benötigt werden.

Durch die Vorbehandlung im Nebenstrom reduziert sich die Belastung und damit der Sauerstoffbedarf in der biologischen Stufe, da die Umwandlung des Ammoniums im Trübwasser in die separate Behandlung ausgelagert wird. Durch den günstigeren α -Wert in der Trübwasserbehandlung bietet die separate biologische Behandlung neben betrieblicher Optimierung auch die Möglichkeit der Energieoptimierung auf Kläranlagen.

2 N-Rückbelastung bei anaerober Stabilisierung

Das Thema der Energieoptimierung auf Kläranlagen hat in der Vergangenheit zusehends an Bedeutung gewonnen. Obwohl der Anteil für die Abwasserreinigung am gesamten bundesweiten Energieverbrauch lediglich im Bereich

von 1 % liegt, stellen Kläranlagen in vielen Gemeinden einen der größten Energieverbraucher dar. Es werden daher Anstrengungen unternommen, um den Bedarf an Energie für die Abwasserreinigung zu reduzieren.

Die Reduktion der benötigten externen Energie wird maßgeblich durch zwei Maßnahmen erreicht. Zum einen wird durch Betriebsoptimierung der Bedarf an Energie reduziert (Einsatz moderner Aggregate sowie Mess-, Steuer- und Regelungstechnik vor allem im Bereich der Belüftung), zum anderen wird durch eine Erhöhung der Gasausbeute bei der Faulung und eine effiziente Verstromung die Stromproduktion erhöht. Dadurch wird die Eigenstromversorgung erhöht und der Anteil an benötigter externer Energie reduziert.

Die Gasproduktion in der Faulung resultiert aus dem Energieinhalt (CSB) des zugeführten Schlammes. Es wird daher vielfach angestrebt, eine möglichst weitgehende Abscheidung von energiereichem Primärschlamm in der Vorklärung zu erreichen.

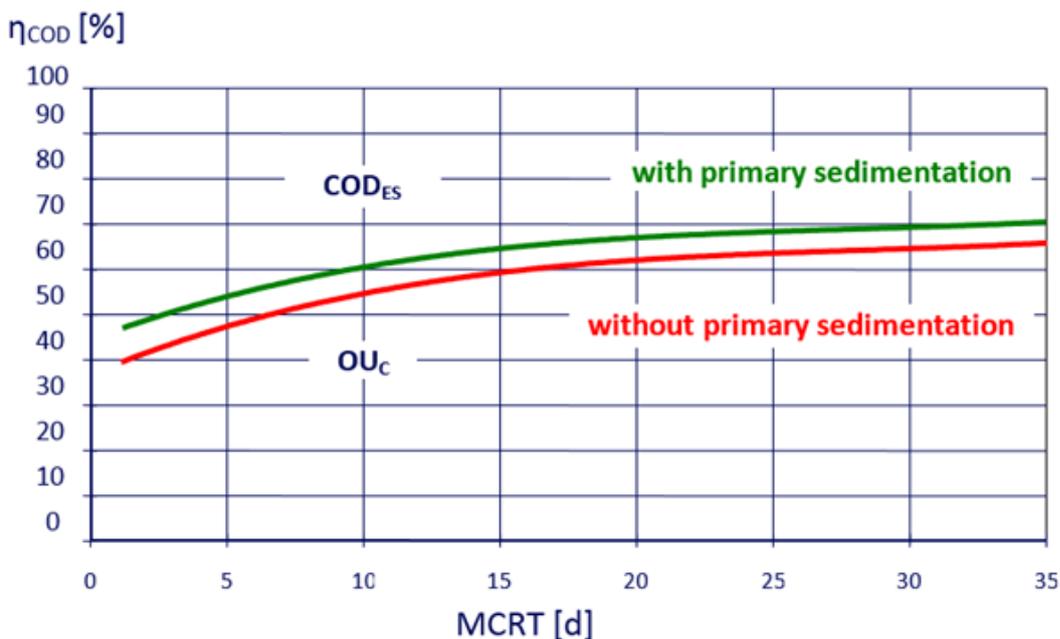


Abbildung 1: CSB im Überschussschlamm in Abhängigkeit des Schlammalters (Nowak & Svardal, 1989)

Der Energieinhalt des abgezogenen Überschussschlammes ist abhängig vom Betriebsschlammalter. Bei einem Schlammalter von 12 bis 14 Tagen werden ca. 60 bis 65 % des CSB in der biologischen Stufe veratmet, lediglich die verbleibenden 35 bis 40 % des CSB gehen in den Schlamm und stehen in der Faulung für die Methanisierung zur Verfügung. Im Falle einer 2-stufigen Belebungsanlage wird die 1. Stufe bei einem Schlammalter von 1 bis 2 Tagen als Hochlaststufe zur CSB-Reduktion betrieben. Der Energieinhalt des Schlammes bei niedrigem Schlammalter ist deutlich höher. Es werden weniger als 50 % des CSB veratmet,

die restlichen 50 % sind in der Biomasse zu finden und können in der Faulung in Faulgas umgewandelt werden. Aus diesem Grund ist bei 2-stufigen Belebungsanlagen in der Regel die spezifische Gasausbeute höher als bei einstufigen Anlagen.

Eine weitere Möglichkeit die Gasproduktion zu erhöhen ist die Übernahme von Co-Substraten oder Fremdschlämmen. In vielen Fällen dienen Fette oder Speisereste als Energielieferanten, um die Stromproduktion auf der eigenen Anlage zu erhöhen. Das führt dazu, dass viele dieser Anlagen nicht nur den Eigenstrombedarf decken, sondern mehr Strom produzieren, als sie selber benötigen („energiepositive Kläranlage“).

Durch die Erhöhung der zugeführten abbaubaren organischen Fracht erhöht sich allerdings auch der Anteil an gelöstem Stickstoff in der Faulung. Beim ersten Schritt des anaeroben Abbaus wird der Schlamm hydrolysiert. Während der Kohlenstoff über den Zwischenschritt der Versäuerung weiter in Methan umgewandelt wird und so gasförmig als Faulgas ausgetragen wird, verbleibt der vormals organisch gebundene Stickstoff in Form von Ammonium im Faulschlamm. Bei der Schlammentwässerung gelangt so eine nicht unbeträchtliche Menge an Stickstoff (ca. 20 % bezogen auf die Zulauffracht) wieder zurück zur Anlage und muss in der biologischen Stufe nitrifiziert und denitrifiziert werden. Das führt neben höherem Energiebedarf auch zu einem größeren erforderlichen anoxischen Beckenvolumen. Damit steigt das Gesamtschlammalter und damit auch der Anteil an veratmetem CSB, was zu einem reduzierten Energieinhalt des Überschussschlammes führt (weniger CSB im Schlamm) und damit zu einer geringeren Gasproduktion in der Faulung. Dieser negative Effekt auf die Energiebilanz der Biologie und die Stickstoffentfernung erhöht sich mit der eingebrachten CSB-Fracht in die Faulung. Besonders im Fall von Fremdschlämmen oder Übernahme von Co-Substraten (insbesondere Proteine) wird zusätzlicher Stickstoff in der Faulung frei, der dann in der Anlage behandelt werden muss. Da nach der anaeroben Stabilisierung im Trübwasser kein verfügbarer CSB für die Denitrifikation vorhanden ist, muss bei der Übernahme von externen Schlämmen oder Substraten auch immer gewährleistet sein, dass genügend Kohlenstoff für die Stickstoffentfernung im Zulauf zur Biologie zur Verfügung steht. Die zwei nachfolgenden N-Bilanzen zeigen die Stickstoff-Rückbelastung durch das anfallende Trübwasser. Es wurde in beiden Fällen eine 1-stufige Anlage bilanziert, bei der im zweiten Fall Speisereste (N-Gehalt bezogen auf oTS von 4 % (Svardal & Haider, 2010)) in einem nicht unüblichen Ausmaß von 30 % des Input-CSB übernommen werden. Durch den zusätzlich eingebrachten Stickstoff steigt die N-Fracht im Trübwasser um knapp 28 % (23,5 % bezogen auf die N-Zulauffracht), der zu denitrifizierende Stickstoff in der Belebung um knapp 9 %. In der

biologischen Stufe muss in diesem Fall also neben einer höheren zu nitrifizierenden Ammoniumfracht auch eine entsprechend höhere Denitrifikationsleistung gewährleistet sein, damit es zu keiner Verschlechterung der Ablaufqualität kommt.

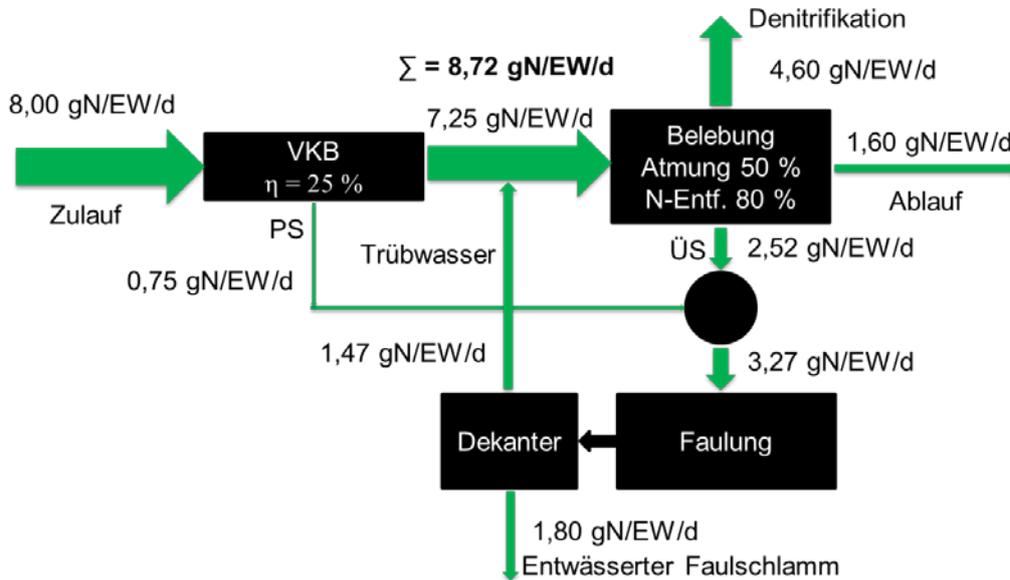


Abbildung 2: N-Bilanz einer einstufigen Belebungsanlage mit Faulung (Baumgartner & Svardal, 2017)

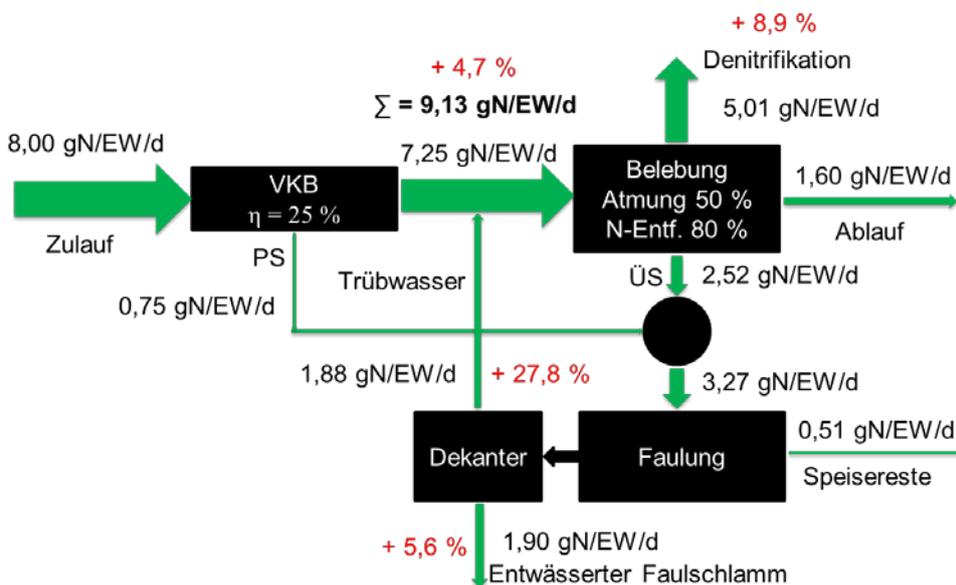


Abbildung 3: N-Bilanz mit zusätzlicher Übernahme von Speiseresten im Ausmaß von 30 % des Input-CSB der Faulung (Baumgartner & Svardal, 2017)

Insbesondere bei 2-stufigen Anlagen und bei der Übernahme von Fremdschlämmen oder Co-Substraten ist eine separate Behandlung bzw. Vorbehandlung des Trübwassers unerlässlich. Die Einleitung des unbehandelten Trübwassers in die biologische Stufe würde zu einer deutlichen Verschlechterung der Denitrifikationsleistung führen. Die geforderte Stickstoffentfernung von 70% wäre damit nur schwer einzuhalten.

3 Verfahren zur separaten Behandlung von Schlammwässern

Für die separate Behandlung von Trübwässern stehen sowohl biologische als auch chemisch/physikalische Verfahren zur Verfügung. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Technologien kurz beschrieben. Eine Bewertung der Verfahren an sich ist nur im Zusammenhang mit dem Gesamtkonzept der Kläranlage sinnvoll.

3.1 Strippung

Unter Strippung versteht man ein physikalisches Trennverfahren, bei dem ein Stoff aus der flüssigen Phase mittels Strippgas (Luft oder Wasserdampf) in die Gasphase übergeführt wird. Für die Behandlung von Trübwässern ist es zunächst einmal erforderlich, den Ammoniumstickstoff durch Anhebung des pH-Wertes (Dosierung von z. B. Natronlauge oder Kalkmilch) in Ammoniak überzuführen. Der eigentliche Trennprozess erfolgt dann in Strippskolonnen. Hier wird das Trübwasser von oben nach unten durch die Kolonne geführt. Im Gegenstrom dazu wird das Strippgas durch die Kolonne geführt, wodurch sich das gasförmige Ammoniak darin anreichert. Die beladenen Brüden werden üblicherweise abgezogen und der weiteren Behandlung (Rückgewinnung von Ammoniakwasser, saure Wäsche, Verbrennung) zugeführt.

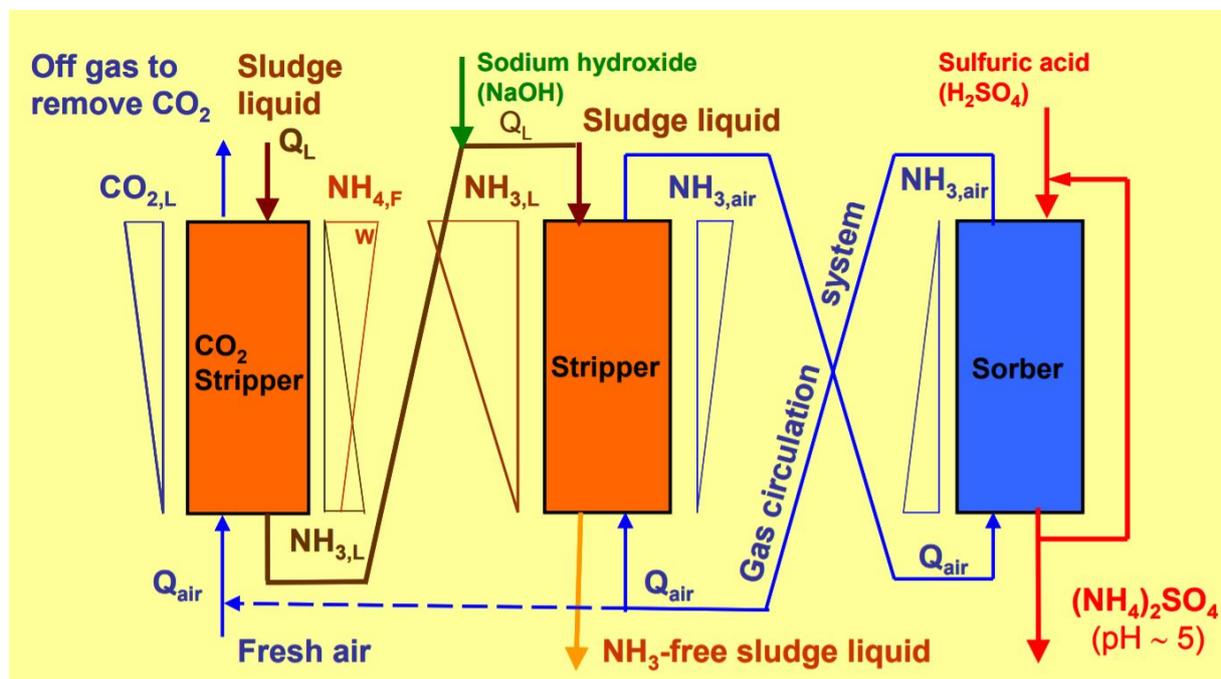


Abbildung 4: Prinzipskizze Ammoniakstrippung mit Sorber und CO₂-Stripper (www.eawag.ch)

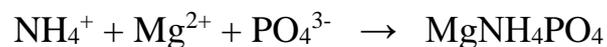
Bei der sauren Wäsche wird das beladene Strippgas durch einen Sorber geführt, wo durch Zugabe von z. B. Schwefelsäure Ammoniak wieder in die flüssige

Phase übergeführt wird und so in Form von Ammoniumsulfat ((NH₄)₂SO₄) als Dünger Verwendung finden kann.

Über den Prozess der Ammoniakstrippung können üblicherweise etwa 90 % der Stickstofffracht aus dem Trübwasser entfernt werden. Die verbleibenden 10 % müssen in der biologischen Stufe der Kläranlage behandelt werden. Durch die Entstehung eines vermarktbareren Produktes kann, sofern Abnehmer dafür gefunden werden können, ein Erlös erzielt werden. Ein entscheidender Nachteil der Ammoniakstrippung liegt in den hohen Kosten für Anschaffung und Betrieb. Der sehr hohe Bedarf an Wärme (16 kWh_{primär}/kgN_{entfernt}), Strom (4,5 kWh_{primär}/kgN_{entfernt}) und Chemikalien (1 molNaOH/molN und 0,5 molH₂SO₄/molN) führt dazu, dass die Produktion von verfügbarem Stickstoff eine deutlich schlechtere Energiebilanz aufweist, als die technische Ammoniaksynthese mittels Haber-Bosch-Verfahren (Siegrist, 1996; PowerStep, 2016).

3.2 Fällung

Ammonium kann durch chemische Fällung aus dem Abwasser entfernt werden. Kommt gelöstes Ammonium in Kontakt mit Magnesium und Phosphat, so entsteht das schwer lösliche Salz Magnesiumammoniumphosphat, MAP:



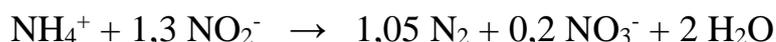
Diese Fällreaktion wurde in den letzten Jahren zur Rückgewinnung von Phosphor intensiv untersucht (Vaneckhaute et al., 2016). Aus der Stöchiometrie der Fällreaktion ist zu sehen, dass das molare Verhältnis von Phosphat und Ammonium 1 ist, damit werden pro Gramm gefälltem Phosphor 0,45 gNH₄-N entfernt. Selbst bei Anlagen mit gut funktionierender biologischer P-Elimination (Bio-P) werden im Trübwasser nach anaerober Stabilisierung des Schlammes lediglich Orthophosphat-Konzentrationen von 200 bis 250 mg/L gemessen. Die Ammoniumstickstoff-Konzentration liegt üblicherweise in einem Bereich von 1.000 bis 2.000 mg/L. Mit dem vorhandenen Phosphor könnten also bei einer MAP-Fällung lediglich ca. 5 % des Ammoniumstickstoffs aus dem Trübwasser entfernt werden. Erst durch die Zugabe einer Phosphatquelle (Phosphorsäure) könnte die Stickstoffentfernung gesteigert werden, was jedoch aus wirtschaftlicher und ökologischer Sicht keinen Sinn macht.

3.3 Biologische Verfahren

Prinzipiell können alle aus der Abwassertechnik bekannten biologischen Verfahren zum Einsatz kommen. Die CSB-Fracht (oxidierbare Kohlenstoffverbindungen) im Schlammwasser ist gering, sodass für die Denitrifikation

externe Substrate eingesetzt werden müssen. Dafür können schnell abbaubare organische Verbindungen wie Methanol, aber auch Primärschlamm oder Hochlastschlamm aus der 1. Stufe einer zweistufigen Anlage verwendet werden. Gelingt es, Ammonium nur bis zum Nitrit zu oxidieren, also die Bildung von Nitrat zu unterbinden, kann der Sauerstoffbedarf um 25 % und der Bedarf an externen Kohlenstoffquellen um 40 % reduziert werden.

Es sind alternative biologische Verfahren zur Entfernung von Stickstoff bekannt und im großtechnischen Einsatz, bei denen weniger oder kein CSB für die Stickstoffentfernung benötigt wird. Voraussetzung für das Funktionieren solcher Verfahren ist die strikte Einhaltung einiger Prozessparameter. Ein Verfahren dieser Art ist die sog. Deammonifikation. Hierbei wird zunächst ca. die Hälfte des Ammoniums zum Nitrit (NO_2^-) oxidiert. Anschließend werden Ammonium und Nitrit mittels spezieller Bakterien (Anammox-Bakterien) unter bestimmten Bedingungen (erhöhte Temperatur, hohe Ammoniumkonzentration, optimaler pH-Wert, niedrige O_2 -Konzentration bzw. anoxische Bedingungen) zu elementarem Stickstoff umgewandelt. Die Reaktionsgleichung hat vereinfacht folgende Form:



4 Vergleich des O_2 -Bedarfs biologischer Behandlungsverfahren

Die biologischen Verfahren zur Stickstoffumwandlung (Nitritation und Nitratation) sind hinlänglich bekannt. Im ersten Teilschritt werden für die Umwandlung von 1 mol NH_4^+ zu 1 mol NO_2^- 1,5 mol O_2 benötigt. Daraus errechnet sich ein stöchiometrischer Sauerstoffbedarf von 3,43 $\text{gO}_2/\text{gNO}_2\text{-N}$, der in der Praxis durch die Reduktion von CO_2 zu Biomasse auf 3,25 $\text{gO}_2/\text{gNO}_2\text{-N}$ reduziert wird. Bei der weiteren Oxidation von Nitrit zu Nitrat werden 0,5 mol O_2 benötigt, was stöchiometrisch einen Sauerstoffbedarf für den Gesamtprozess der Nitrifikation von 4,57 $\text{gO}_2/\text{gNO}_3\text{-N}$ ergibt. Der tatsächliche Sauerstoffbedarf kann unter Berücksichtigung des Biomasseaufbaus mit 4,33 $\text{gO}_2/\text{gNO}_3\text{-N}$ angenommen werden.

Beim Abbau von Stickstoffverbindungen über Denitritation (bei Vorhandensein von Nitrit) oder Denitrifikation (bei Vorhandensein von Nitrat) muss ausreichend Substrat (CSB) für die heterotrophen Bakterien vorhanden sein. Der Bedarf an abbaubaren Kohlenstoffverbindungen errechnet sich dabei zu 2,86 $\text{gCSB}/\text{gNO}_3\text{-N}$ bzw. zu 1,71 $\text{gCSB}/\text{gNO}_2\text{-N}$. Erfolgt die Stickstoffentfernung über Nitrit, sind also im Vergleich zur Denitrifikation nur etwa 60 % des CSB erforderlich.

Grundsätzlich ist zu sagen, dass die Umwandlung und der Abbau von Ammonium zu elementarem Stickstoff unabhängig vom chemischen Prozess immer denselben Sauerstoffbedarf aufweisen. Die nachfolgenden Abbildungen stellen den Verlauf des Abbaus von 1 gNH₄-N zu 1 gN₂-N für die Prozesse Nitrifikation, Nitritation und Anammox dar. Es wird bei den Berechnungen davon ausgegangen, dass in einem separaten Becken zur Trübwasserbehandlung aufgrund der Ionenbilanz im Trübwasser lediglich 55 % der Ammoniumfracht zu Nitrit oder Nitrat umgewandelt werden kann. Das verbleibende Ammonium muss in der biologischen Stufe der Kläranlage zu Nitrat oxidiert und anschließend abgebaut werden. Der dabei verbrauchte (veratmete) CSB ist als O₂-Einsparung bei der Berechnung des Gesamtsauerstoffbedarfs berücksichtigt. Eine kleine Unschärfe bei der Berechnung des Gesamtsauerstoffbedarfs ist dem Umstand geschuldet, dass bei den vereinfachten Reaktionsgleichungen der Biomasseaufbau herausgerechnet wurde.

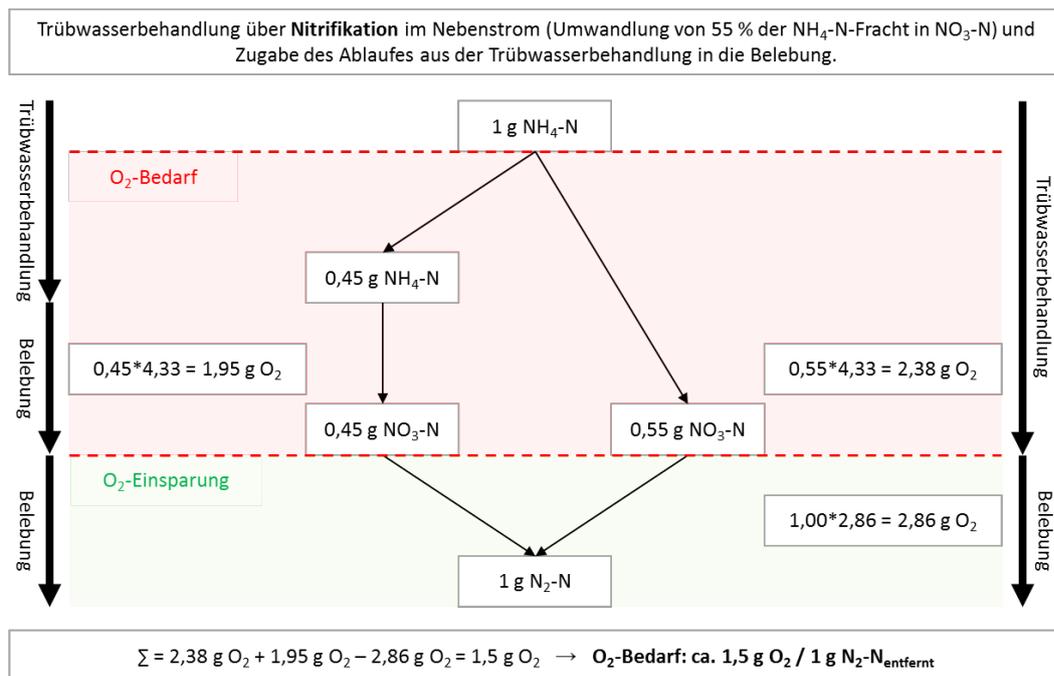


Abbildung 5: O₂-Verbrauch bei Trübwassernitrifikation und Einleitung in die Belebung

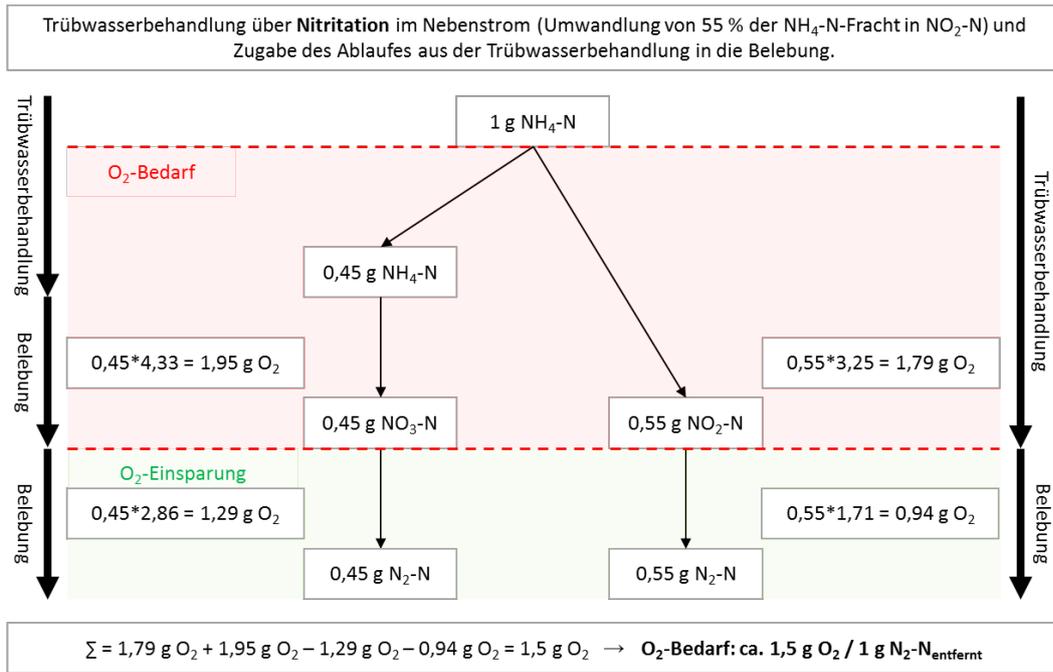


Abbildung 6: O₂-Verbrauch bei Trübwassernitritation und Einleitung in die Belebung

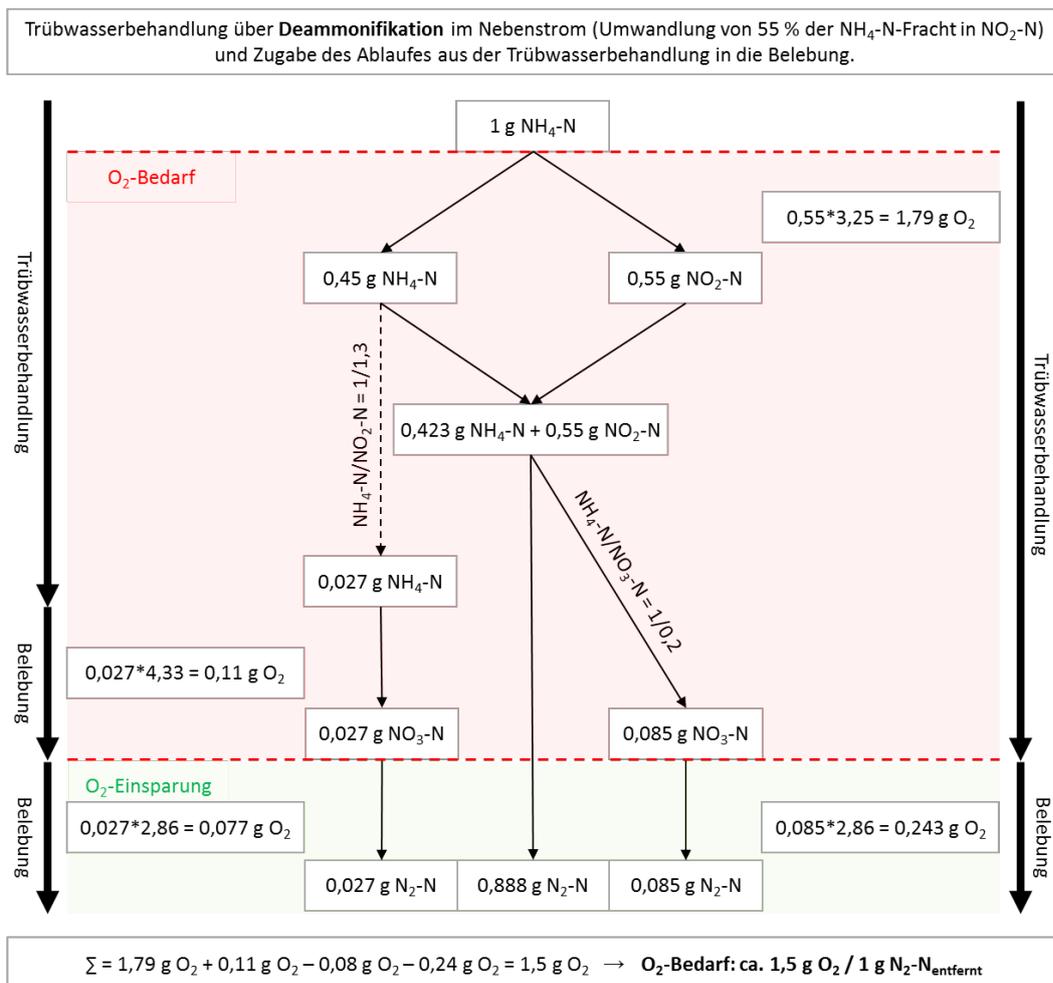


Abbildung 7: O₂-Verbrauch bei Nitritation/Anammox und Einleitung in die Belebung

Es gibt also keinen Vorteil hinsichtlich des Sauerstoffbedarfs für eines der dargestellten Verfahren. Lediglich beim Bedarf an abbaubarem Kohlenstoff (CSB) zur Stickstoffentfernung (OVD) gibt es Unterschiede. Hier zeigt sich, dass bei Anammox lediglich 11 % des für Nitrifikation-Denitrifikation benötigten Kohlenstoffs erforderlich sind.

Tabelle 1: Sauerstoff- und CSB-Bedarf für die Umwandlung von 1 gNH₄-N zu 1 gN₂-N

Prozess	O ₂ -Bedarf	OVD für N-Entfernung	Gesamtprozess
Nitrifikation Denitrifikation	+ 4,33 gO ₂ /gN	2,86 gCSB/gN	ca. + 1,5 gO ₂ /gN
Nitritation Denitritation	+ 3,74 gO ₂ /gN	2,23 gCSB/gN	ca. + 1,5 gO ₂ /gN
Nitritation Anammox	+ 1,90 gO ₂ /gN	0,32 gCSB/gN	ca. + 1,5 gO ₂ /gN

Ein höherer CSB-Bedarf bedeutet aber nicht zwingend eine schlechtere Energiebilanz. Gerade bei 2-stufigen Anlage bietet ein höherer CSB-Bedarf auch Möglichkeiten zur Energieeinsparung. Der Grund dafür liegt vor allem in der benötigten Energie für die Sauerstoffzufuhr.

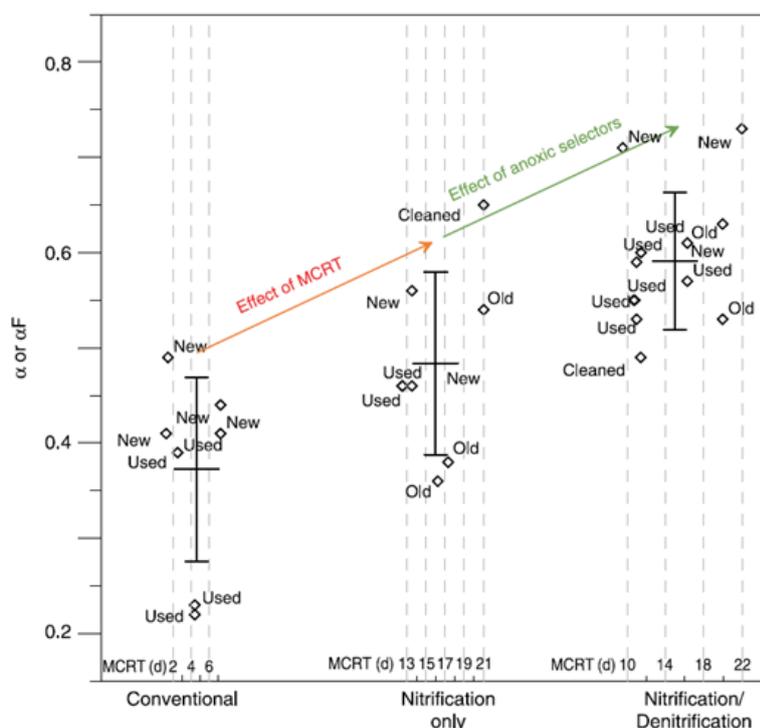


Abbildung 8: Zusammenhang zwischen Schlammalter und α -Faktor (Rosso et al., 2008)

Bei konventionellen 1-stufigen Anlagen mit Nitrifikation und Denitrifikation und einem entsprechenden Schlammalter von 12 bis 14 Tagen ist ein α -Faktor (Verhältnis Sauerstoffeintrag in Abwasser zu Sauerstoffeintrag in Reinwasser) von 0,5 bis 0,6 üblich. In der ersten Stufe einer 2-stufigen Belebungsanlage liegt das Schlammalter bei ca. 1 bis 2 Tagen. Daraus resultiert ein sehr niedriger α -Faktor im Bereich von 0,3 bis 0,4 (Frey, 2011). Es ist also mit einem deutlich höheren Energieaufwand verbunden, Sauerstoff in die 1. Stufe einzutragen. Messungen in separaten Trübwasserbehandlungsbecken haben gezeigt, dass aufgrund des sehr geringen Feststoffanteils α -Werte von 0,7 und darüber erreicht werden können. Wird also Ammonium im Trübwasser bei einem energetisch günstigen α -Wert von 0,7 nitrifiziert und anschließend in der 1. Stufe einer 2-stufigen Anlage denitrifiziert, dann reduziert die damit verbrauchte Menge an CSB den Sauerstoffbedarf und durch den schlechten α -Wert von 0,3 den Energiebedarf der 1. Stufe deutlich.

Obwohl der Sauerstoffbedarf für die Umwandlung und Entfernung des Stickstoffs für alle dargestellten Verfahren gleich groß ist, variiert die dafür benötigte Energie. Es kann durch eine optimierte Verfahrenswahl bei der Trübwasserbehandlung so eine Energieeinsparung bei der aufzuwendenden Belüftungsenergie lukriert werden.

5 Einfluss der Trübwasserbehandlung auf die Energiebilanz von 1- und 2-stufigen Anlagen

Das gewählte Verfahren zur Trübwasserbehandlung beeinflusst die Gesamtenergiebilanz der Anlage. Die benötigte Energie für die Stickstoffentfernung resultiert bei biologischen Verfahren hauptsächlich aus der aufgewendeten Belüftungsenergie. Durch eine strategisch günstige Verfahrenswahl kann somit Energie gespart werden.

In den folgenden Kalkulationen wird der Energiebedarf für 1- und 2-stufige Anlagen mit unterschiedlichen Trübwasserbehandlungsverfahren gegenübergestellt. Den Berechnungen liegt dabei eine Kläranlage mit einer Auslastung von 100.000 EW zugrunde. Das Verhältnis N/CSB im Zulauf beträgt 8/120 g/EW/d. Die im internationalen Vergleich doch recht niedrige N-Fracht im Zulauf wurde durch eine umfangreiche Untersuchung auf großen österreichischen Kläranlagen ermittelt (Lindtner & Zessner, 2003). Für die Berechnungen wurde eine CSB-Reduktion von 95 % angenommen. In der Vorklärunng kann eine Abscheidung von 30 % der organischen Fracht erreicht werden. Der abgezogene Primärschlamm wird der Faulung zugeführt und

anaerob stabilisiert. Der nach der Faulung im Schlamm verbleibende CSB wird mit 30 g/EW/d angenommen. Der abgebaute CSB wird in einem Blockheizkraftwerk mit einem Wirkungsgrad von 35 % verstromt, was einem Energiegewinn von 3,5 kWh_{el}/m³CH₄ entspricht. Der Sauerstofftrag durch das feinblasige Belüftungssystem wird mit 3,6 kgO₂/kWh im Reinwasser gewählt. Der tatsächliche Sauerstofftrag ist von den gewählten α -Faktoren in den unterschiedlichen Anlagenteilen abhängig. Bei der Berechnung von 1-stufigen Anlagen wird der α -Wert in der biologischen Stufe mit 0,5 angenommen. Bei den Berechnungen zu 2-stufigen Anlagen wird in der 1. Stufe ein α -Wert von 0,4 gewählt und in der 2. Stufe ein α -Wert von 0,6. In der separaten Trübwasserbehandlung wird der α -Wert mit 0,8 angenommen. Die Sauerstoffkonzentration in allen biologischen Stufen und der Trübwasserbehandlung wird mit 1,5 mg/L gewählt. Es wird dabei vorausgesetzt, dass die Sauerstoffzufuhr mit der heutigen Mess-, Steuer- und Regelungstechnik auf diesen Wert geregelt werden kann. Weiters wird angenommen, dass die Umwandlung von Ammonium in der Trübwasserbehandlung mit 55 % beschränkt ist. Eigene Erfahrungen aus Labor und Praxis bestätigen diese Annahme. Für die Kalkulation der Strippung wurde eine Luftstrippung mit CO₂-Stripper herangezogen. Der Wirkungsgrad der Stickstoffentfernung wurde mit 90 % gewählt. Die Stickstoffentfernung der Gesamtanlage soll 80 % betragen.

Tabelle 2: Energieberechnung für 1-stufige ARA mit 80 % N-Entfernung

Verfahren	Energie _{el} in kWh/EW/a					Eigenstrom- abdeckung
	Belüftung	Faulgas	ARA Gesamt	Δ	Netzbezug	
Ohne TWB	13,5	18,4	26,2	±0,0 %	7,8	70 %
TWB Nitrifikation	13,3	18,4	26,0	-0,8 %	7,6	71 %
TWB Anammox	13,2	18,4	25,7	-1,9 %	7,4	71 %
TWB Strippung	13,1	18,4	26,1	-0,4 %	7,8	70 %

Sowohl die Energie aus der Faulgasverwertung als auch die gesamte benötigte Energie ist bei 1-stufigen Anlagen nicht bzw. nur sehr gering von der Art der Trübwasserbehandlung abhängig und in allen Fällen nahezu gleich. Der große Unterschied der betrachteten Verfahren liegt in der benötigten Menge an Kohlenstoff für die Stickstoffentfernung. Erfolgt keine Vorbehandlung des Trübwassers, muss die gesamte Ammoniumfracht in der Belebung nitrifiziert

und anschließend denitrifiziert werden. Dabei werden pro Gramm $\text{NO}_3\text{-N}$ 2,86 gCSB benötigt. Wird das Trübwasser im Nebenstrom nitritiert, reduziert sich die insgesamt benötigte Menge an Kohlenstoff, da für die Entfernung von einem Gramm Nitrit Stickstoff lediglich 1,71 gCSB benötigt werden. Den geringsten Kohlenstoffbedarf bei den biologischen Verfahren erreicht man durch eine Vorbehandlung im Nebenstrom durch Nitritation/Anammox, da eben diese Bakterien ohne Kohlenstoff Stickstoff entfernen können. Durch die Strippung werden 90 % des Stickstoffs entfernt und kommen nicht mehr zur biologischen Stufe. Dadurch reduziert sich die benötigte Energie für Belüftung. Da der Prozess der Strippung aber ein sehr energieintensiver ist, gibt es nahezu keinen energetischen Vorteil in Bezug auf die Gesamtenergie. Ist im Zulauf eine entsprechende Menge an Kohlenstoff vorhanden, dann ist das Ziel der Stickstoffentfernung von 80 % mit allen betrachteten Varianten möglich. Steht nicht ausreichend CSB in der biologischen Stufe zur Verfügung, was bei 1-stufigen Anlagen eher unüblich ist, dann ist eine getrennte Vorbehandlung des Trübwassers über eines der genannten Verfahren für die Einhaltung des Zieles einer 80 %igen Stickstoffentfernung unerlässlich.

Tabelle 3: Energieberechnung für 2-stufige ARA mit 80 % N-Entfernung

Verfahren	Energie _{el} in kWh/EW/a					Eigenstrom- abdeckung
	Belüftung	Faulgas	ARA Gesamt	Δ	Netzbezug	
Ohne TWB	11,3	20,6	23,2	$\pm 0,0$ %	2,7	88 %
TWB Nitritation	10,7	22,0	22,6	-2,6 %	0,6	97 %
TWB Anammox	10,6	22,2	22,4	-3,4 %	0,2	99 %
TWB Strippung	10,4	22,2	23,0	-0,9 %	0,8	97 %

Verglichen mit 1-stufigen Anlagen kann auf 2-stufigen Anlagen mehr Energie durch die anaerobe Stabilisierung gewonnen werden. Das liegt hauptsächlich daran, dass aufgrund des geringen Schlammalters in der hochbelasteten 1. Stufe ein sehr energiereicher Überschussschlamm entsteht, der in weiterer Folge durch die höhere organische Fracht in der Faulung zu einer höheren Gasproduktion führt. Bedingt durch diese höhere organische Belastung der Faulung ist auch die Stickstoffrückbelastung durch das anfallende Trübwasser höher.

Durch die hohe CSB-Entfernung in der 1. Stufe steht in der 2. Stufe weniger Kohlenstoff für die Stickstoffentfernung zur Verfügung. In der betrachteten Variante ohne TWB resultiert der geringere Energiegewinn aus der Faulgasnutzung aus dem Umstand, dass für eine Einhaltung der geforderten Stickstoffentfernung die erforderliche Menge an CSB über einen Bypass aus dem Ablauf der Vorklärung in die 2. Stufe dosiert werden muss. Die beiden biologischen Verfahren der Stickstoffentfernung stehen sich energetisch nahezu gleichwertig gegenüber.

Die Kosten für eine separate Trübwasserbehandlung wurden mit einer groben Kostenschätzung ermittelt. Kalkuliert wurden die nachträgliche Errichtung einer Nitritionsstufe, Anammox-Behandlung und einer Luftstrippungsanlage. Für die betrachtete Abwasserreinigungsanlage für 100.000 EW ergeben sich dabei Beträge von etwa 300.000 € für eine Nitritation im Nebenstrom, etwa 400.000 € für eine Anammox-Behandlung im Nebenstrom und etwa 800.000 € für eine Anlage zur Luftstrippung. Zusätzlich sind für die Luftstrippung noch etwa 60.000 € pro Jahr für die benötigten Chemikalien zu berücksichtigen. Im Gegensatz zu den beiden biologischen Verfahren kann bei der Strippung ein Wertstoff (Ammoniumsulfat) gewonnen werden, der, sofern Abnehmer dafür gefunden werden können, Erlöse erzielen kann. Für die Kalkulation wurden Erlöse von 1,30 €/kgN angesetzt. Daraus errechnen sich für die betrachtete Anlage mögliche Umsatzerlöse in Höhe von ca. 60.000 €, was den Aufwendungen für die benötigten Chemikalien entspricht. Der Abschreibungszeitraum der Nitritions- und der Anammox-Anlage wurde mit 15 Jahren gewählt, die Luftstrippung ist nach 10 Jahren zu erneuern. Damit errechnen sich folgende einwohnerspezifische Kosten für die separate Trübwasserbehandlung.

Tabelle 4: Abschätzung der spezifischen Kosten für TWB-Verfahren im Nebenstrom

TWB im Nebenstrom	Errichtungskosten	Abschreibungszeitraum	Chemikalien	Erlöse	Spezifische Kosten
Nitritation	300.000 €	15 Jahre	-	-	0,20 €/EW/a
Anammox	400.000 €	15 Jahre	-	-	0,27 €/EW/a
Luftstrippung	800.000 €	10 Jahre	60.000 €/a	60.000 €/a	0,80 €/EW/a

6 Zusammenfassung

Bei allen biologischen Verfahren sind für die Umwandlung von Ammonium zu molekularem Stickstoff $1,5 \text{ gO}_2/\text{gN}_2\text{-N}$ notwendig. Da dieser Prozess mikrobiologisch nicht direkt möglich ist, entscheidet die Nutzung der oxidierten Stickstoffverbindungen über die Gesamteffizienz eines Verfahrens. Kann Nitrit aus der Trübwassernitritation zum CSB-Abbau im Hauptstrom genutzt werden, ergibt sich dadurch ein energetischer Vorteil, weil der α -Wert von Belüftungssystemen im Trübwasser tendenziell höher ist als im Belebtschlamm.

Die Behandlung des Trübwassers mittels Anammox ist in den betrachteten Fällen energetisch einer reinen Nitritationsstufe nahezu gleichwertig. Eine deutliche Energieeinsparung kann damit nicht erzielt werden. Für einen reibungslosen Betrieb der Anammox-Behandlung ist im Vergleich zur Nitritation mit einem deutlich höheren Betreuungsaufwand zu rechnen. Auch die zwingend erforderliche Ausstattung der Becken mit deutlich mehr Messtechnik und Sonden führt insgesamt zu höheren Errichtungskosten. Die Betriebsstabilität des Prozesses ist im Vergleich zur Nitritation geringer.

Der Strombedarf der Strippung liegt über den Werten einer biologischen Stickstoffentfernung. Zusätzlich wird abhängig vom Verfahren eine erhebliche Menge an Wärmeenergie benötigt, die in den meisten Fällen aber über die erzeugte Wärmeenergie aus dem Blockheizkraftwerk abgedeckt werden kann. In jedem Fall ist aber eine pH-Anhebung mit entsprechendem Verbrauch an Natronlauge notwendig. Für die Rücklösung des Ammoniaks aus der Strippluft wird außerdem Schwefelsäure benötigt. Der Vorteil der Strippanlagen liegt darin, dass Stickstoff als Wertstoff bzw. Dünger gewonnen wird. Über die erzielten Erlöse kann so ein Teil der Betriebskosten abgedeckt werden. Abgesehen von der Möglichkeit der Stickstoffrückgewinnung bieten Stripppverfahren den Vorteil, dass kein Lachgas emittiert wird. Dies ist momentan monetär nicht bewertbar, könnte aber zukünftig eine Rolle spielen.

7 Literatur

- Baumgartner, T., Svardal, K. (2017), Trübwasserbehandlung – Möglichkeiten und Grenzen, 26. Sprechertagung der ÖWAV Kanal- und Kläranlagen-Nachbarschaften, Hagenberg
- Frey, W. (2011) Messwerte und Kennzahlen der maschinellen Ausrüstung auf Kläranlagen. Wiener Mitteilungen 224, 253-268. TU-Wien
- Gujer W. (1988). Rückläufe aus der Schlammbehandlung, 20. VSA - Fortbildungskurs, 06. - 08.01.1988, Engelberg.

- Lindtner, S., Zessner, M. (2003). Abschätzung von Schmutzfrachten in der Abwasserentsorgung bei unvollständiger Datenlage. Wiener Mitteilungen 183, 195–227. TU-Wien, ISBN 3-85234-074-8.
- Nowak, O. (1993). Der Einfluß der Klärschlammbehandlung und Klärschlammmentsorgung auf das Verfahrenskonzept der Kläranlage. Wiener Mitteilungen, 110, G1-55.
- Powerstep (2016). Successful design of the full-scale membrane ammonia stripping, Full scale demonstration of energy positive sewage treatment plant concepts towards market penetration: European Union Horizon 2020 Research and Innovation Framework Programme - Innovation Action, http://powerstep.eu/system/files/generated/files/resource/d4-2-successful-design-of-full-scale-membrane-ammonia-stripping_0.pdf
- Rosso, D., Larson, L., Stenstrom, M. (2008) Aeration of large-scale municipal wastewater treatment plants: state of the art. Water Sci. Techn. 57.7, 973-978
- Siegrist, H. (1996). Nitrogen removal from digester supernatant - Comparison of chemical and biological methods. Water Sci. Technol., 34, 399–406.
- Svardal, K., Haider, S. (2010). Co-Fermentation, ÖWAV Klärschlammseminar, Linz
- Vaneckhaute, C., Lebuf, V., Michels, E., Belia, E., Vanrolleghem, P., Tack, F., Meers, E. (2016). Nutrient Recovery from Digestate: Systematic Technology Review and Product Classification, Waste Biomass Valor, DOI 10.1007/s12649-016-9642-x

Korrespondenz an:

Dipl.-Ing. Thomas Baumgartner

Technische Universität Wien

Institut für Wassergüte und Ressourcenmanagement

Karlsplatz 13/2261

Tel.: 01 58801 22637

Mail: tbaumgartner@iwag.tuwien.ac.at

WIENER MITTEILUNGEN

WASSER • ABWASSER • GEWÄSSER

Eine von den Wasserbauinstituten an der Technischen Universität Wien, den Instituten für Wasserwirtschaft der Universität für Bodenkultur und dem Österreichischen Wasser- und Abfallwirtschaftsverband herausgegebene Schriftenreihe

Band Nr		Preis €
1	Das Wasser (1968) Kresser W.	vergriffen
2	Die Gesetzmäßigkeiten der stationären Flüssigkeitsströmung durch gleichförmig rotierende zylindrische Rohre (1968) Breiner, H.	vergriffen
3	Abwasserreinigung - Grundkurs (1969) von der Emde, W.	vergriffen
4	Abwasserreinigungsanlagen - Entwurf-Bau-Betrieb (1969) 4. ÖWWV-Seminar, Raach 1969	vergriffen
5	Zukunftsprobleme der Trinkwasserversorgung (1970) 5. ÖWWV-Seminar, Raach 1970	vergriffen
6	Industrieabwässer (1971) 6. ÖWWV-Seminar, Raach 1971	vergriffen
7	Wasser- und Abfallwirtschaft (1972) 7. ÖWWV-Seminar, Raach 1972	vergriffen
8	Das vollkommene Peilrohr (Zur Methodik der Grundwasserbeobachtung) (1972) Schmidt, F.	vergriffen
9	Über die Anwendung von radioaktiven Tracern in der Hydrologie (1972) Pruzinsky, W. Über die Auswertung von Abflußmengen auf elektronischen Rechenanlagen Doleisch, M.:	18
10	1. Hydrologie-Fortbildungskurs (1972)	vergriffen

Band Nr		Preis €
11	Vergleichende Untersuchungen zur Berechnung von HW-Abflüssen aus kleinen Einzugsgebieten (1972) Gutknecht, D.	vergriffen
12	Uferfiltrat und Grundwasseranreicherung (1973) 8. ÖWWV-Seminar, Raach 1973	vergriffen
13	Zellstoffabwässer-Anfall und Reinigung (1972) von der Emde W., Fleckseder H., Huber L., Viehl K.	vergriffen
14	Abfluß - Geschiebe (1973) 2. Hydrologie-Fortbildungskurs 1973	vergriffen
15	Neue Entwicklung in der Abwassertechnik (1973) 9. ÖWWV-Seminar, Raach 1974	vergriffen
16	Praktikum der Kläranlagentechnik (1974) von der Emde W.	vergriffen
17	Stabilitätsuntersuchung von Abflußprofilen mittels hydraulischer Methoden und Trendanalyse (1974) Behr, O.:	18
18	Hydrologische Grundlagen zur Speicherbemessung (1975) 3. Hydrologie-Fortbildungskurs 1975	vergriffen
19	Vorhersagen in der Wasserwirtschaft (1976) 1. Hydrologisches Seminar des ÖWWV 1976	10
20	Abfall- und Schlammbehandlung aus wasserwirtschaftlicher Sicht (1976) 11. ÖWWV-Seminar, Raach 1976	vergriffen
21	Zur Theorie und Praxis der Speicherwirtschaft (1977) 2. Hydrologisches Seminar des ÖWWV 1977	22
22	Abwasserreinigung in kleineren Verhältnissen (1977) 12. ÖWWV-Seminar, Raach 1977	vergriffen
23	Methoden zur rechnerischen Behandlung von Grundwasserleitern (1977) Baron W., Heindl W., Behr O., Reitinger J.	vergriffen
24	Ein Beitrag zur Reinigung des Abwassers eines Chemiefaserwerkes, eines chemischen Betriebes und einer Molkerei (1978) Begert A.	vergriffen

Band Nr		Preis €
25	Ein Beitrag zur Reinigung von Zuckerfabriksabwasser (1978) Kroiss H.	vergriffen
26	Methoden der hydrologischen Kurzfristvorhersage (1978) Gutknecht D.	vergriffen
27	Wasserversorgung-Gewässerschutz (1978) 13. ÖWWV-Seminar, Raach 1978	vergriffen
28	Industrieabwasserbehandlung - Neue Entwicklungen (1979) 14. ÖWWV-Seminar, Raach 1979	vergriffen
29	Probleme der Uferfiltration und Grundwasseranreicherung mit besonderer Berücksichtigung des Wiener Raumes (1979) Frischherz H.	vergriffen
30	Beiträge zur Hydraulik, Gewässerkunde und Wasserwirtschaft (1979) o. Univ.-Prof. DDr. Werner Kresser zum 60. Geburtstag	vergriffen
31	Grundwasserströmungsverhältnisse bei Horizontalfilterrohrbrunnen (1980) Schügerl W.	vergriffen
32	Grundwasserwirtschaft (1980) 3. Hydrologisches Seminar des ÖWWV 1980	25
33	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (1) (1980)	vergriffen
34	Behandlung und Beseitigung kommunaler und industrieller Schlämme (1980) 15. ÖWWV-Seminar, Raach 1980	vergriffen
35	Faktoren, die die Inaktivierung von Viren beim Belebungsverfahren beeinflussen (1980) Usrael G.	vergriffen
36	Vergleichende Kostenuntersuchungen über das Belebungsverfahren (1980) Flögl W.	vergriffen
37	Ein Beitrag zur Reinigung und Geruchsfreimachung von Abwasser aus Tierkörperverwertungsanstalten (1980) Ruider E.	vergriffen
38	Wasserwirtschaftliche Probleme der Elektrizitätserzeugung (1981) Schiller, G.:	vergriffen

Band Nr		Preis €
39	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (1981) Teil 2	vergriffen
40	Wasseraufbereitung und Abwasserreinigung als zusammengehörige Techniken (1981) 16. ÖWWV-Seminar, Raach 1981	vergriffen
41	Filterbrunnen zur Erschließung von Grundwasser (1981) ÖWWV-Fortbildungskurs 1981	29
42	Zur Ermittlung von Bemessungshochwässern im Wasserbau (1981) Kirnbauer R.	22
43	Wissenschaftliche Arbeiten, Zeitraum 1977 bis 1981 (1981)	25
44	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft - heute (1981) Teil 3	25
45	Verbundwirtschaft in der Wasserversorgung (1982) ÖWWV-Fortbildungskurs 1982	29
46	Gewässerschutzplanung, deren Umsetzung und Zielkontrolle im Einzugsgebiet des Neusiedler Sees (1982) Stalzer W.	vergriffen
47	Wechselwirkung zwischen Planung und Betrieb von Abwasserreinigungsanlagen, Erfahrungen und Probleme (1982) 17. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1982	vergriffen
48	Kleinwasserkraftwerke - Notwendigkeit und Bedeutung (1982) Flußstudien: Schwarza, kleine Ybbs, Saalach	vergriffen
49	Beiträge zur Wasserversorgung, Abwasserreinigung, Gewässerschutz und Abfallwirtschaft (1982) o. Univ.-Prof. Dr.-Ing. W. v.d. Emde zum 60. Geburtstag	vergriffen
50	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft - heute (1982) Teil 4	vergriffen
51	Sicherung der Wasserversorgung in der Zukunft (1983) 18. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1983	vergriffen
52	Thermische Beeinflussung des Grundwassers (1983) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1983	vergriffen

Band Nr		Preis €
53	Planung und Betrieb von Regenentlastungsanlagen (1984) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1984	vergriffen
54	Sonderabfall und Gewässerschutz (1984) 19. ÖWWV-Seminar, Gmunden 1984	vergriffen
55	Naturnahes Regulierungskonzept "Pram" (1984)	26
56	Blähschlamm beim Belebungsverfahren (1985) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1985	vergriffen
57	Chemie in der Wassergütewirtschaft (1985) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1985	vergriffen
58	Klärschlamm - Verwertung und Ablagerung (1985) 20. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1985	vergriffen
59	Wasserkraftnutzung an der Thaya (1985) Pelikan B.	23
60	Seminar "Wasser - Umwelt - Raumordnung" (1985)	16
61	Gewässerschutz im Wandel der Zeit Ziele und Maßnahmen zu ihrer Verwirklichung (1985) Fleckseder, H.	vergriffen
62	Anaerobe Abwasserreinigung (1985) Kroiss H.	vergriffen
63	Kleine Belebungsanlagen mit einem Anschlußwert bis 500 Einwohnergleichwerte (1985) Begert A.	vergriffen
64	Belüftungssysteme beim Belebungsverfahren (1986) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1986	vergriffen
65	Planung und Betrieb von Behandlungsanlagen für Industrieabwässer (1986) 21. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1986	vergriffen
66	Ausspracheseminar Grundwasserschutz in Österreich (1986) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1986	29
67	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (5) (1986)	vergriffen

Band Nr	Preis €
68 Zur mathematischen Modellierung der Abflusstehung an Hängen (1986) Schmid B.H.	22
69 Nitrifikation - Denitrifikation (1987) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1987	vergriffen
70 Flußbau und Fischerei (1987)	vergriffen
71 Wasserversorgung und Abwasserreinigung in kleinen Verhältnissen (1987) 22. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1987	vergriffen
72 Wasserwirtschaft und Lebensschutz (1987) Wurzer E.	vergriffen
73 Anaerobe Abwasserreinigung Grundlagen und großtechnische Erfahrung (1988) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1988	vergriffen
74 Wasserbau und Wasserwirtschaft im Alpenraum aus historischer Sicht (1988)	22
75 Wechselbeziehungen zwischen Land-, Forst und Wasserwirtschaft (1988) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1988	vergriffen
76 Gefährdung des Grundwassers durch Altlasten (1988) 23. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1988	vergriffen
77 Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (6) (1987)	vergriffen
78 Wasserwirtschaftliche Planung bei mehrfacher Zielsetzung (1988) Nachtnebel, H.P.	25
79 Hydraulik offener Gerinne (1989) Symposium, 1989	vergriffen
80 Untersuchung der Fischaufstiegshilfe bei der Stauhaltung im Gießgang Greifenstein (1988) Jungwirth M., Schmutz S.	vergriffen
81 Biologische Abwasserreinigung (1989) ÖWWV-Fortbildungskurs, 1989, TU-Wien	vergriffen
82 Klärschlamm Entsorgung (1989) 24. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1989	vergriffen

Band Nr		Preis €
83	Viruskontamination der Umwelt und Verfahren der Kontrolle (1990) 2. Symposium	18
84	Schadstofffragen in der Wasserwirtschaft (1989) ÖWWV-Fortbildungskurs 1989, TU-Wien	29
85	Schlußbericht zum Forschungsvorhaben Trinkwasseraufbereitung mit Ultraschall, Projekt Abschnitt I (1989) Frischherz H.; Benes E.; Ernst J.; Haber F.; Stuckart W.	18
86	Umfassende Betrachtung der Erosions- und Sedimentationsproblematik (1989) Summer W.	25
87	Großräumige Lösungen in der Wasserversorgung (1990) 25. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1990	vergriffen
88	Revitalisierung von Fließgewässern (1990) Beiträge zum Workshop Scharfling, 1989	vergriffen
89	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (1990) Teil 9	vergriffen
90	A Study on Kinematic Cascades (1990) Schmid B.H.	18
91	Snowmelt Simulation in Rugged Terrain - The Gap Between Point and Catchment Scale Approaches (1990) Blöschl G.	18
92	Dateninterpretation und ihre Bedeutung für Grundwasserströmungsmodelle (1990) Blaschke A.P.	nicht erschienen
93	Decision Support Systeme für die Grundwasserwirtschaft unter Verwendung geografischer Informationssysteme (1990) Fürst J.	18
94	Schlußbericht zum Forschungsvorhaben Trinkwasseraufbereitung mit Ultraschall; Projekt-Abschnitt 1990 (1990) Frischherz H., Benes E., Stuckhart W., Ilmer A., Gröschl M., Bolek W.	18
95	Anaerobe Abwasserreinigung - Ein Modell zur Berechnung und Darstellung der maßgebenden chemischen Parameter (1991) Svardal K.	22

Band Nr		Preis €
96	EDV-Einsatz auf Abwasserreinigungsanlagen (1991) ÖWWV-Fortbildungskurs 1991, TU-Wien	29
97	Entfernung von Phosphorverbindungen bei der Abwasserreinigung (1991) ÖWWV-Fortbildungskurs 1991, TU-Wien	25
98	Auswirkungen der Wasserrechtsgesetznovelle 1990 auf Behörden, Planer und Betreiber kommunaler Abwasserreinigungsanlagen - aus technischer, rechtlicher und wirtschaftlicher Sicht (1991) 26. ÖWWV-Seminar, Ottenstein 1991	36
99	Geruchsemissionen aus Abwasserreinigungsanlagen (1991) ÖWWV-Fortbildungskurs 1991,	22
100	Anpassung von Kläranlagen an den Stand der Technik (1992) ÖWWV-Fortbildungskurs 1992, TU-Wien	vergriffen
101	Umweltbezogene Planung wasserbaulicher Maßnahmen an Fließgewässern (1992) Pelikan B.	18
102	Erfassung hydrometeorologischer Elemente in Österreich im Hinblick auf den Wasserhaushalt (1992) Behr O.	i.V.
103	Wasser- und Abfallwirtschaft in dünn besiedelten Gebieten (1992) 27. ÖWWV-Seminar Ottenstein 1992	36
104	Virus Contamination of the Environment (1992) Methods and Control	vergriffen
105	Fließgewässer und ihre Ökologie (1993) ÖWAV-Fortbildungskurs 1992, TU-Wien	22
106	Festlegung einer Dotierwassermenge über Dotationsversuche (1992) Mader H.	22
107	Wasserrechtsgesetznovelle 1990 und neue Emissionsverordnungen (1992) Vorträge anlässlich der UTEC 1992	29
108	Chemische Analytik für einen zeitgemäßen Gewässerschutz (1992) Vorträge anlässlich der UTEC 1992	29
109	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (1994) Teil 10 - Beiträge zum Seminar an der Universität für Bodenkultur im November 1994	i.V.

Band Nr	Preis €
110 Bemessung u. Betrieb von Kläranlagen zur Stickstoffentfernung (1993) ÖWAV-Seminar 1993, TU-Wien	36
111 Wasserreserven in Österreich - Schutz und Nutzung in Gegenwart und Zukunft (1993) 28. ÖWAV-Seminar Ottenstein 1993	vergriffen
112 Contamination of the Environment by Viruses and Methods of Control (1993)	18
113 Wasserkraft () O.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. S. Radler anlässlich seiner Emeritierung	vergriffen
114 Klärwärter-Grundkurs (1994) 2. Auflage 1994	vergriffen
115 Beitrag zur Reduzierung der Abwasseremissionen der Bleicherei beim Sulfatverfahren (1994) Urban W. ISBN 3-85234-001-2	22
116 Eigenüberwachung von Abwasserreinigungsanlagen für den Gewässerschutz (1994) ÖWAV-Seminar 1994, TU-Wien ISBN 3-85234-002-0	25
117 Abwasserreinigungskonzepte - Internationaler Erfahrungsaustausch über neue Entwicklungen (1995) ÖWAV-Seminar 1994, TU Wien ISBN 3-85234-003-9	25
118 3 Jahre WRG-Novelle (1994) 29. ÖWAV-Seminar: Ottenstein 1994 ISBN 3-85234-004-7	19
119 Landeskulturelle Wasserwirtschaft (1994) anlässlich der Emeritierung von o.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. H. Supersperg	vergriffen
120 Gewässerbetreuungskonzepte - Stand und Perspektiven (1994) Beiträge zur Tagung an der BOKU 1994 ISBN 3-85234-010-1	32
121 Generelle Entwässerungsplanung im Siedlungsraum (1996) ÖWAV-Seminar 1995, TU Wien ISBN 3-85234-011-X	29

122	Bedeutung von geowissenschaftlicher Zusatzinformation für die Schätzung der Transmissivitätsverteilung in einem Aquifer (1994) Kupfersberger H.	18
123	Modellierung und Regionalisierung der Grundwassermengenbildung und des Bodenwasserhaushaltes (1994) Holzmann, H.	22
124	Pflanzenkläranlagen - Stand der Technik, Zukunftsaspekte (1995) ÖWAV-Seminar, BOKU Wien ISBN 3-85234-014-4	22
125	Abwasserreinigung - Probleme bei der praktischen Umsetzung des Wasserrechtsgesetzes, (1995) ÖWAV-Seminar 1995, TU-Wien ISBN 3-85234-015-2	32
126	Konfliktfeld Landwirtschaft - Wasserwirtschaft (1995) 30. ÖWAV-Seminar, Ottenstein 1995 ISBN 3-85234-016-0	29
127	Alte und neue Summenparameter (1995) ÖWAV-Seminar 1995, TU-Wien ISBN 3-85234-017-9	29
128	Viruskontamination der Umwelt und Verfahren der Kontrolle (deutsch oder englisch) (1995) 4. Symposium Univ.Prof.Dr. R. Walter ISBN 3-85234-019-5	0
129	Einfluß von Indirekteinleitungen auf Planung und Betrieb von Abwasseranlagen (1996) ÖWAV-Seminar 1996, TU-Wien ISBN 3-85234-020-9	vergriffen
130	Zentrale und dezentrale Abwasserreinigung (1996) 31. ÖWAV-Seminar, Ottenstein 1996 ISBN 3-85234-021-7	36
131	Methoden der Planung und Berechnung des Kanalisationssystems (1996) ÖWAV-Seminar 1996, BOKU-Wien ISBN 3-85234-022-5	29

132	Scale and Scaling in Hydrology (1996) Blöschl G. ISBN 3-85234-023-3	vergriffen
133	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (11) (1996) Integrale Interpretation eines zeitgemäßen Gewässerschutzes ISBN 3-85234-024-0	12
134	Ein Beitrag zur Charakterisierung von Belüftungssystemen für die biologische Abwasserreinigung nach dem Belebungsverfahren mit Sauerstoffzufuhrmessungen (1996) Frey W. ISBN 3-85234-025-X	22
135	Nitrifikation im Belebungsverfahren bei maßgebendem Industrieabwassereinfluß (1996) Nowak O. ISBN 3-85234-026-8	36
136	1. Wassertechnisches Seminar (1996) Nebenprodukte von Desinfektion und Oxidation bei der Trinkwasseraufbereitung ISBN 3-85234-027-6	i.V.
137	Modellanwendung bei Planung und Betrieb von Belebungsanlagen (1997) ÖWAV - Seminar 1997, TU-Wien ISBN 3-85234-028-4	32
138	Nitrifikationshemmung bei kommunaler Abwasserreinigung (1997) Schweighofer P. ISBN 3-85234-029-2	25
139	Ein Beitrag zu Verständnis und Anwendung aerober Selektoren für die Blähschlammvermeidung (1997) Prendl L. ISBN 3-85234-030-6	22
140	Auswirkungen eines Kläranlagenablaufes auf abflußschwache Vorfluter am Beispiel der Kläranlage Mödling und des Krottenbaches (1997) Franz A. ISBN 3-85234-031-4	25
141	Neue Entwicklungen in der Abwassertechnik (1997) ÖWAV - Seminar 1997, TU-Wien ISBN 3-85234-032-2	36

Band Nr		Preis €
142	Kulturtechnik und Wasserwirtschaft heute (11) (1997) Abfallwirtschaft und Altlastensanierung morgen ISBN 3-85234-033-0	18
143	Abwasserbeseitigung und Wasserversorgung in Wien (1997) Eine ökonomische Beurteilung der Einnahmen, Ausgaben und Kosten Kosz M. ISBN 3-85234-034-9	22
144	Raum-Zeitliche Variabilitäten im Geschiebehaushalt und dessen Beeinflussung am Beispiel der Drau (1997) Habersack H. ISBN 3-85234-035-7	29
145	Fortbildungskurs: Biologische Abwasserreinigung (1998) ÖWAV - Seminar 1998, TU-Wien ISBN 3-85234-036-5	40
146	2. Wassertechnisches Seminar (1998) Desinfektion in der Trinkwasseraufbereitung ISBN 3-85234-037-3	i.V.
147	Eigenüberwachung und Fremdüberwachung bei Kläranlagen (1998) 32. ÖWAV-Seminar , Linz 1998 ISBN 3-85234-038-1	36
148	Grundwasserdynamik (1998) ISBN 3-85234-039-C	36
149	Die Tradition in der Kulturtechnik (1998) Kastanek F. Simulationsanwendung bei der Störung durch poröses Medium (1998) Loiskandl W. ISBN 3-85234-040-4	22
150	Auswirkungen von Niederschlagsereignissen und der Schneeschmelze auf Karstquellen (1998) Steinkellner M. ISBN 3-85234-041-1	36
151	Experiences with soil erosion models (1998) ISBN 3-85234-042-X	29

-
- | | | |
|------------|--|------------|
| 152 | Ein Beitrag zur Optimierung der Stickstoffentfernung in zweistufigen Belebungsanlagen (1998)
Dornhofer K.
ISBN 3-85234-043-8 | 25 |
| 153 | Hormonell aktive Substanzen in der Umwelt (1998)
ÖWAV / UBA Seminar 1998, BOKU Wien
ISBN 3-58234-044-6 | vergriffen |
| 154 | Erfassung, Bewertung und Sanierung von Kanalisationen (1998)
ÖWAV Seminar 1999, BOKU Wien
ISBN 3-8523-045-4 | 29 |
| 155 | Nährstoffbewirtschaftung und Wassergüte im Donaauraum (1999)
ÖWAV - Seminar 1999, TU-Wien
ISBN 3-85234-046-2 | 32 |
| 156 | Der spektrale Absorptionskoeffizient zur Bestimmung der organischen Abwasserbelastung (1999)
UV-Seminar 1998, Duisburg
ISBN 3-85234-047-0 | 22 |
| 157 | Bedeutung und Steuerung von Nährstoff- und Schwermetallflüssen des Abwassers (1999)
Zessner M.
ISBN 3-85234-048-9 | 25 |
| 158 | Entwicklung einer Methode zur Bewertung von Stoffbilanzen in der Abfallwirtschaft (1999)
Rechberger H.
ISBN 3-85234-049-7 | vergriffen |
| 159 | Sicherheit und Gesundheitsschutz auf Abwasseranlagen und deren Evaluierung (2000)
ÖWAV – Seminar 2000, TU-Wien
ISBN 3-85234-050-0 | 22 |
| 160 | Auswirkungen von Klimaänderungen auf die Hydrologie alpiner Einzugsgebiete (2000)
Hebenstreit K.
ISBN 3-85234-051-9 | 25 |

- | Band Nr | | Preis € |
|---------|--|------------|
| 161 | Innovative Messtechnik in der Wasserwirtschaft (2000)
Präsentation eines Forschungsprojektes
ÖWAV – Seminar 2000, BOKU – Wien
ISBN 3-85234-052-7 | vergriffen |
| 162 | Sickerwasser und Oberflächenabdichtung auf Reaktordeponien (2000)
ÖWAV - Seminar 2000, Wirtschaftskammer Wien
ISBN 3-85234-053-5 | 25 |
| 163 | Abfall- und Abwasserentsorgung in kleinen Verhältnissen (2000)
ÖWAV - Seminar 2000, Ottenstein
ISBN 3-85234-054-3 | 25 |
| 164 | Niederschlag-Abfluss-Modellierung – Simulation und Prognose (2000)
ÖWAV-Seminar 2000, TU Wien
ISBN 3-85234-055-1 | i.V. |
| 165 | Mehrdimensionale Abflussmodellierung am Beispiel der Lafnitz (2000)
Habersack, H. / Mayr, P. / Girlinger, R. / Schneglberger, St.
ISBN 3-85234-056-x | 25 |
| 166 | Anpassung von Kläranlagen – Planung und Betrieb (2001)
ÖWAV-Seminar 2001, TU Wien
ISBN 3-85234-057-8 | 40 |
| 167 | Bepflanzte Bodenfilter zur weitergehenden Reinigung von Oberflächenwasser und Kläranlagenabläufen (2001)
Laber J.
ISBN 3-85234-058-6 | 25 |
| 168 | Kanalbetrieb und Niederschlagsbehandlung (2001)
ÖWAV-Seminar 2001, BOKU Wien.
ISBN 3-85234-059-4 | 29 |
| 169 | Development of a Simulation Tool for Subsurface Flow Constructed Wetlands (Entwicklung eines Simulationsmodells für bepflanzte Bodenfilter) (2001)
Langergraber G.
ISBN 3-85234-060-8 | 25 |
| 170 | Simulation von Niederschlagszeitreihen mittels stochastischer Prozess-modelle unter Berücksichtigung der Skaleninvarianz (2001)
Bogner
ISBN 3-85234-061-6 | i.V. |
| 171 | Sewage Sludge Disposal – Sustainable and/or Reliable Solutions (2001)
ÖWAV / EWA Workshop 2001, TU-Wien
ISBN 3-85234-062-4 | 25 |

Band Nr		Preis €
172	Stickstoffentfernung mit Biofiltern (2002) Nikolavcic B. ISBN 3-85234-063-2	30
173	Anaerobe Abwasserreinigung: Beeinflussende Faktoren der Versäuerung eines Zitronesäurefabrikabwassers (2002) Moser D. ISBN 3-85234-064-0	20
174	Gewässerschutz bei Entlastungsbauwerken der Mischkanalisation (2002) Fenz R. ISBN 3-85234-065-9	25
175	Wechselwirkung von physikalischen, chemischen und biotischen Prozessen in aquatischen Systemen (2002) Kreuzinger N. ISBN 3-85234-066-7	i.V.
176	Benchmarking in der Abwasserentsorgung (2002) ÖWAV Workshop Februar 2002, TU-Wien ISBN 3-85234-067-5	30
177	Klärschlamm (2002) Möglichkeiten und Verfahren zur Verwertung / Entsorgung ab 2004 ÖWAV Seminar April 2002, Wirtschaftskammer Österreich Schlammbehandlung und Entsorgung ÖWAV / TU – Workshop September 2000, TU-Wien ISBN 3-85234-068-3	30
178	Arzneimittel in der aquatischen Umwelt (2002) ÖWAV Seminar 2002, BOKU Wien ISBN 3-58234-069-1	30
179	Untersuchungen zur Entfernung natürlicher radioaktiver Stoffe aus Trinkwasser und Überblick zu deren Verbreitung in Österreich (2002) Staubmann, K. ISBN 3-85234-070-5	25
180	Zum Fließwiderstandsverhalten flexibler Vegetation (2002) Stephan, U. ISBN 3-85234-071-3	30
181	Understanding and Estimating Floods at the Regional Scale (2002) Merz, R. ISBN 3-85234-072-1	30

182	Kanalmanagement - Neues Schlagwort oder alte Herausforderung ? (2003) ÖWAV Seminar 2003, BOKU Wien ISBN 3-85234-073-X	30
183	Fortbildungsseminar Abwasserentsorgung (2003) ÖWAV Seminar Februar 2003, TU-Wien ISBN 3-85234-074-8	40
184	Klärschlamm (2003) ÖWAV Seminar November 2003, TU-Wien ISBN 3-85234-075-6	30
185	Nachhaltige Nutzung von Wasser (2003) Endbericht zu Modul MU11 im Rahmen des Forschungsschwerpunktes „Nachhaltige Entwicklung österreichischer Kulturlandschaften“ ISBN 3-85234-076-4	30
186	Inspektion von Kanalisationen (inkl. Umsetzung ÖNORM EN 13508-2) ÖWAV-Informationsveranstaltung 2004, BOKU Wien ISBN 3-85234-077-2	30
187	Datengewinnung, -verwaltung und -nutzung in der Wassergütwirtschaft (2004) ÖWAV Seminar März 2004, TU-Wien ISBN 3-85234-078-0	40
188	CSB-Elimination in höchstbelasteten Belebungsstufen und ihre Auswirkung auf die Stickstoffelimination von zweistufigen Anlagen unter dem Gesichtspunkt der mathematischen Modellierung (2004) Haider, S. ISBN 3-85234-079-9	30
189	Beitrag zum Benchmarking von Abwasserreinigungsanlagen (2004) Lindtner, S. ISBN 3-85234-080-2	25
190	Öffentlichkeitsarbeit auf Kläranlagen (2004) ÖWAV Seminar Juni 2004, St. Pölten ISBN 3-85234-081-0	30
191	Das Verhalten ausgewählter organischer Spurenstoffe bei der biologischen Abwasserreinigung (2004) Clara, M. ISBN 3-85234-082-9	25

Band Nr		Preis €
192	Chemie in der Wassergütewirtschaft (2005) ÖWAV Seminar Februar 2005, TU Wien ISBN 3-85234-083-7	45
193	Three dimensional numerical modelling of turbulent river flow using polyhydral finite volumes (2005) Tritthart, M. ISBN 3-85234-084-5	30
194	Abwasserentsorgung im ländlichen Raum (2005) ÖWAV Seminar November 2005, BOKU Wien ISBN 3-85234-085-3	Preis auf Anfrage
195	Betriebserfahrungen moderner Kläranlagen (2006) ÖWAV Seminar Februar 2006, TU-Wien ISBN 3-85234-086-1	40
196	Kanalmanagement 2006 – Praxisberichte und Projektergebnisse (2006) ÖWAV-Informationsveranstaltung 2006, BOKU ISBN 3-85234-087-X	30
197	Methoden der hydrologischen Regionalisierung (2006) ÖWAV-Seminar 2006, TU Wien ISBN 3-85234-088-8	30
198	Process based regionalisation of low flows (2006) Laha, G. ISBN-10 3-85234-089-6 ISBN-13 978-3-85234-089-0	30
199	Hochwasservorhersage – Erfahrungen, Entwicklungen & Realität (2006) ÖWAV-Seminar 2006, TU Wien ISBN-10 3-85234-090-X ISBN-13 978-3-85234-090-6	30
200	Scale and stream network structure in geostatistical hydrological analyses (Geostatistische hydrologische Analysen unter Berücksichtigung von Skalenaspekten und Gewässernetzstruktur) (2007) Skøien, J. O. ISBN-10 3-85234-091-8 ISBN-13 978-3-85234-091-3	i.V.

201	Der kombinierte Ansatz, das Wechselspiel zwischen Emission und Immission - Neue Herausforderungen bei Abwasserentsorgung und Gewässerschutz (2007) ÖWAV Februar Seminar 2007, TU-Wien ISBN-13 978-3-85234-093-7	45
202	Betrieb von Kläranlagen - Grundkurs Neuaufgabe 2013 ISBN-13 978-3-85234-123-1	80
203	Kanalmanagement 2007 – Unterirdische Kanalsanierung (2007) ÖWAV Infoveranstaltung 17. April 2007 an der BOKU Wien ISBN-13 978-3-85234-095-1	30
204	Leitungskataster für Trink - und Abwassernetze (2007) ÖWAV Infoveranstaltung 30. Mai 2007, Wien ISBN-13 978-3-85234-096-8	30
205	Geruchs- und Korrosionsprobleme in der Kanalisation (2007) ÖWAV-Seminar 2007, TU Wien ISBN 978-3-85234-097-5	35
206	Extreme Abflussereignisse: Dokumentation – Bedeutung – Bestimmungsmethoden (2007) ÖWAV-Seminar 2007, TU Wien ISBN 978-3-85234-098-2	30
207	1. Österreichischer Kleinkläranlagentag (2007) ÖWAV-Seminar 2007, BOKU ISBN 978-3-85234-099-9	30
208	Biologische Abwasserreinigung - Aktuelle Entwicklungen (2008) ÖWAV Februar Seminar 2008, TU-Wien ISBN 978-3-85234-100-2	45
209	Kanalmanagement 2008 – Betrieb und Mischwasser (2008) ÖWAV Infoveranstaltung 27. März 2008 an der BOKU Wien ISBN 978-3-85234-101-9	30
210	2. Österreichischer Kleinkläranlagentag (2008) ÖWAV-Seminar 2008, BOKU ISBN 978-3-85234-102-6	30

Band Nr		Preis €
211	Zur Kenntnis der Schwefelwasserstoffbildung und -vermeidung in Abwasserdruckleitungen (2008) Saračević E. ISBN 978-3-85234-103-3	30
212	Neue Herausforderungen an die Wassergütwirtschaft (2009) ÖWAV Februar Seminar 2009, TU-Wien ISBN 978-3-85234-104-0	vergriffen
213	Hochwasserentstehung in der nördlichen Grauwackenzone Beobachtung - Messung – Modellierung (2009) Endbericht für Forschungsprojekte im Zeitraum 1990 bis 2008 ISBN: 978-3-85234-105-7	30
214	Linking Land Use to Stream Pollution: Pollutant Dynamics and Management Implications (2009) Yillia, Paul T. ISBN 978-3-85234-106-4	25
215	Kanalmanagement 2009 – Hauskanäle - Von der Planung bis zur Sanierung (2009) ÖWAV-Seminar 2009, BOKU ISBN 978-3-85234-107-1	30
216	Hochwässer – Bemessung, Risikoanalyse und Vorhersage (2009) ÖWAV-Seminar 2009, BOKU ISBN 978-3-85234-108-8	30
217	Einsatz der Managementmethode „Benchmarking“ in der Wasserversorgung - spezifische Aspekte der Implementierung, Anwendbarkeit und Folgewirkungen (2009) Neunteufel, R. ISBN 978-3-85234-109-5	30
218	3. Österreichischer Kleinkläranlagentag (2009) ÖWAV-Seminar 2009, BOKU ISBN 978-3-85234-110-1	30
219	Abwässer aus Gewerbe und Industrie Indirekt- und Direkteinleiter (2010) ÖWAV Februar Seminar 2010, TU-Wien ISBN 978-3-85234-111-8	vergriffen
220	Kanalmanagement 2010 – Grundlagen der Sanierungsplanung (2010) ÖWAV Seminar 1.6.2010, Wien ISBN 978-3-85234-112-5	50

Band Nr	Preis €
221 Anwendungsbezogene Aspekte der operationellen Durchflussvorhersage (2010) Drabek, U. ISBN 978-3-85234-113-2	50
222 4. Österreichischer Kleinkläranlagentag (2010) ÖWAV Seminar 2010, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-114-9	30
223 Kanalmanagement 2011 – Pumpstationen, Mischwasserbehandlung & Vorstellung des ÖWAV-Regelblattes 42 „Unterirdische Kanalsanierung – Hauskanäle“ (2011) ÖWAV Seminar 2.2.2011, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-116-3	40
224 Monitoring auf Kläranlagen „Daten erfassen, auswerten und anwenden“ (2011) ÖWAV Februar Seminar 2011, TU-Wien ISBN 978-3-85234-117-0	50
225 Kanalmanagement 2012 – Inspektion und Generelle Sanierungsplanung von Kanalisationen (2012) ÖWAV Seminar 1.2.2012, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-118-7	40
226 Standortbestimmung in der Wassergütwirtschaft (2012) ÖWAV Februar Seminar 2012, TU-Wien ISBN 978-3-85234-119-4	50
227 5. Österreichischer Kleinkläranlagentag (2012) ÖWAV Seminar 2012, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-120-0	30
228 Flussgebietsmanagement und Nährstoffe (2013) ÖWAV Februar Seminar 2013, TU-Wien ISBN 978-3-85234-121-7	vergriffen
229 Kanalmanagement 2013 – Betrieb von Kanalisationen - Präsentation des ÖWAV-Regelblattes 22 (2013) ÖWAV Seminar 9.4.2013, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-122-4	40
230 Abwasserreinigung - Werte erhalten, Effizienz steigern und Ressourcen schonen ÖWAV Februar Seminar 2014, TU-Wien ISBN 978-3-85234- 124-8	50

Band Nr		Preis €
231	Kanalmanagement 2014 (2014) ÖWAV Seminar 24.4.2014, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-125-5	40
232	NEW: Nährstoffe – Energie – Wasser ÖWAV Februar Seminar 2015, TU-Wien ISBN 978-3-85234- 126-2	45
233	Kanalmanagement 2015 - ÖWAV-Regelblatt 22 „Betrieb von Kanalisationen“ Was bringt es Neues? (2015) ÖWAV Seminar 21.4.2015, Wien ISBN 978-3-85234-127-9	40
234	Biogasproduktion aus organischen Reststoffen aus der Lebensmittelindustrie (2015) Brooks, L. ISBN 978-3-85234-128-6	30
235	Schlammfäulung mit erhöhtem Feststoffgehalt – Chancen, Grenzen, Herausforderungen (2015) Reichel, M. ISBN 978-3-85234-129-3	30
236	Optimierung und Umsetzung des AOP-Verfahrens mit Ozon und Wasserstoffperoxid für eine kleine Einheit der Trinkwasseraufbereitung (2015) Bletterie, U. ISBN 978-3-85234-130-9	30
237	Geruchsemissionen aus Abwasseranlagen ÖWAV Seminar 2015, TU-Wien ISBN 978-3-85234-131-6	30
238	Abwasserwirtschaft im ländlichen Raum ÖWAV Seminar 2015, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-133-0	30
239	Neues aus der Mess-, Steuer- und Regelungstechnik ÖWAV Seminar 2016, TU-Wien ISBN 978-3-85234- 134-7	45
240	20 Jahre Kanalmanagement (2016) ÖWAV Seminar 31.3.2016, Wien ISBN 978-3-85234-135-4	40

241	Ozonung von Kläranlagenablauf zur weitergehenden Abwasserreinigung Schaar, H. ISBN 978-3-85234-136-1	35
242	Trinkwasserversorgung – Herausforderung und Innovation Seminar Kulturtechnik und Wasserwirtschaft – Heute, BOKU Wien, 2016 ISBN 978-3-85234-137-8	40
243	Behandlung und Mitbehandlung von industriellen Abwässern ÖWAV Februar Seminar 2017, TU-Wien ISBN 978-3-85234-138-5	45
244	Trinkwasserversorgung – Wasserressourcen und Aufbereitung Seminar Wasserversorgung, BOKU Wien, 2017 ISBN 978-3-85234-139-2	40
245	Abwasserwirtschaft im ländlichen Raum ÖWAV Seminar 2017, BOKU Wien ISBN 978-3-85234-140-8	40
246	Abwasser als erneuerbare Energiequelle - Potenziale, Chancen und Barrieren im österreichischen Kontext Kretschmer, Florian ISBN 978-3-85234-141-5	40
247	Aktuelle biologische Methoden und Verfahren in der Wassergütwirtschaft ÖWAV Februar Seminar 2018, TU-Wien ISBN 978-3-85234-142-2	40

Die Bände sind zu beziehen bei:

www.wau.boku.ac.at/wienmit.html

Institut für Wassergüte, Ressourcenmanagement und Abfallwirtschaft
der Technischen Universität Wien
Karlsplatz 13/226, A-1040 Wien, Email: ihager@iwag.tuwien.ac.at

Band: 12, 15, 16, 20, 28, 34, 35, 36, 37, 47, 49, 53, 54, 56, 57, 58, 61, 62, 63, 64, 65, 69, 73, 81, 82, 84, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 105, 107, 108, 110, 114, 116, 117, 121, 125, 127, 129, 130, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 145, 147, 152, 153, 155, 156, 157, 158, 159, 161, 162, 166, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 183, 184, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 195, 201, 202, 205, 208, 211, 212, 214, 219, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 235, 236, 237, 239, 241, 243, 247

Institut für Wasserbau und Ingenieurhydrologie
der Technischen Universität Wien
Karlsplatz 13/222, A-1040 Wien, Email: sekr223@hydro.tuwien.ac.at

Band: 1, 2, 8, 9, 17, 21, 23, 26, 30, 31, 41, 42, 52, 66, 68, 74, 90, 91, 92, 102, 122, 132, 148, 164, 180, 181, 193, 197, 198, 199, 200, 206, 213, 216, 221

Institut für Wasserwirtschaft, Hydrologie und konstruktiven Wasserbau
der Universität für Bodenkultur,
Muthgasse 18, A-1190 Wien, Email: christina.mayer@boku.ac.at

Band: 18, 19, 32, 38, 43, 44, 45, 48, 50, 55, 59, 60, 70, 75, 78, 86, 89, 93, 101, 106, 109, 113, 123, 144, 160, 165, 167, 169

Institut für Siedlungswasserbau, Industrierwasserwirtschaft und Gewässerschutz
der Universität für Bodenkultur,
Muthgasse 18, A-1190 Wien, Email: sig-office@boku.ac.at

Band: 22, 29, 39, 40, 46, 67, 71, 72, 76, 77, 80, 83, 85, 87, 88, 94, 103, 112, 115, 118, 120, 124, 126, 128, 131, 133, 136, 142, 146, 150, 154, 163, 167, 168, 169, 178, 179, 182, 185, 186, 194, 196, 203, 204, 207, 209, 210, 215, 217, 218, 220, 222, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 238, 240, 242, 244, 245, 246

Institut für Hydraulik und landeskulturelle Wasserwirtschaft
der Universität für Bodenkultur
Muthgasse 18, A-1190 Wien, Email: dietmar.fellner@boku.ac.at

Band: 119, 149, 151, 170