

Fachgruppe Umweltverfahrenstechnik  
des Internationalen Hochschulinstituts Zittau einer Zentralen Wissenschaftlichen  
Einrichtung  
der Technischen Universität Dresden

# **Test einer Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung zum Abbau von Arzneimittelwirkstoffen mit Untersuchung des Potentials der Bioaugmentation**

Abschlussbericht zum oben genannten Forschungsvorhaben,  
gefördert von der  
Deutschen Bundesstiftung Umwelt  
unter dem AZ 32028

vorgelegt von  
Dr.-Ing. Gernot Kayser und Dipl.-Ing. Annekathrin Kluttig  
Oktober 2016

**Projektkennblatt**  
der  
**Deutschen Bundesstiftung Umwelt**



<b>AZ</b>	<b>32028/01</b>	<b>Referat</b>	<b>23</b>	<b>Fördersumme</b>	<b>78.456 €</b>
<b>Antragstitel</b>		<b>Test einer Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung zum Abbau von Arzneimittelwirkstoffen mit Untersuchung des Potentials der Bioaugmentation</b>			
<b>Stichworte</b>					
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
<b>17 Monate</b>	<b>01.10.2014</b>				
Zwischenberichte					
<b>Bewilligungsempfänger</b>		Technische Universität Dresden Internationales Hochschulinstitut Zittau Herr Dr. Gernot Kayser Markt 23 02763 Zittau		Tel	+49 3583 612716
				Fax	+49 3583 612734
				Projektleitung Dr. Gernot Kayser	
				Bearbeiter Dipl.-Ing. Annekathrin Kluttig	
<b>Kooperationspartner</b>		Süd-Oberlausitzer Wasserversorgungs- und Abwasserentsorgungsgesellschaft Äußere Weberstr. 43 02763 Zittau Institut f. Klinische Pharmakologie Technische Universität Dresden Fachgruppe Mykologie, IHI Zittau, Technische Universität Dresden Mangrove, Planungsbüro Unser Wasser, Ing.-Büro			
<b>Zielsetzung und Anlass des Vorhabens</b>					
<p>Die Anreicherung von Arzneistoffen im Wasserkreislauf stellt ein wachsendes Umweltproblem dar. In Deutschland wurden bisher 274 Arzneimittelwirkstoffe und -metaboliten in verschiedenen Umweltmatrices nachgewiesen. Für viele Wirkstoffe liegen die gemessenen Umweltkonzentrationen in der gleichen Größenordnung wie die jeweiligen Wirkkonzentrationen. Als Haupteintragsquellen von Arzneistoffen in Oberflächengewässer wurden kommunale Kläranlagen sowie pharmazeutische Betriebe identifiziert.</p> <p>Im Projekt wurde untersucht, inwieweit Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung geeignet sind, Arzneistoffe aus Kommunalabwasser zu entfernen. Mit der sequentiellen Kreislaufführung des zu behandelnden Wassers sollte es möglich sein, die Sauerstoffversorgung des Biofilms in den Pflanzenbeeten zu intensivieren und somit das Redoxpotential im Reaktionsraum zu erhöhen. Des Weiteren erschien es möglich, die Aufenthaltszeit des Wassers im Bodenfilter zu steuern. So konnten die Behandlungsbedingungen an das Abbauverhalten der betrachteten Stoffe angepasst werden.</p> <p>Zusätzlich wurde die potentielle Leistungssteigerung des untersuchten Verfahrens durch Bioaugmentation mittels Weißfäulepilzen untersucht. Gerade hinsichtlich des schwer abbaubaren Carbamazepins wurde für verschiedene Vertreter dieser Pilze die Fähigkeit zum Abbau nachgewiesen.</p>					
<b>Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden</b>					
<p>Der Versuchsaufbau bestand aus vier verschiedenen Bodenfiltern: Als Referenz für die Reinigungsleistung einer konventionellen Pflanzenkläranlage (PKA) wurden zwei Module als vertikal durchströmte, bepflanzte Bodenfilter betrieben. Je zwei Modulpaare wurden als PKA mit sequentieller Kreislaufführung ausgeführt. Die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen wurde an beiden Verfahren getestet. So konnten die Effekte der sequentiellen Kreislaufführung und der Bioaugmentation in Bezug auf die Metabolisierung von Arzneistoffen im Vergleich mit konventionellen PKA qualitativ und quantitativ erfasst werden.</p> <p>Im Laufe des Projekts wurde die Prozessführung in verschiedenen Kombinationen getestet, um den Einfluss von Beschickungsvolumen, Zyklusanzahl pro Sequenz und Nährstoffzugabe zu bewerten. PKA mit sequentieller Kreislaufführung sind in Europa noch sehr selten im Einsatz, ihre Anwendung zur Entfernung schwer abbaubarer Substanzen aus Kommunalabwasser wurde noch nicht untersucht. Die grundsätzliche Fähigkeit von verschiedenen Vertretern der Weißfäulepilze zum Abbau von Arzneistoffen wurde bereits bewiesen, die Bedingungen für den Einsatz mit realem Abwasser im kontinuierlichen Prozess wurden bisher jedoch nicht untersucht.</p>					
<small>Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Bornau 2 • 49090 Osnabrück • Tel 0541/9633-0 • Fax 0541/9633-190 • <a href="http://www.dbu.de">http://www.dbu.de</a></small>					

## **Ergebnisse und Diskussion**

Die höchsten durchschnittlichen Eliminationsraten für Carbamazepin wurden während Testphase 1 (4 x 6 h Aufenthaltszeit) erreicht und betragen 29 % und 20 % für die sequentiellen PKA (SeqPKA) sowie 19 % und 8 % für die konventionellen PKA (KonPKA). Die gemessene Elimination wurde vermutlich erreicht durch eine Kombination aus physikalischer Festlegung und biologischem Abbau durch die inokulierten Weißfäulepilze *Agrocybe aegerita* und *Coprinellus radians*, da für Carbamazepin in der ersten Phase ein deutlicher Unterschied zwischen den beimpften und den unbeimpften Anlagen festgestellt wurde. Für Gabapentin stellte sich ein dauerhafter Rückhalt erst in der 7. Woche des Probenahmezeitraums für die SeqPKA und in der 11. Woche für die KonPKA ein. Als höchste durchschnittliche Leistung wurden 40 % für die SeqPKA und 36 % für die KonPKA erreicht. Die zunehmende Elimination hatte vermutlich mit einem Wechsel der Biozönose, bzw. einer Adaptation derselben zu tun. Propranolol wurde im Durchschnitt mit 60 % von den SeqPKA und mit 64 % bzw. 59 % von den KonPKA aus dem Wasser eliminiert. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den getesteten Technologien oder Prozessführungen festgestellt werden. Dagegen wurde für Sulfamethoxazol ein deutlicher Unterschied zwischen den Technologien SeqPKA und KonPKA gefunden. Während in den KonPKA im Durchschnitt 10% und 19 % Sulfamethoxazol eliminiert wurden, erreichten die SeqPKA im Mittel 44 % bzw. 54 %; die höchste Abbauleistung (66 %) wurde hier bei der längsten Gesamtaufenthaltszeit von 48 h mit 8 Zyklen erzielt. Ähnlich wie beim Carbamazepin wurden auch beim Sulfamethoxazol in der ersten Testphase höhere Eliminationsraten in den beimpften im Vergleich zu den unbeimpften Anlagen beobachtet. Für Diclofenac wurden höhere Abbauleistungen in den SeqPKA beobachtet; die höchste Elimination von 60 % wurde auch hier bei der längsten Gesamtaufenthaltszeit von 48 h mit 8 Zyklen erreicht. Da auch bei den KonPKA eine Steigerung der Abbauleistungen festgestellt wurde, ist diese nicht allein auf die Prozessführung zurückzuführen, sondern liegt möglicherweise an einer Änderung/Adaptation in der Biozönose.

## **Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation**

Es ist ein Abstract für die Präsentation der Ergebnisse auf der IWA-Konferenz „Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies“ im Mai/Juni 2017 in Brasilien eingereicht. Weitere Konferenzbeiträge zum Vorhaben sind vorgesehen. Des Weiteren werden die Ergebnisse auf der Homepage der Fachgruppe Umweltverfahrenstechnik dargestellt. (Noch nicht erfolgt, da die Homepage des IHI Zittau derzeit im Umbau.) Natürlich werden die Ergebnisse den Projektpartnern zur Verfügung gestellt.

## **Fazit**

Die Ergebnisse verdeutlichen die besseren Abbauleistungen der Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung gegenüber den konventionellen PKA hinsichtlich persistenter Substanzen. Dies konnte für Carbamazepin, Gabapentin, Sulfamethoxazol und Diclofenac nachgewiesen werden. Sowohl für Sulfamethoxazol als auch für Diclofenac wurden die besten Leistungen mit der längsten Gesamtaufenthaltszeit und den häufigsten Filterwechseln erreicht. Offensichtlich begünstigt die lange Kontaktzeit zwischen Abwasserkontaminanten und Biofilm die Elimination auch schwer abbaubarer Stoffe aus dem Abwasser. Dies und die Tatsache, dass die Betriebsbedingungen der SeqPKA kontrollier- und steuerbar sind, macht diese Technologie besonders geeignet für die Elimination persistenter Stoffe.

Des Weiteren geben die Ergebnisse deutliche Hinweise darauf, dass die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen die Reinigungsleistung sowohl der KonPKA als auch der SeqPKA hinsichtlich bestimmter refraktärer Stoffe verbessert. Die gemessenen Abbauleistungen für Carbamazepin, Propranolol, Sulfamethoxazol waren in den beimpften Versuchsanlagen höher als in den unbeimpften jeweils gleicher Technologie. Diese höheren Leistungen der beimpften Anlagen konnten allerdings nur für die erste Testphase festgestellt werden, sodass man davon ausgehen muss, dass sich die inokulierten Pilze nicht in den Anlage halten konnten. Es müssen also Verfahren gefunden werden, Weißfäulepilze dauerhaft im Filterbett zu etablieren. Zum einen sollte nach geeigneten Pilzarten geforscht werden, die unter den speziellen Umweltbedingungen einer PKA gedeihen können, zum andern könnten zusätzliche Nährstoffgaben für einen kontinuierlich guten Stoffwechsel der Pilze notwendig sein.

Hinsichtlich der Arzneimittel Gabapentin und Diclofenac lässt die im Juni und vor allem Juli erfolgte Steigerung der Abbauleistung sowohl für SeqPKA als auch KonPKA die Schlussfolgerung zu, dass eine Veränderung/ Adaptation der Biozönose in den Filtern für die Leistungssteigerung verantwortlich ist. Auch dabei können gezielte Nährstoffgaben zu einer weiteren Erhöhung der Abbauleistung führen.

Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung haben das Potential, als vierte Reinigungsstufe einer KKA zur Elimination organischer Spurenstoffe eingesetzt zu werden. Auf Grundlage dieser ersten Ergebnisse muss nun eine gezielte weitere Konzeptionierung und Optimierung dieser Technologie für diese spezielle Einsatzvariante erfolgen. In zukünftige Untersuchungen sollten auch andere refraktäre Stoffe einbezogen werden.

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....	VI
Verzeichnis von Begriffen, Abkürzungen und Definitionen .....	VII
Zusammenfassung .....	1
Einleitung .....	2
Versuchsanlagen – Konzept und Aufbau .....	5
Konventionelle Pflanzenkläranlage – KonPKA .....	6
Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung (SeqPKA) .....	8
Pilzanzucht .....	10
Material und Methoden .....	10
Untersuchte Arzneimittelwirkstoffe .....	10
Carbamazepin .....	10
Gabapentin .....	11
Propranolol .....	11
Sulfamethoxazol .....	11
Diclofenac .....	12
Ibuprofen .....	12
Metformin .....	12
Probenahme und –vorbereitung .....	13
Ergosterolbestimmung .....	13
Analytik .....	13
Arzneimittel .....	13
Ergosterol .....	14
Variation der Prozessführung .....	14
Ergebnisse und Diskussion .....	15
Konzentrationen und Rückhalt der Arzneimittelwirkstoffe .....	15
Carbamazepin .....	15
Gabapentin .....	16
Propranolol .....	17
Sulfamethoxazol .....	18
Diclofenac .....	19
Ibuprofen .....	20
Metformin .....	20
Eliminationsleistungen der Anlagen .....	21
Carbamazepin .....	21
Gabapentin .....	23
Propranolol .....	24
Sulfamethoxazol .....	26

Diclofenac .....	27
Metformin .....	28
Bioaugmentation .....	29
Ergosterolgehalte.....	29
Ansiedlung von Pilzen .....	30
Unerwartet aufgetretene Probleme.....	31
Unterschiedliche Entwicklung der Schilfpflanzen .....	31
Analytische Methode für Feststoffe (Holz, Sand, Pflanzen) .....	32
Ökologische, technologische und ökonomische Bewertung der Ergebnisse.....	32
Verbreitung der Vorhabensergebnisse .....	33
Fazit.....	33
Literaturverzeichnis .....	A
Anhang I: Abiotische Faktoren .....	D
Anlage II: Konzentrationen der untersuchten Arzneistoffe in Zu- und Ablauf der einzelnen Anlagen.....	E

# Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Projektpartner .....	4
Abbildung 1: Gesamtübersicht der Versuchsanlagen.....	5
Abbildung 2: Konventionelle Pflanzenkläranlage (KonPKA).....	6
Tabelle 2: Kennzeichnungen im Schaltplan der KonPKA.....	6
Abbildung 4: IBC-Tank vor Umarbeitung (Foto A. Kluttig).....	7
Abbildung 3: Phragmites australis vor dem Einpflanzen (A. Kluttig).....	7
Abbildung 5: Frostschutz für die Versuchsanlagen (Foto A. Kluttig).....	7
Abbildung 6: Schaltplan der Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung (SeqPKA).....	8
Tabelle 3: Kennzeichnungen im Schaltplan.....	8
Abbildung 7: Versuchs-Pflanzenkläranlagen des Projekts (Foto A. Kluttig).....	9
Abbildung 8: Strukturformel Carbamazepin.....	10
Abbildung 9: Strukturformel Gabapentin.....	11
Abbildung 10: Propranolol; oben (R)-Propranolol, unten (S)-Propranolol, 1:1 Stereoisomerenmischung.....	11
Abbildung 11: Strukturformel Sulfamethoxazol.....	11
Abbildung 12: Strukturformel Diclofenac.....	12
Abbildung 13: Strukturformel Ibuprofen.....	12
Abbildung 14: Strukturformel Metformin.....	12
Tabelle 4: Gradient der mobilen Phasen.....	14
Tabelle 5: Getestete Sequenzen für die SeqPKA.....	14
Abbildung 15: Carbamazepinkonzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A1.....	15
Abbildung 16: Rückhalt von Carbamazepin in ng/l in den Versuchsanlagen.....	15
Abbildung 17: Gabapentin-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der Anlage A1.....	16
Abbildung 18: Gabapentin-Rückhalt in ng/l in den Versuchsanlagen.....	16
Abbildung 19: Propranololkonzentrationen in Zu- und Ablauf von Anlage A2.....	17
Abbildung 20: Rückhalt von Propranolol in ng/l in den Versuchsanlagen.....	17
Abbildung 21: Sulfamethoxazol-Konzentrationen in Zu- und Ablauf von Anlage A1.....	18
Abbildung 22: Rückhalt von Sulfamethoxazol in ng/l in den Versuchsanlagen.....	18
Abbildung 23: Diclofenac-Konzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A1.....	19
Abbildung 25: Metformin-Konzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A4.....	20
Abbildung 26: Rückhalt von Metformin in µg/l in den Versuchsanlagen.....	20
Abbildung 27: Abbauleistungen hinsichtlich Carbamazepin.....	21
Abbildung 28: Relative Abbauleistung für Carbamazepin [%].....	22
Tabelle 6: Durchschnittliche Abbauleistungen für Carbamazepin [%].....	22
Abbildung 29: Abbauleistungen für Gabapentin.....	23
Abbildung 30: Relative Abbauleistungen für Gabapentin [%].....	23
Tabelle 7: Durchschnittliche Abbauleistungen für Gabapentin [%].....	24
Abbildung 31: Abbauleistungen für Propranolol.....	24
Tabelle 8: Durchschnittliche Abbauleistungen für Propranolol [%].....	25
Abbildung 32: Relative Abbauleistungen für Propranolol [%].....	25
Abbildung 33: Abbauleistungen für Sulfamethoxazol.....	26
Tabelle 9: Relative Abbauleistungen für Sulfamethoxazol [%].....	26
Abbildung 34: Relative Abbauleistungen für Sulfamethoxazol [%].....	27
Abbildung 35: Abbauleistungen für Diclofenac.....	27
Abbildung 36: Relative Abbauleistungen für Diclofenac [%].....	28
Tabelle 10: Durchschnittliche Abbauleistungen für Diclofenac [%].....	28
Abbildung 37: Abbauleistungen für Metformin.....	29
Tabelle 11: Durchschnittliche Abbauleistungen für Metformin [%].....	29
Abbildung 38: Relative Abbauleistungen für Metformin [%].....	29
Tabelle 12: Ergosterol-Gehalte in Holzhackschnitzeln.....	29
Abbildung 39: Phragmites australis kurz nach dem Einpflanzen (Foto A. Kluttig).....	31
Abbildung 40: Filtermodule im September 2016, links konventionelle PKA, rechts sequentielle PKA (Foto A. Kluttig).....	31

## Verzeichnis von Begriffen, Abkürzungen und Definitionen

°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
d	Tag
h	Stunde
H <sub>2</sub> O	Wasser
IBC	Intermediate Bulk Container
KKA	Kommunalkläranlage
KonPKA	Konventionelle Pflanzenkläranlage
l	Liter
m	Meter
mm	Millimeter
m <sup>3</sup>	Kubikmeter
µg	Mikrogramm
ng	Nanogramm
PKA	Pflanzenkläranlage
PNEC	Predicted no effect concentration
SeqPKA	Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung

## Zusammenfassung

Im Vorhaben wurde die Eignung von Pflanzenkläranlagen (PKA) mit sequentieller Kreislaufführung als vierte Reinigungsstufe einer KKA getestet. Dies wurde im Hinblick auf ausgewählte Arzneistoffe als Vertreter schwerabbaubarer Abwasserinhaltsstoffe untersucht. Des Weiteren wurde das Potential der Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen zur Beschleunigung des Abbaus der Pharmazeutika getestet. Bei den ausgewählten Arzneistoffen handelte es sich um Carbamazepin, Gabapentin, Propranolol, Sulfamethoxazol, Ibuprofen, Diclofenac und Metformin.

Die höchsten durchschnittlichen Eliminationsraten für Carbamazepin wurden während Testphase 1 (4 x 6h Aufenthaltszeit) erreicht und betragen 29% und 20 % für die sequentiellen PKA (SeqPKA) sowie 19% und 8% für die konventionellen PKA (KonPKA). Die gemessene Elimination wurde vermutlich erreicht durch eine Kombination aus physikalischer Festlegung und biologischem Abbau durch die inokulierten Weißfäulepilze *Agrocybe aegerita* und *Coprinellus radians*, da für Carbamazepin in der ersten Phase ein deutlicher Unterschied zwischen den beimpften und den unbeimpften Anlagen festgestellt wurde. Für Gabapentin stellte sich ein dauerhafter Rückhalt erst in der 7. Woche der Probenahmeperiode für die SeqPKA und in der 11. Woche für die KonPKA ein. Als höchste durchschnittliche Leistung wurden 40% für die SeqPKA und 36% für die KonPKA erreicht. Die zunehmende Elimination hatte vermutlich mit einem Wechsel der Biozönose, bzw. einer Adaptation derselben zu tun. Propranolol wurde im Durchschnitt mit 60% von den SeqPKA und mit 64% bzw. 59% von den KonPKA aus dem Wasser eliminiert. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den getesteten Technologien oder Prozessführungen festgestellt werden. Dagegen wurde für Sulfamethoxazol ein deutlicher Unterschied zwischen den Technologien SeqPKA und KonPKA gefunden. Während in den KonPKA im Durchschnitt 10% und 19% Sulfamethoxazol eliminiert wurden, erreichten die SeqPKA im Mittel 44% bzw. 54%; die höchste Abbauleistung (66%) wurde hier bei der längsten Gesamtaufenthaltszeit von 48h mit 8 Zyklen erzielt. Ähnlich wie beim Carbamazepin wurden auch beim Sulfamethoxazol in der ersten Testphase höhere Eliminationsraten in den beimpften im Vergleich zu den unbeimpften Anlagen beobachtet. Für Diclofenac wurden höhere Abbauleistungen in den SeqPKA beobachtet; die höchste Elimination von 60% wurde auch hier bei der längsten Gesamtaufenthaltszeit von 48h mit 8 Zyklen erreicht. Da auch bei den KonPKA eine Steigerung der Abbauleistungen festgestellt wurde, ist diese nicht allein auf die Prozessführung zurückzuführen, sondern liegt möglicherweise an einer Änderung/Adaptation in der Biozönose. Metformin zeigte während des ganzen Testzeitraums das Bild einer schwer abbaubaren Substanz, das Verhalten ist offenbar hauptsächlich bestimmt von physikalischen Prozessen, Rückhalt und Freisetzung wechselten, im Gesamtdurchschnitt wurden Eliminationsraten zwischen 6% und 15% erzielt. Es waren keine Unterschiede zwischen den getesteten Prozessführungen oder Technologie zu erkennen.

Im weiteren Vorgehen sollte die Elimination der Arzneistoffe in SeqPKA optimiert werden. Um einen biologischen Abbau nach zu weisen, müssen mögliche Metabolite der untersuchten Arzneistoffe in das Analysenprogramm aufgenommen werden. Die gewonnenen Ergebnisse für die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen sind vielversprechend. Diese Möglichkeit sollte weiter untersucht werden; zum einen gibt es möglicherweise Arten, die für das spezielle Milieu besser geeignet sind als die hier getesteten. Zum anderen können gezielte Nährstoffgaben dazu beitragen, dass sich die Pilze dauerhaft im Filter etablieren und aktiven Stoffwechsel betreiben und so den Abbau der persistenten Stoffe übernehmen bzw. unterstützen. Des Weiteren muss sichergestellt werden, dass keine dauerhafte Anreicherung/Kontamination der Filterkompartimente stattfindet. Um dies zu untersuchen bzw. auszuschließen, ist eine verlässliche Arzneistoffanalytik für Feststoffe und Pflanzen notwendig. Genaue wirtschaftliche Betrachtungen können erst nach allen Optimierungsschritten unternommen werden, da erst dann alle Notwendigkeiten für einen stabilen Betrieb abgeklärt sein werden.

Projektpartner waren das Institut für Klinische Pharmakologie der Medizinischen Fakultät und die Arbeitsgruppe Mykologie des IHI Zittau, beide Technische Universität Dresden. Die SOWAG mbH als Betreiber der KKA Zittau, das Planungsbüro Mangrove sowie das Ingenieurbüro Unser Wasser.

Das Vorhaben wurde von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt unter dem Aktenzeichen AZ 32028 gefördert.

## Einleitung

In Deutschland werden in der Humanmedizin über 2700 Wirkstoffe eingesetzt. In der Tiermedizin sind ca. 600 Wirkstoffe erfasst, wobei bestimmte Stoffe sowohl in Human- als auch Veterinärarzneimitteln verwendet werden (Engelmann et al., 2011). Arzneistoffe in der Umwelt wurden in den letzten Jahren als wachsendes Problem erkannt. In Deutschland wurden bisher 274 Arzneimittelwirkstoffe und -metaboliten in verschiedenen Umweltmatrices nachgewiesen (Bergmann, 2011); ein Problem, das ähnlich in allen Industriestaaten festgestellt wird (z.B. Fatta-Kassinos et al., 2011; WHO, 2011). In der Umwelt wurden Arzneistoffkonzentrationen im Bereich von ng/L bis µg/L gemessen (Daughton und Ternes, 1999). Für viele Wirkstoffe liegen damit die gemessenen Umweltkonzentrationen in der gleichen Größenordnung wie die entsprechenden Wirkkonzentrationen (Ebert, 2011). Studien belegen, dass Arzneimittel auch in niedrigsten Konzentrationen von erheblicher Bedeutung für die Umwelt sind aufgrund ihrer potentiellen Langzeitwirkung auf Mensch und Tier (Ankley et al., 2007; Celiz et al., 2009). Als Haupteintragspfade von Arzneistoffen in Oberflächengewässer wurden kommunale Kläranlagen sowie pharmazeutische Betriebe (Punktquellen) identifiziert. Bei der Anwendung werden Arzneimittelwirkstoffe und ihre Metaboliten zu einem hohen Anteil vom Menschen wieder ausgeschieden. Zusätzlich können unverbrauchte Arzneimittel durch eine unsachgemäße Entsorgung über die Toilette in das Abwasser gelangen (Engelmann et al., 2007).

Der Haupteintragspfad von Arzneistoffen in die Umwelt aus kommunalen Kläranlagen beweist, dass es sich um schwer abbaubare Stoffe handelt. Mit der vorhandenen Biozönose und den Prozessbedingungen einer kommunalen Abwasserreinigung können Pharmazeutika nicht oder nur in geringem Maße abgebaut werden. Die folgenden Veröffentlichungen verdeutlichen jedoch, dass die Substanzen unter speziellen Voraussetzungen biologisch abbaubar sind. Àvila (2013) hat den Abbau von u.a. Ibuprofen, Diclofenac und Acetaminophen in verschiedenen Pflanzenkläranlagen (PKA) getestet. Für Ibuprofen und Diclofenac wurde ein signifikant höherer Abbaugrad (85% bzw. 89%) im Versuch mit dem höheren Redoxpotential erreicht, der Abbau von Acetaminophen war gleichbleibend hoch (>90%). Die Erhöhung des Redoxpotentials in den Versuchsanlagen wurde durch einen Batchbetrieb erreicht. Cai et al. (2012) untersuchten den Abbau von Hormonen in einer horizontal beschickten PKA; Untersuchungen über ein Jahr ergaben einen durchschnittlichen Östrogenabbau von 95%. Matamoros et al. (2012) untersuchten den Einfluss der Bepflanzung auf die Abbauleistung von PKA und kamen zur Erkenntnis, dass die Pflanzen in unterschiedlichem Maße zum Abbau der Kontaminanten beitragen. So erfolgte die Entfernung von Ibuprofen aus dem Wasser durch biologischen Abbau und Pflanzenaufnahme, wobei signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Pflanzenarten gefunden wurden, des Weiteren wurden zwei Abbauprodukte von Ibuprofen, Carboxy-Ibuprofen und Hydroxy-Ibuprofen, nachgewiesen.

Die Reinigungsleistung herkömmlicher PKA wird vor allem begrenzt durch die passive Belüftung und den damit verbundenen limitierten Sauerstofftransfer (Brix, 1994; Sun et al., 1999; Luederitz et al., 2001). Mit einer Steigerung des Sauerstofftransfers kann die Leistung der Anlagen erhöht und damit deren Einsatzmöglichkeiten erweitert werden (Austin und Nivala, 2009). Ein Verfahren hierzu ist die PKA mit sequentieller Kreislaufführung. Das Verfahren ist gekennzeichnet durch die Rezyklierung des Abwassers zwischen zwei bepflanzten Bodenfiltern. Das abfließende Abwasser zieht Luft in die Poren des jeweils geleerten Bodenfilters, was für eine Belüftung des Biofilms sorgt (Behrends, 1999; Zhao et al., 2004; Sun et al., 2006). Wu et al. (2011) fanden eine Sauerstofftransfertrate von 350 g/(m<sup>2</sup>\*d) O<sub>2</sub>, Sun et al. (2006) eine von 473 g/(m<sup>2</sup>\*d) O<sub>2</sub> in einer PKA mit sequentieller Kreislaufführung verglichen mit der einer konventionellen PKA von <100 g/(m<sup>2</sup>\*d) O<sub>2</sub>. Der erhöhte Sauerstoffeintrag führte zu einem erhöhten BSB<sub>5</sub>-Abbau, ohne dabei die Restkonzentration an Sauerstoff im Ablaufwasser zu senken. Der Energieverbrauch von ca. 0,18 kWh/m<sup>3</sup> für die Steigerung des Sauerstoffeintrags (Kadlec und Wallace, 2008) ist dabei gering, verglichen mit dem des Belebtschlammverfahrens, das ca. 0,76 kWh/m<sup>3</sup> verbraucht.

Vorteile der höher technisierten naturnahen Verfahren im Vergleich mit den herkömmlichen (Austin et al., 2003; Austin und Nivala, 2009):

- Verbesserte biologische Stickstoffentfernung unter niedrigerem Energieverbrauch als in Belebungsanlagen
- Höhere hydraulische Effizienz: die Ausbildung von bevorzugten Fließwegen (short cuts) wird vermieden
- Höheres Redoxpotential
- Größerer Einsatzbereich der Technologie durch höhere Abbauleistung bzw. geringeren Flächenbedarf

- Bessere Prozesskontrolle; Steuerung der Aufenthaltszeit und Belüftung möglich

Alle Substanzen, die mikrobiell abbaubar sind, können potentiell in Pflanzenkläranlagen metabolisiert werden. Die Pflanzen können das Abbaupotential erhöhen. Obwohl die Pflanzen von untergeordneter Bedeutung für die Behandlung hoher Konzentrationen der Kontaminanten sind, spielen sie beim Abbau von geringen Konzentrationen eine signifikante Rolle, vor allem in Verbindung mit langen hydraulischen Aufenthaltszeiten. Deshalb sind PKA besonders geeignet als Nachreinigung hinter konventionellen Abwasserreinigungsstufen, um verbliebene Substanzen aus dem Ablauf zu entfernen (Kuschik et al., 2012).

Man spricht von Bioaugmentation, wenn ein Organismus oder ein Organismenkonsortium zur autochthonen Lebensgemeinschaft in einem kontaminierten Medium hinzugefügt wird, um eine Steigerung der Stoffwechsellistung hinsichtlich des/der Kontaminanten zu erreichen. Der Abbau der Kontaminanten findet durch die direkte Verwertung als Energielieferant oder indirekt als Co-Metabolismus durch unspezifische enzymatische Reaktionen statt. Die Methode der Bioaugmentation wurde hauptsächlich bei der biologischen Bodenreinigung genutzt, findet aber in letzter Zeit vermehrt Anwendung in Wasseraufbereitungsprozessen, als alternative Methode zur Eliminierung von refraktären, organischen Substanzen (Zawierucha et al., 2011, Semrany, 2012).

Für verschiedene Vertreter der Weißfäulepilze wurde bereits nachgewiesen, dass sie in der Lage sind bestimmte Pharmazeutika abzubauen. Z.B. sind Weißfäulepilze die bisher einzigen bekannten Organismen neben den Vertebraten, die Carbamazepin abbauen können (Zhang und Geißen, 2012). Cruz-Morató et al. (2013a) untersuchten den Abbau verschiedener Arzneistoffe mit *Trametes versicolor* in einem Schwimmbettreaktor. Dabei wurde unsteriles Abwasser verwendet. Sie fanden für Ibuprofen und Erythromycin einen vollständigen Abbau, für Ciprofloxazin einen Abbau von 35%. Der Abbau von Clofibrinsäure durch *Trametes versicolor* wurde im kontinuierlichen Verfahren (steril) getestet. Die Ergebnisse zeigten eine Abbaurrate von 80% (Zufuhrkonzentration 160 µg/L) im Fließgleichgewicht (Cruz-Morató et al., 2013b). Rodríguez-Rodríguez et al. (2011) untersuchten den Abbau von 14 Pharmazeutika in Klärschlamm (sterilisiert), ebenfalls mit *Trametes versicolor*. Abbaugrade von 43 bis 99% wurden nach 42 Tagen Inkubationszeit erreicht, speziell für Carbamazepin ein Abbaugrad von 43%. In einem anderen Versuch wurden Naproxen und Carbamazepin in Klärschlamm dosiert und ihr Abbau durch *Trametes versicolor* untersucht. Nach 72 Stunden Inkubationszeit wurden Abbauraten von 100% für Naproxen und von 48% für Carbamazepin gemessen (Rodríguez-Rodríguez et al., 2010). Der Abbau von Diclofenac durch *Trametes versicolor* konnte von Marco-Urrea et al. (2010) nachgewiesen werden. Es wurde ein Abbau von 94 % in der ersten Stunde der Behandlung festgestellt. Während des Versuchs wurden Metaboliten von Diclofenac (4'-hydroxydiclofenac und 5'-hydroxydiclofenac) im Versuchsansatz nachgewiesen, die nach weiteren 24 h wieder verschwanden (Marco-Urrea et al., 2010). Zhang und Geißen (2012) untersuchten den Abbau von Carbamazepin (5 mg/L) durch *Phanerochaete chrysosporium* in einem neuartigen Plattenreaktor. Im kontinuierlichen Betrieb (nicht steril) konnten Abbaugrade von ca. 80% für Carbamazepin erreicht werden. Versuche mit dem Ablaufwasser einer kommunalen Kläranlage (niedrige Nährstoffkonzentrationen und hohe mikrobielle Kontamination) resultierten in einer Senkung des Carbamazepin-Abbaus. Nach einer Nährstoffzugabe nahm der Pilz den Abbau jedoch wieder auf. Mit dem realen Abwasser konnten nach Zugabe der nötigen Nährstoffe Abbaugrade von etwa 60% erreicht werden. Die Umwandlung von Diclofenac in Flüssigkulturen von *Phanerochaete chrysosporium* wurde von Rodarte-Morales et al. (2012) untersucht. In Batch-Versuchen wurden 94% des Stoffes entfernt.

Unsere eigenen Untersuchungen und die Arbeiten anderer Arbeitsgruppen verdeutlichten die Fähigkeit verschiedener Vertreter der Weißfäulepilze zum Abbau von Pharmazeutika, insbesondere Carbamazepin. Dies legt nahe, Weißfäulepilze für eine Bioaugmentation in der biologischen Abwasserreinigung zu testen, um die getestete naturnahe Technologie speziell für die Arzneistoffe zu optimieren.

PKA mit sequentieller Kreislaufführung haben durch die spezielle Prozessführung das Potential auch schwer abbaubare Stoffe abzubauen und so kostengünstig und ressourcenschonend aus dem Abwasser zu entfernen. Der bepflanzte Bodenfilter soll durch Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen unterstützt werden. Die genannten Verfahren bieten zusammen möglicherweise eine innovative Technologie für eine weitergehende Abwasserreinigung nicht nur für die Industrieländer. Arzneistoffe wurden in den letzten Jahren als aufkommendes und wachsendes Umweltproblem erkannt, dass eine schwer abschätzbare Gefahr für die Menschen und die

belebte Umwelt darstellt. Im Sinne eines nachhaltigen Umgangs mit natürlichen Ressourcen und der Gesundheitsvorsorge ist es unumgänglich, Arzneistoffe und deren Metabolite so weit als möglich vom Wasserkreislauf fernzuhalten. Dazu ist es notwendig diese aus dem Abwasser zu entfernen.

Unser Vorhaben zielte auf die Untersuchung der Eignung von Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung als vierte Reinigungsstufe von Kommunalkläranlagen zur biologischen Entfernung von Arzneistoffen aus dem Ablaufwasser einer kommunalen Kläranlage. Zusätzlich wurde die potentielle Leistungssteigerung der Verfahren durch Bioaugmentation mit ausgewählten Weißfäulepilzen untersucht.

Für diese Untersuchungen wurde ein Versuchsaufbau mit vier Versuchs-Pflanzenkläranlagen konzipiert und auf dem Gelände der Zittauer Kläranlage aufgestellt. Zwei konventionelle PKA mit je einem vertikal durchströmten, bepflanzten Bodenfilter und zwei PKA mit sequentieller Kreislaufführung, bestehend aus je zwei bepflanzten Bodenfiltern. Die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen wurde an beiden Technologien getestet. Alle Filter hatten eine Schicht aus Holzhackschnitzeln, in jeweils eine Anlage jeder Technologie wurden mit Pilzen beimpfte Hackschnitzel eingebaut, während die Referenzanlagen unbeimpfte Holzhackschnitzel enthielten. Alle Bodenfilter wurden im Sand-/Kiesteil mit *Phragmites australis* bepflanz.

Für die Bioaugmentation wurden zwei Weißfäulepilze, *Agrocybe aegerita* und *Coprinellus radians* unter sterilen Bedingungen im Labor vorkultiviert und anschließend auf Holzhackschnitzel inokuliert (semisteril). Diese Holzhackschnitzel wurden nach mehreren Wochen Inkubationszeit in die Bodenfilter eingebaut (unsteril).

Über 4 Monate wurden die Versuchsanlagen wöchentlich beprobt. In den Proben wurden Temperatur, Sauerstoffgehalt, Leitfähigkeit, CSB und Gesamtstickstoffkonzentration gemessen. Des Weiteren wurden die Arzneistoffe Carbamazepin, Diclofenac, Gabapentin, Ibuprofen, Propranolol, Sulfamethoxazol und Metformin analysiert. Um die Aktivität der Pilze (vorkultivierte und natürlich angesiedelte) zu detektieren, wurden die Holzhackschnitzel auf ihren Ergosterolgehalt hin untersucht.

Die Prozessführung wurde viermal variiert. Es wurden die Anzahl der Zyklen pro Sequenz sowie die Aufenthaltszeiten während der Zyklen bzw. die Gesamtaufenthaltszeit geändert. Jede Variation der Prozessführung wurde mindestens drei Wochen beibehalten, da davon auszugehen ist, dass die Anlagen eine gewisse Reaktionszeit brauchen, um ein stabiles Fließgleichgewicht zu erreichen.

Die Arbeiten im Vorhaben wurden in Kooperation mit folgenden Partner durchgeführt:

Tabelle 1: Projektpartner

Partner		Projektbezogene Leistung
Arbeitsgruppe Mykologie Internationales Hochschulinstitut	TU Dresden	Pilze Pilzvorkulturen
Institut für Klinische Pharmakologie Medizinische, Fakultät Carl Gustav Carus	TU Dresden	Analyse Arzneistoffe
SOWAG mbH	Betreiber der KKA Zittau	Stellplatz für Versuchsanlage Hilfe bei Aufbau und Betriebskontrolle Betriebskosten
Mangrove	Planungsbüro naturnahe Abwasserreinigung	Schilfpflanzen
Unser Wasser	Ingenieurbiologie & Umwelttechnik	Filtermaterial (Sand & Kies)

# Versuchsanlagen – Konzept und Aufbau

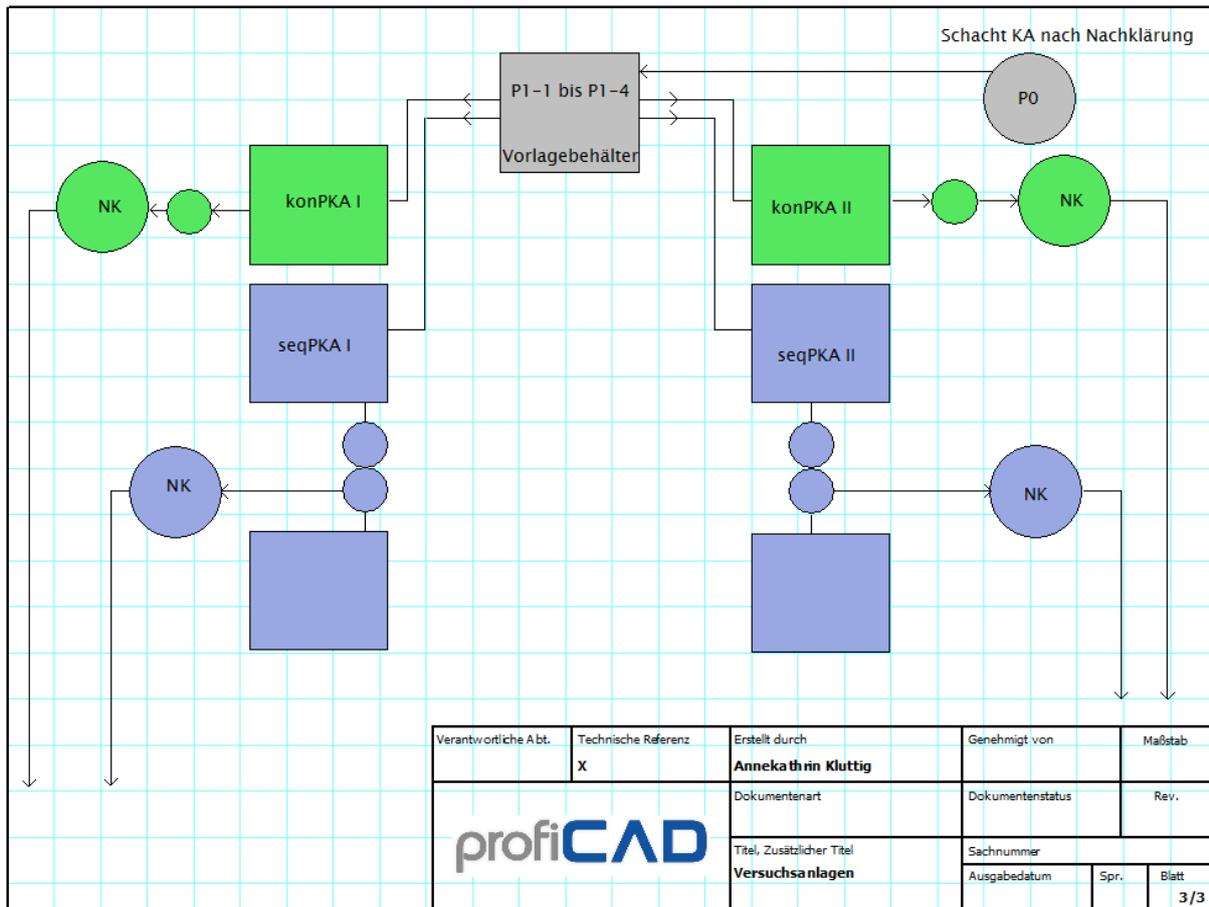


Abbildung 1: Gesamtübersicht der Versuchsanlagen

Die Versuchsanlagen wurden auf dem Gelände der Zittauer Kommunalkläranlage (KKA) errichtet. Die Zittauer Kommunalkläranlage, von der SOWAG mbH betrieben, hat eine Reinigungskapazität von 85.000 EW. Neben den ca. 50.000 Einwohnern des Verbandsgebietes sind knapp 40.000 EWG aus Industrie und Gewerbe sowie gesellschaftlichen Einrichtungen angeschlossen. Wichtigste Industrieeinleiter sind die Großschönauer Textilbetriebe Damino und Frottana sowie Ploucquet in Zittau.

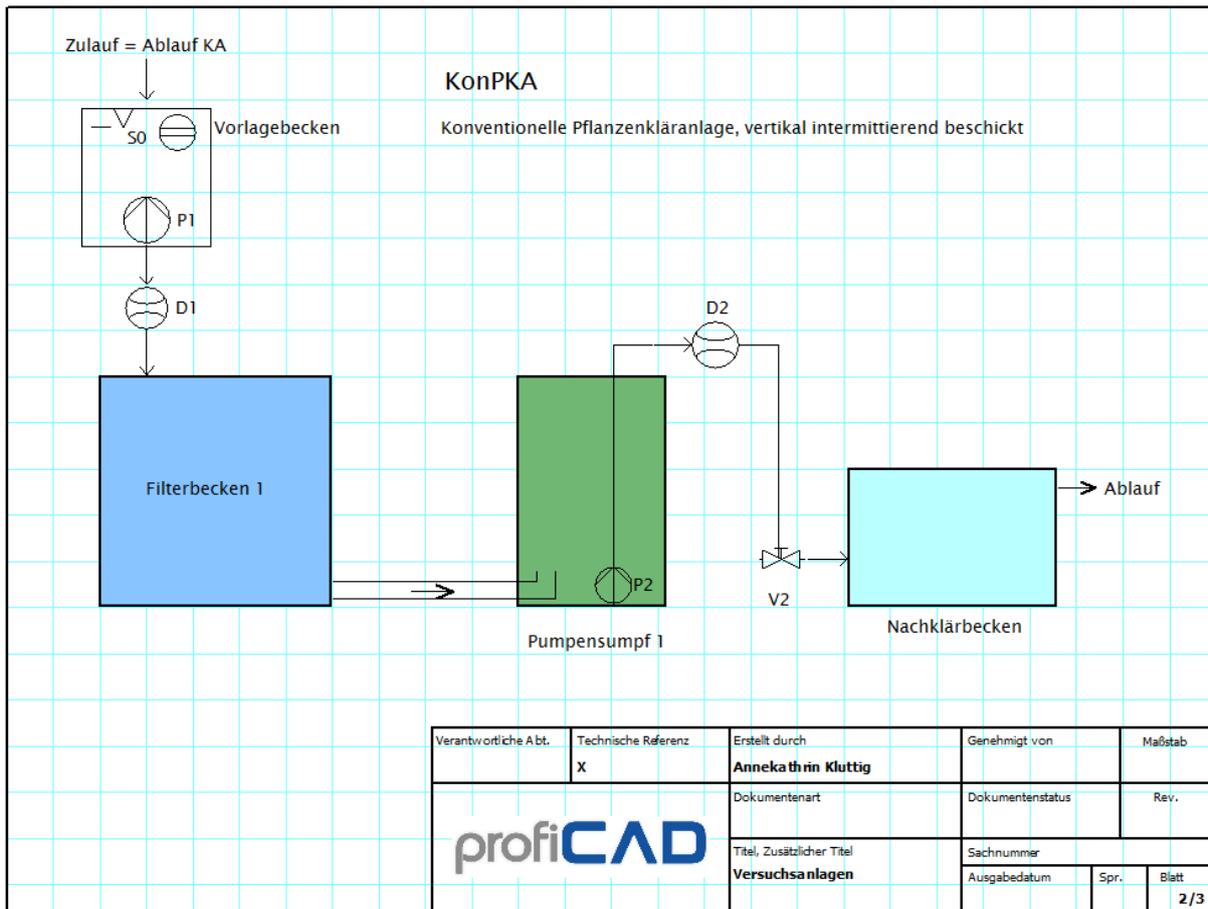
Das Vorlagewasser für die Versuchsanlagen wurde aus dem Probenahmeschacht der Nachklärung der KKA entnommen und in einen Vorlagebehälter für die Versuchsanlagen gepumpt. Die vier Versuchsanlagen wurden aus diesem Vorlagebehälter beschickt.

## Die Versuchsanlagen:

Zwei konventionelle Pflanzenkläranlagen (KonPKA) wurden vertikal intermittierend beschickt. Da kein natürliches Gefälle vorhanden war, wurde der Ablauf aus den Anlagen in einem Pumpensumpf gesammelt und daraus in die Nachklärung gepumpt.

Zwei Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung (SeqPKA) bestehend aus je zwei Filterbecken, zwischen denen das Abwasser im Kreis geführt wurde, je nachdem die entsprechende Sequenz es vorsieht (Anzahl der Wasserwechsel und Aufenthaltszeit). Je ein Filterbecken und ein Pumpensumpf bilden ein kommunizierendes Gefäß, die Kreislaufführung erfolgte durch ein Hin- und Herpumpen des Wassers zwischen den Pumpensämpfen, gesteuert nach einem Zeitplan und dem Wasserstand in den Pumpensämpfen siehe Tabelle 5). Am Ende einer Sequenz wurde das Wasser in die Nachklärung gepumpt.

Aus den Nachklärbecken der Versuchsanlagen fließt das Wasser in den Zulauf der KKA.



## Konventionelle Pflanzenkläranlage – KonPKA

Abbildung 2: Konventionelle Pflanzenkläranlage (KonPKA)

Tabelle 2: Kennzeichnungen im Schaltplan der KonPKA

P1	Tauchpumpe im Vorlagebehälter, gesteuert durch eine Zeitschaltung
P2	Pumpe, die den Pumpensumpf in die Nachklärung leert, gesteuert durch einen Schwimmerschalter
S0	Schwimmerschalter im Vorlagebecken, steuert P0 (hier nicht verzeichnet)
D1	Durchflussmessgerät für den Zulauf
D2	Durchflussmessgerät für den Ablauf
V2	Rückschlagventil
NK	Nachklärbecken mit Überlauf in die Kanalisation

### Zulauf:

Der Vorlagebehälter ist ein IBC-Wassertank, in dem sich die 4 Beschickungspumpen für die Versuchskläranlagen befinden. Die zwei Beschickungspumpen P1 für die KonPKA werden durch jeweils eine Zeitschaltung ein- und ausgeschaltet. In die Zuleitung integriert ist ein Durchflussmessgerät D1. Die Beschickung erfolgt über eine Schlauchverteilung gleichmäßig auf die Oberfläche des Filters.

### Filterbecken:

Das Filterbecken besteht aus einem IBC-Wassertank (B 940 x T 1160 x H 1160). Seitlich unten ist eine Auslaufarmatur vorinstalliert, diese ist verbunden mit dem Pumpensumpf.

Die Filterschichten sind wie folgt eingebaut:

In die Filterschicht wird ein Korb aus verzinktem Gitter eingebaut, der mit Buchenholzhackschnitzeln befüllt ist. Der Gitterkorb ist 1 x 1 x 0,25 m groß.

Unten in den Filter ist eine 20 cm hohe Drainageschicht aus Feinkies (Korngröße 2-8 mm) eingebaut, darauf die eigentliche Filterschicht aus Sand (Korngröße 0-4 mm) 80 cm hoch. In den Sand werden Schilfpflanzen (*Phragmites australis*) eingepflanzt.

Für die Filterschicht ergeben sich folgende Volumina:

**Anlage A2: 0,752 m<sup>3</sup>**

**Anlage A4: 0,796 m<sup>3</sup>**

### Nachklärbecken

Das Nachklärbecken ist eine Kunststofftonne mit einem Fassungsvermögen von 500 Litern. Der Zufluss wird 30 cm unter der Wasseroberfläche angebracht. In die Zuleitung zum Nachklärbecken ist ebenfalls ein Durchlaufmesser integriert. Das Wasser fließt aus einem Überlauf ab in den Zulauf der KKA.



Abbildung 4: *Phragmites australis* vor dem Einpflanzen (A. Kluttig)



Abbildung 3: IBC-Tank vor Umarbeitung (Foto A. Kluttig)



Abbildung 5: Frostschutz für die Versuchsanlagen (Foto A. Kluttig)

## Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung (SeqPKA)

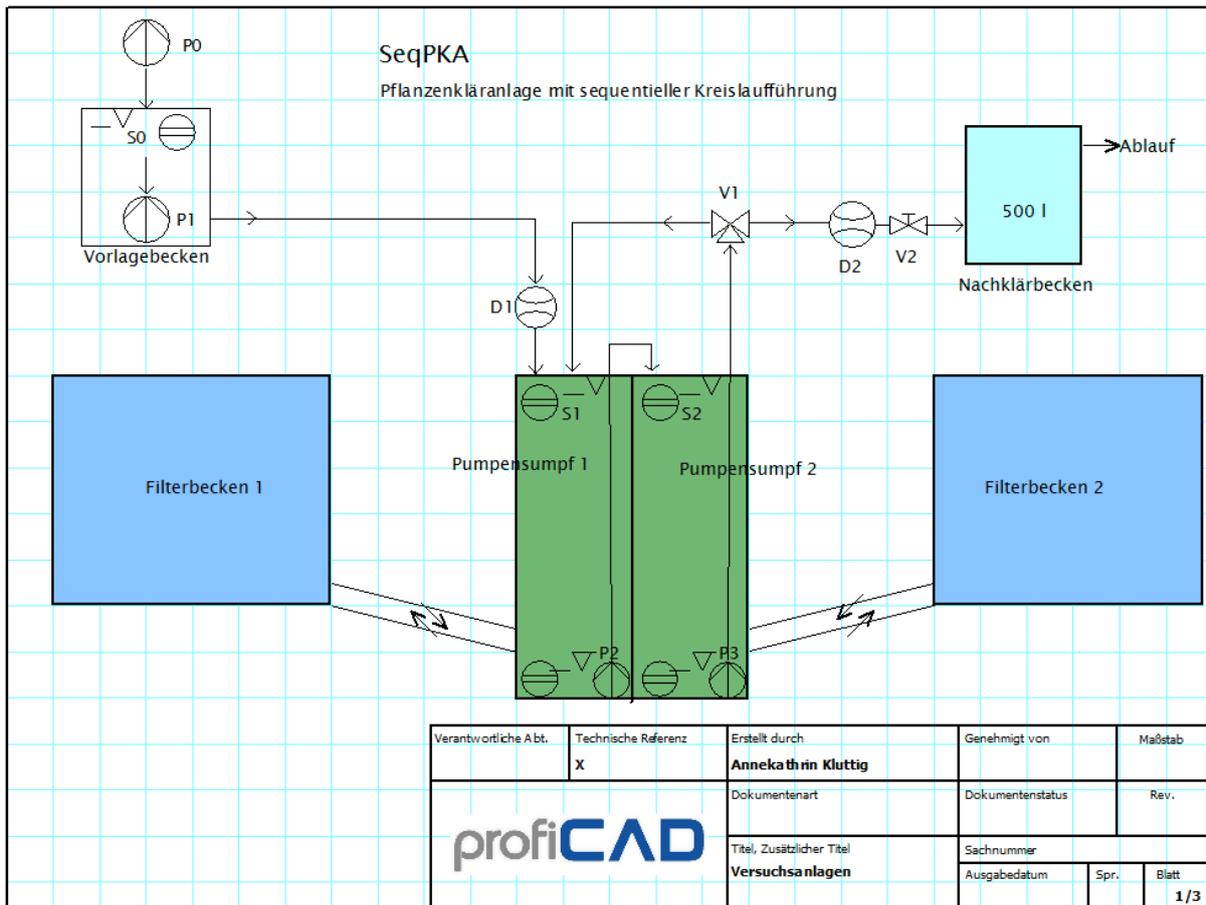


Abbildung 6: Schaltplan der Pflanzenkläranlage mit sequentieller Kreislaufführung (SeqPKA)

Tabelle 3: Kennzeichnungen im Schaltplan

P0	Tauchpumpe im Probennahmeschacht, befüllt Vorlagebehälter
P1	Zulaufpumpe, Tauchpumpe im Vorlagebecken, Steuerung durch Zeitplan und Niveaumessung S1
P2	Tauchpumpe, die Wasser von Filter 1 zu Filter 2 pumpt
P3	Tauchpumpe, die Wasser von Filter 2 zu Filter 1 pumpt ODER zur Nachklärung
D1	Durchflussmesser des Zulaufs
D2	Durchflussmesser des Ablaufs
S0	Niveaumessgerät, steuert P0
S1	Niveaumessgerät in Pumpensumpf 1, steuert P1 und P2
S2	Niveaumessgerät in Pumpenschacht 2, steuert P3
V1	Dreiwegeventil, gesteuert nach Zeitplan
V2	Rückschlagventil
NK	Nachklärbecken mit Überlauf in die Kanalisation

### Zulauf

Die zwei Beschickungspumpen für die Versuchskläranlagen werden durch jeweils eine Zeitschaltung angeschaltet und durch ein Niveaumessgerät S1 ausgeschaltet. In die Zuleitung integriert ist ein Durchflussmessgerät D1. Die Beschickung erfolgt direkt ins Filterbecken 1, Filterbecken und zugehöriger Pumpensumpf füllen sich gleichzeitig.

Die Kreislaufführung erfolgt über die jeweiligen Pumpensümpfe und wird durch eine Zeitschaltung und die in den Pumpensümpfen eingebauten Niveaumesssonden gesteuert.

### Filterbecken

Die Filterbecken 1 und 2 bestehen aus IBC-Wassertanks (B 940 (Stirnseite, Auslauf) x T 1160 x H 1160). Seitlich unten ist eine Auslaufarmatur vorinstalliert, die mit dem Pumpensumpf 1 bzw. 2 verbunden ist. Die Filterschicht besteht aus Feinkies mit Korngrößen von 2 mm bis 8 mm. In den Auslaufbereich wurden einige größere Steine eingebaut, um den Austrag von Feinkies zu verhindern. In den Kies werden Schilfpflanzen (*Phragmites australis*) eingepflanzt.

In die Filterschicht wird mittig ein Korb aus verzinktem Gitter eingebaut, der mit Holzschnitzeln befüllt ist. Der Gitterkorb hat die Maße 1 m x 1 m x 0,25 m.

Für die Filterschichten ergeben sich folgende Gesamtvolumina pro Anlage:

**Anlage A1: 1,614 m<sup>3</sup>**

**Anlage A3: 1,712 m<sup>3</sup>**

### Pumpensümpfe

Der Pumpensumpf besteht aus einem aufrecht stehenden KG2000 Rohr (Höhe 1,4 m).

### Nachklärung

Das Nachklärbecken ist eine Kunststofftonne mit einem Fassungsvermögen von 500 Litern. Der Zufluss wird 30 cm unter der Wasseroberfläche angebracht. In die Zuleitung zum Nachklärbecken ist ebenfalls ein Durchlaufmesser integriert. Das Wasser fließt aus einem Überlauf ab in den Zulauf der KKA.



Abbildung 7: Versuchs-Pflanzenkläranlagen des Projekts (Foto A. Klüttig)

## Pilanzucht

Für eine Augmentation der Anlagen wurden verschiedene Pilzarten vorkultiviert. Die Stämme stammten aus der Sammlung der Fachgruppe Mykologie des Departments Biotechnologie und Umweltsystemwissenschaften am Internationalen Hochschulinstitut Zittau, Technische Universität Dresden.

- *Agrocybe aegerita* – (Stammkulturnr. C414)
  1. Vorkultur auf 2%igem Malzextrakt-Agar bei 24°C, ca. 1,5 Wochen
  2. Flüssigkultur im Soja-Medium (30 g/l Sojabohnenmehl in Wasser; eine Agarplatte mit vorkultiviertem Pilz homogenisieren, in 200 ml H<sub>2</sub>O im 500 ml Stehkolben bei 24°C im Schüttler kultivieren), ca. 2-3 Wochen
  3. Danach in 2000 ml Kolben überführen, homogenisieren, in 1l Soja-Medium kultivieren
  
- *Coprinellus radians* – (Stammkulturnr. 106)
  1. Vorkultur wie bei *Agrocybe aegerita*
  2. Flüssigmedium: 30 g/l Sojabohnenmehl, 40 g/l Glukose, je 200 ml H<sub>2</sub>O; eine Agarplatte mit vorkultiviertem Pilz homogenisieren, in 200 ml H<sub>2</sub>O im 500 ml Stehkolben bei 24°C im Schüttler kultivieren), ca. 3 Wochen
  3. Danach ebenfalls in 2000 ml Stehkolben, gleiches Medium

Kultur auf Holzhackschnitzel:

- Gewonnene Biomasse wurde im Medium homogenisiert
- 1 m<sup>3</sup> Buche-Holzhackschnitzel wurden portionsweise bei 121°C über 4 h autoklaviert
- Holz wurde mit 400 ml homogenisierter Biomasse pro ca. 30 L Holzhackschnitzel im Autoklavierbeutel beimpft (semi-sterile Umgebung) und bei Außentemperatur 4 Monate lang inkubiert.
- Anschließend wurden die Holzhackschnitzel in die Gitterkörbe der Filter der Anlagen A1 und A2 gegeben (unsteril)

## Material und Methoden

### Untersuchte Arzneimittelwirkstoffe

Untersucht wurden die Arzneimittelstoffe Carbamazepin, Diclofenac, Gabapentin, Ibuprofen, Propranolol, Sulfamethoxazol und Metformin. Von den ursprünglich im Antrag geplanten Substanzen musste abgewichen werden auf Grund von Schwierigkeiten mit der Analytik. Oberste Priorität war hier selbstverständlich, verlässliche und belastbare Daten zu produzieren.

### Carbamazepin

Beim Carbamazepin handelt es sich um das Basistherapeutikum gegen Epilepsie (Antiepileptikum), laut Ternes (2000) wurden im Jahr 1997 80 Tonnen verbraucht. Die Tagesdosis beträgt 600 – 2400 mg. Die Ausscheidung erfolgt zu etwa 97 % in Form von Metaboliten (Reincke et al., 2003).

Engelmann et al. (2011) stufte Carbamazepin neben anderen Stoffen als gewässerrelevant ein. In Standardabbautests wurde für Carbamazepin eine biologische Abbaubarkeit <10% gefunden (LANUV, 2007)

Carbamazepin muss nach Einschätzung von Ternes et al. (1999) als ubiquitär verbreitet eingestuft werden. Der Rückhalt in Kläranlagen beruht auf Adsorption am Klärschlamm, es erfolgt kein biologischer Abbau (Ternes et al., 1999). Bedingt durch seine Persistenz gelangt Carbamazepin vor allem unterhalb von Abwasserklärungsanlagen auch ins Grundwasser (Seiler et al., 1999). Carbamazepin wurde in Oberflächengewässern und im Grundwasser mit Konzentrationen von > 1 µg/l sowie im Trinkwasser mit Konzentrationen von < 0,1 µg/l gemessen. Die in

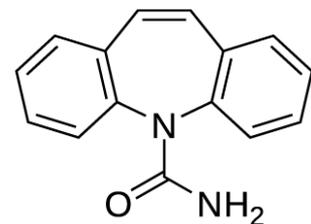


Abbildung 8: Strukturformel  
Carbamazepin

ökotoxikologischen Tests gefundene niedrigste Wirkkonzentration ist 25 µg/l, der errechnete PNEC (predicted no effect concentration) ist 2,5 µg/l. Zusammen mit der höchsten, in der Umwelt gemessenen Konzentration von 6,1 µg/l ergibt sich ein wirkungsseitiges Gefährdungspotential für die Umwelt. Die Verbrauchsmenge von Carbamazepin ist zwischen 2002 und 2009 um 25% auf 64.270 kg gesunken. (Bergmann et al., 2011)

Der Hauptmetabolit von Carbamazepin, Carbamazepin-10,11-epoxid, wies in Tierexperimenten eine ähnliche pharmakologische Wirkung auf wie die Ausgangssubstanz (Bergmann et al., 2011).

## Gabapentin

Gabapentin ist ebenfalls ein Antiepileptikum und wird zur Behandlung von Epilepsie und neuropathischen Schmerzen verschrieben.

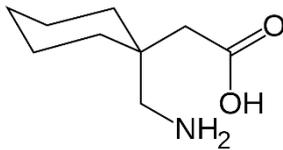


Abbildung 9: Strukturformel  
Gabapentin

Von Engelmann et al. (2011) wurde Gabapentin als nicht gewässerrelevant eingeordnet. Die Verbrauchsmenge stieg zwischen 2002 und 2009 um 237% auf 70.059 kg/a. Obwohl noch keine Daten vorliegen, aus denen sich ein Umweltrisiko ableiten ließe, kommen Bergmann et al. (2011) zu dem Schluss, dass Gabapentin auf Grund der stark steigenden Verbrauchsmenge weiter beobachtet werden sollte.

## Propranolol

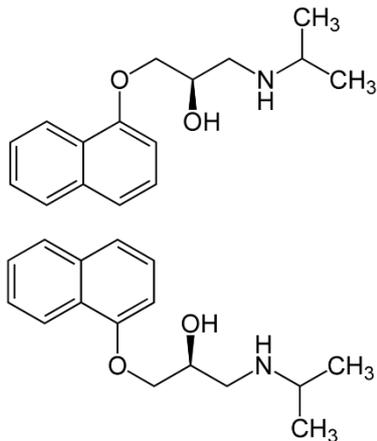


Abbildung 10: Propranolol; oben (R)-  
Propranolol, unten (S)-Propranolol, 1:1  
Stereoisomerengemisch

Propranolol ist ein Betablocker und wird unter anderem gegen Bluthochdruck und verschiedene Herzkrankheiten eingesetzt. Die Arzneimittel enthalten den Wirkstoff als Racemat, also als 1:1-Gemisch der Enantiomere (siehe Abb.), wobei das aktive Stereoisomer die (S)-Form von Propranolol ist.

Obwohl Propranolol zum großen Teil (bis zu 96%) in den kommunalen Kläranlage zurückgehalten wird, wurde es von Ternes et al. (1999) mit einem Medianwert im Bereich von 10 bis 50 ng/l in hessischen Fließgewässern gemessen und als ubiquitär verbreitet eingestuft.

Aus ökotoxikologischen Tests ergab sich die niedrigste Wirkkonzentration von 1 µg/l, woraus ein PNEC von 0,1 µg/l berechnet wurde. Zusammen mit der höchsten in der Umwelt gemessenen Propranololkonzentration von 0,59 µg/l ergibt sich ein wirkungsseitiges Gefährdungspotential für die Umwelt (Bergmann et al., 2011).

Im Oberflächengewässer wurden Propranololkonzentrationen von > 0,1 µg/l gemessen, im Grundwasser von < 0,1 µg/l (Bergmann et al., 2011).

## Sulfamethoxazol

Sulfamethoxazol ist ein Antibiotikum/Chemotherapeutikum aus der Gruppe der Sulfonamide. Es wird vor allem zur Bekämpfung von Harnwegsinfekten und Lungenentzündung eingesetzt.

Es wurde von Engelmann et al. (2011) als gewässerrelevant eingestuft, da in wenigstens der Hälfte der von ihnen untersuchten Abwasserproben Konzentrationen gemessen wurden, die die gewässerbezogenen Qualitätsnormvorschläge überschritten.

Mit der niedrigsten Wirkkonzentration von 5,9 µg/l und einem PNEC

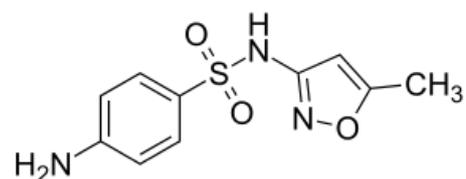


Abbildung 11: Strukturformel Sulfamethoxazol

von 0,59 µg/l und der höchsten in der Umwelt gemessenen Konzentration von 1,13 µg/l ergibt sich ein wirkungsseitiges Gefährdungspotential (Bergmann et al., 2011). Die Verbrauchsmenge im Jahr 2009 betrug 34.948 kg.

Sulfamethoxazol gehört zu den Medikamenten, die im menschlichen Organismus zu pharmakologisch inaktiven Metaboliten umgewandelt werden (LANUV NRW, 2007). In Standardabbauteests wurde für Sulfamethoxazol eine biologische Abbaubarkeit <10% gefunden (LANUV, 2007)

## Diclofenac

Diclofenac ist ein Analgetikum mit antipyretischer (fiebersenkender), antiphlogistischer (entzündungshemmender) und antirheumatischer Wirksamkeit, das mit Tagesdosen zwischen 30 mg und 200 mg verschrieben wird.

Die Jahrsverbrauchsmenge im Jahr 2009 betrug 91.583 kg und stieg zwischen 2002 und 2009 um 4% (Bergmann et al., 2011).

Diclofenac wurde in Oberflächengewässern und Grundwasser mit Konzentrationen von > 1 µg/l, im Uferfiltrat mit > 0,1 µg/l und im Trinkwasser mit < 0,1 µg/l gemessen (Bergmann et al., 2011). Aus ökotoxikologischen Tests ging die niedrigste Wirkkonzentration von 1 µg/l hervor, woraus ein PNEC von 0,1 µg/l berechnet wurde. Dies zusammen mit der höchsten, in der Umwelt gemessenen Konzentration von 3,1 µg/l ergibt ein wirkseitiges Gefährdungspotential das von Diclofenac ausgeht (Bergmann et al., 2011). Diclofenac wurde von Engelmann et al. (2011) als gewässerrelevant eingestuft, da in wenigstens der Hälfte der von ihnen untersuchten Abwasserproben Konzentrationen gemessen wurden, die die gewässerbezogenen Qualitätsnormvorschläge überschritten. In Standardabbauteests wurde für Diclofenac eine biologische Abbaubarkeit <10% gefunden (LANUV, 2007)

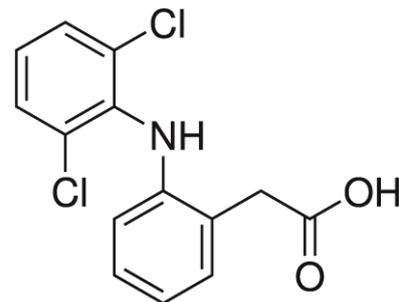


Abbildung 12: Strukturformel Diclofenac

## Ibuprofen

Ibuprofen ist ebenfalls ein Analgetikum. Es wurde von Engelmann (2011) als gewässerrelevant eingestuft.

Aus den Auswertungen der ökotoxikologischen Daten durch Bergmann et al. (2011) ergab sich kein akutes Risiko für die Umwelt. Diese Schlussfolgerung ergab sich aus dem berechneten PNEC von 60 µg/l und der zum damaligen Zeitpunkt höchsten gemessenen Konzentration in der Umwelt von 2,43 µg/l (Bergmann et al., 2011). Bedingt durch die hohen Verbrauchsmengen – im Jahr 2009 782.378 kg – wird dem Stoff jedoch eine mittlere Umweltpriorität zugeordnet.

Ibuprofen wurde in Oberflächengewässern mit Konzentrationen von > 1 µg/l gemessen, in Grundwasserproben und Uferfiltraten von > 0,1 µg/l und im Trinkwasser mit Konzentrationen von < 0,1 µg/l (Bergmann et al., 2011).

Ibuprofen gehört zu den Medikamenten, die im menschlichen Organismus zu pharmakologisch inaktiven Metaboliten umgewandelt werden (LANUV NRW, 2007).

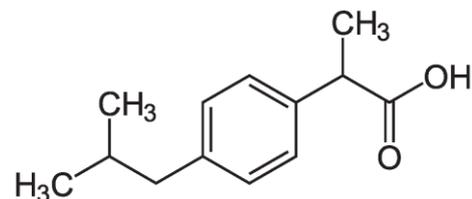


Abbildung 13: Strukturformel Ibuprofen

## Metformin

Metformin ist ein Antidiabetikum für die Behandlung von Typ 2 Diabetes mellitus, üblich Tagesdosen sind 0,5 g bis 2,5 g.

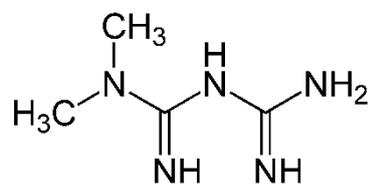


Abbildung 14: Strukturformel Metformin

Vom Landesumweltamt Brandenburg wurde in einer ersten Studie für 58 Arzneimittelwirkstoffe eine Abschätzung des Umweltrisikos für aquatische Ökosysteme auf der Grundlage des EMEA-Leitfadens durchgeführt. Dabei wurde unter anderem für Metformin ein Umweltrisiko festgestellt. (Hanisch et al., 2002)

Metformin stellt aufgrund des hohen Verbrauchs und der unveränderten Ausscheidung durch den Menschen ein Umweltrisiko dar (ARGE Elbe, 2003)

Bei Bergmann et al. (2011) wird die niedrigste Wirkkonzentration für Metformin mit 60 mg/l angegeben und ein PNEC von 60 µg/l. Metformin wird vom Menschen unverändert wieder ausgeschieden und weist im Standardabbautest eine Abbaubarkeit von <10% auf (LANUV-Fachbericht, 2007)

## Probenahme und –vorbereitung

Die Wasserproben wurden in 250 ml Schottflaschen dem Vorlagebecken (Zulauf für Versuchsanlagen) sowie den Nachklärbecken der Versuchsanlagen entnommen. Die Bezeichnung der Proben folgte der der Anlagen:

- A1 SeqPKA beimpft mit Pilzkultur
- A2 KonPKA beimpft mit Pilzkultur
- A3 SeqPKA nicht beimpft
- A4 KonPKA nicht beimpft

Bei der Probenahme erfolgte die Messung von pH, O<sub>2</sub>-Gehalt, Leitfähigkeit und Temperatur mit Feldmessgeräten von WTW. Die Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei +4° C gelagert.

## **Probenvorbereitung**

100 ml wurden zur Vorreinigung mit EDTA-Diammoniumsalz (c = 0,8 mg/l) versetzt, 5 min geschüttelt und anschließend 5 min mit 6000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde durch Glasfaserfilter (< 0,7 µm) filtriert.

Vom Filtrat wurden 2,5 ml mit 10%iger Ameisensäure auf pH 3,5 angesäuert und mit internen Standards (deuterierte Formen der Analyten) (0,1 µg/l) versetzt. Anschließend mittels SPE-Säule Waters Oasis HLB 30 mg/1 ml extrahiert. Die SPE-Säule wurde wie folgt konditioniert: 1. 1 ml Methanol / H<sub>2</sub>O / konz. Ameisensäure [90/9/1]; 2. 1 ml H<sub>2</sub>O; 1 ml 10 mmol/l EDTA-Diammoniumsalz. Anschließend wurde die Säule mit 2,5 ml angesäuerter Probe beladen und danach mit 1 ml H<sub>2</sub>O gewaschen und getrocknet. Die Elution erfolgte mit 0,5 ml Methanol / H<sub>2</sub>O / konz. Ameisensäure [90/9/1]. Das Eluat wurde vollständig eingedampft, das Gefäß verschlossen und zur Analyse ins Institut für klinische Pharmakologie der Technischen Universität geschickt.

Externe Standards wurden hergestellt in den Konzentrationen 100\* µg/l, 10 µg/l, 5 µg/l, 1 µg/l, 100 ng/l und 50 ng/l (\*nur für Gabapentin, Diclofenac und Ibuprofen). Die externen Standards durchliefen die gleiche Probenvorbereitung wie die Abwasserproben.

## **Ergosterolbestimmung**

Ergosterol ist ein typisches Mycosterin und erfüllt in pilzlichen Zellmembranen ähnliche Aufgaben wie Cholesterin bei Tieren. Beispielsweise ist es die Vorstufe von Vitamin D<sub>2</sub> zu dem es photochemisch umgewandelt wird. In Umweltproben dient der Gehalt an Ergosterol als Leitwert für die Besiedlung mit aktivem Pilzmycel.

Für die Ergosterolbestimmung wurden im März und im September Proben aus den Holzschichten der Versuchsanlagen entnommen und im Labor tiefgefroren. Die anschließende Trocknung erfolgte durch Lyophilisation. Danach wurden die Proben in einer Scheibenschwingmühle (Retsch R51) gemahlen. Die gemahlene Probe wurde durch alkalische Verseifung aufgeschlossen. Dazu wurde ein Gemisch von Methanol/Ethanol (3:1) mit KOH versetzt und anschließend 2 bis 5 g der Probe zugegeben. Die Probe wurde 30 min lang unter Rückfluss gekocht. Die Reaktionsgemische wurden dann durch einen Zellulosefilter filtriert. Ein 20 ml Teil der Lösung wurde abgemessen und drei Mal mit je 10 ml Cyclohexan extrahiert.

Das Extrakt wurde im TurboVap unter Stickstoffatmosphäre auf 1 ml eingeeengt, mit 5 ml Acetonitril extrahiert (Lösemittelwechsel) und erneut auf 1ml eingeeengt.

Analytik

## **Arzneimittel**

In Dresden wurden die getrockneten Extrakte gelöst in 250 µl eines 1:1-Gemisches aus den Lösungen A und B.

Lösung A: Mischung aus Acetonitril / 2 mM Ammoniumacetat / Ameisensäure im Volumenverhältnis 3/97/0,05;

Lösung B: Mischung aus Acetonitril / 2 mM Ammoniumacetat / Ameisensäure im Volumenverhältnis 95/5/0,05.

Anschließend erfolgt die Analyse in einer LC-MS/MS (HILIC), wobei die chromatographische Trennung der Analyten mit der Trennsäule Synergi Hydro RP 4 µm von Phenomenex durchgeführt wurde. Die mobilen Phasen A und B wurden dabei mit dem folgenden Gradienten gefahren:

*Tabelle 4: Gradient der mobilen Phasen*

t [min]	V% A	V% B
0 – 0,2	100	0
0,2 – 4,2	0	100
4,2 – 5,6	0	100
5,6 – 5,8	100	0
5,8 – 8,5	100	0

Die Detektion und Quantifizierung der Analyten erfolgte mit dem API 4000 Tandem Massenspektrometer von ABSciex mit einem Elektrosprayinterface in positive mode (ESI+).

### Ergosterol

Die Analyse des Ergosterols erfolgte in einer LC von Agilent, die chromatographische Trennung mit der Säule Lichrosphere von Phenomenex.

### Variation der Prozessführung

*Tabelle 5: Getestete Sequenzen für die SeqPKA*

Prozess	Zeitraum	Beschickungsvolumen [l/d] und l/Sequenz		Zyklen	Aufenthaltszeit einzeln	Gesamtaufenthaltszeit [h]
1	26. April – 08. Juni	350	350	2	2 x 6 h	24
2	09. Juni – 29. Juni	350	350	4	8 x 3h	24
3	30. Juni – 22. Juli	175	350	8	16 x 3h	48
4	22. Juli – 12. August	700	350	2	4 x 3h	12

Die konPKA wurden zweimal pro Tag mit je 80 Litern beschickt.

# Ergebnisse und Diskussion

## Konzentrationen und Rückhalt der Arzneimittelwirkstoffe

### Carbamazepin

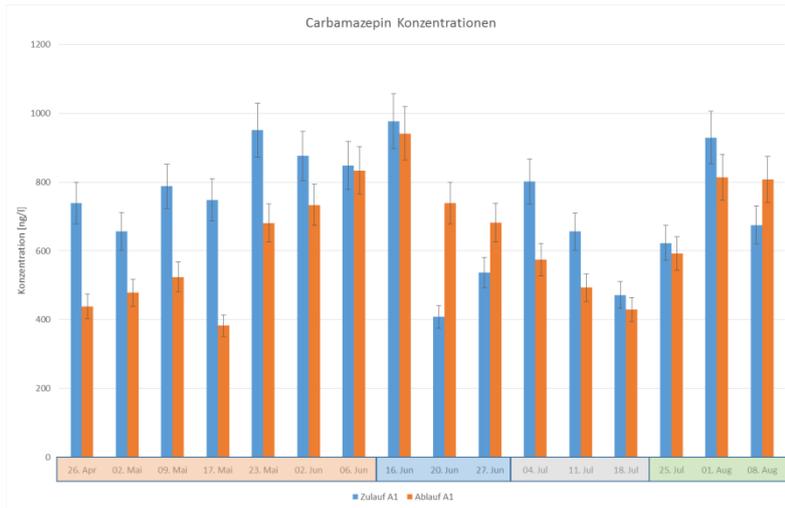


Abbildung 15: Carbamazepinkonzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A1

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Beispielhaft sind in Abbildung 15 die Konzentrationen von Carbamazepin in Anlage A1 gezeigt. Die Zulaufkonzentrationen waren für alle vier Versuchsanlagen gleich. Auf der Abszisse sind die Probenahmedaten verzeichnet, die farblichen Unterteilungen kennzeichnen die vier Prozessführungen, die getestet wurden. Die Details zu den getesteten Prozessführungen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Die Carbamazepin-Konzentrationen im Zulauf unterlagen relativ starken Schwankungen, der niedrigste gemessene Wert war 408 ng/l, der höchste 977 ng/l.

Abbildung 16 zeigt die Differenzen zwischen den Zu- und Ablaufkonzentrationen des Carbamazepins zusammen mit den Vertrauensbereichen der Messwerte für alle Versuchsanlagen. (Negative Werte bedeuten einen Anstieg der Stoffkonzentration im Ablauf. Die gilt für alle Diagramme zum Rückhalt der Wirkstoffe.)

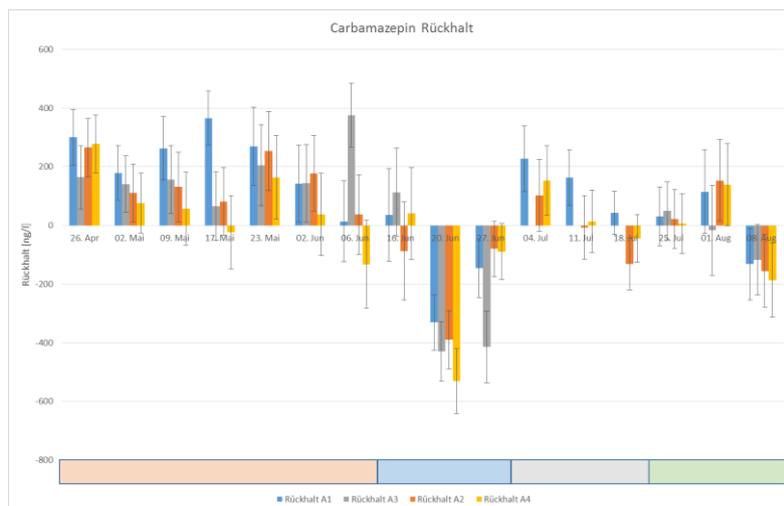


Abbildung 16: Rückhalt von Carbamazepin in ng/l in den Versuchsanlagen

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Bis zum 02. Juni erfolgte in den SeqPKA ein Rückhalt von Carbamazepin, mit Ausnahme des 17. Mai, an dem in Anlage A3 ein so geringer Rückhalt errechnet wurde, dass der Vertrauensbereich in negative Werte geht. Für die

KonPKA, speziell für Anlage A4, geschah dies am 02., 09. und 17. Mai. Die Wechsel von Elimination aus bzw. Eintrag von Carbamazepin in das Wasser, die die Graphik ab dem 6. Juni zeigt, legen physikalische Wechselwirkungen als Rückhalte­mechanismus nahe. Ein Abbau erfolgte nicht bzw. nur in geringem Maß. Auf Grund der unterschiedlichen Beschickungsvolumen und Filtervolumen ist es sinnvoll, die spezifischen Leistungen der Anlagen zu betrachten. Dies erfolgt im nächsten Abschnitt.

## Gabapentin

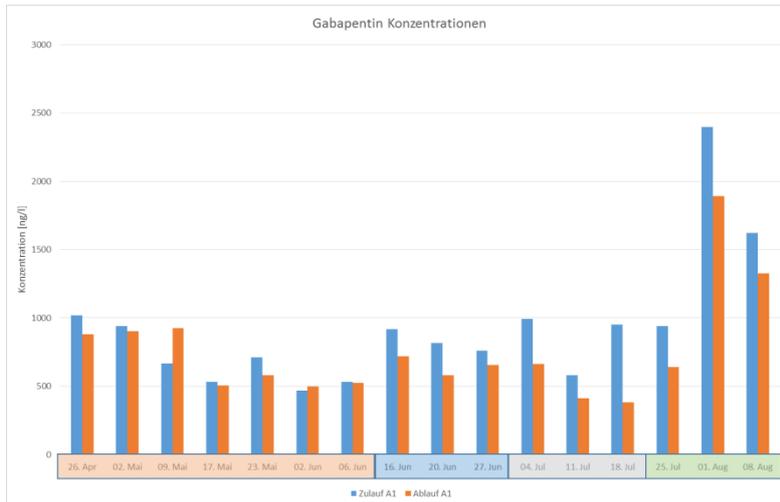


Abbildung 17: Gabapentin-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der Anlage A1

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Die Gabapentin-Konzentrationen im Zulauf der Versuchsanlagen unterlagen relativ starken Schwankungen, der niedrigste Wert war 467 ng/l, der höchste 2397 ng/l.

In Abbildung 18 sind die Differenzen zwischen Zu- und Ablaufkonzentrationen des Gabapentins graphisch dargestellt. Die Wechsel zwischen Rückhalt und Freisetzung von Gabapentin sind deutliche Zeichen dafür, dass das Verhalten von Gabapentin hauptsächlich von physikalischen bzw. physikalisch-chemischen Prozessen bestimmt wird und dass Gabapentin nicht bzw. kaum biologisch abgebaut wird.

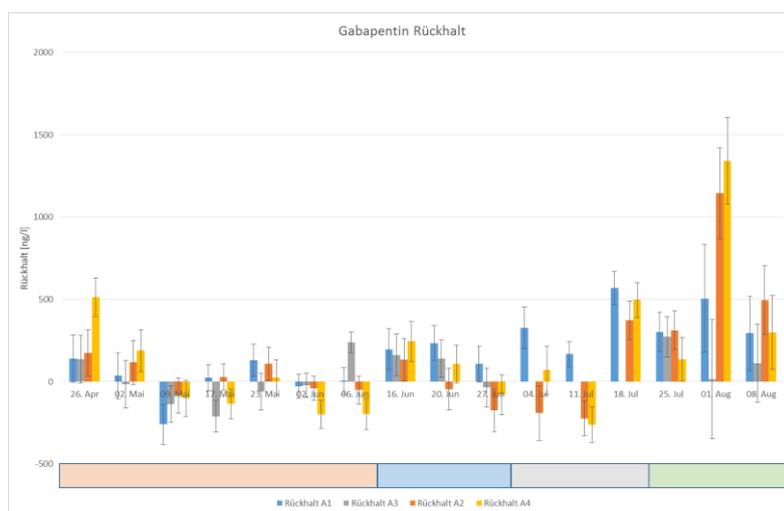


Abbildung 18: Gabapentin-Rückhalt in ng/l in den Versuchsanlagen

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Propranolol

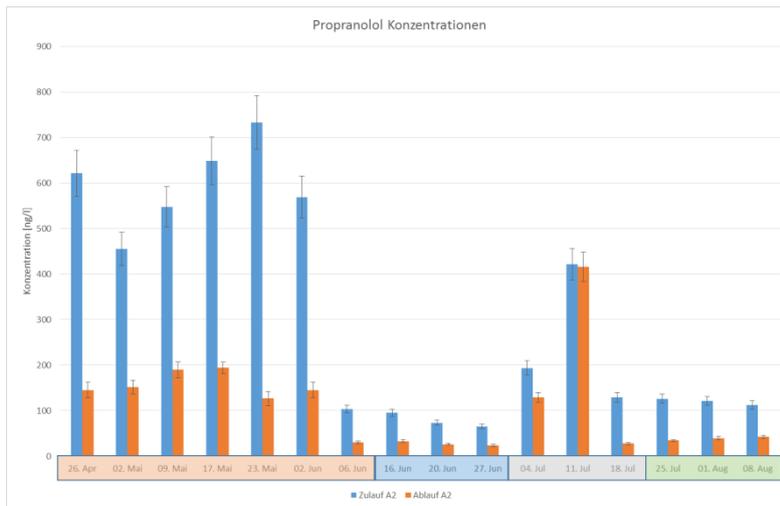


Abbildung 19: Propranololkonzentrationen in Zu- und Ablauf von Anlage A2

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

In Abbildung 19 sind die Propranolol-Konzentrationen in Zu- und Ablauf von Anlage A2 graphisch dargestellt. Der niedrigste Messwert im Zulauf betrug 65 ng/l, der höchste 732 ng/l.

Wie in Abbildung 20 ersichtlich, erfolgte ein Rückhalt von Propranolol sehr zuverlässig, außer an den Probenahmetagen 11. Juli und 8. August. Weitere Betrachtungen dazu erfolgen im nächsten Abschnitt, indem auf die Leistungen der Anlage eingegangen wird.

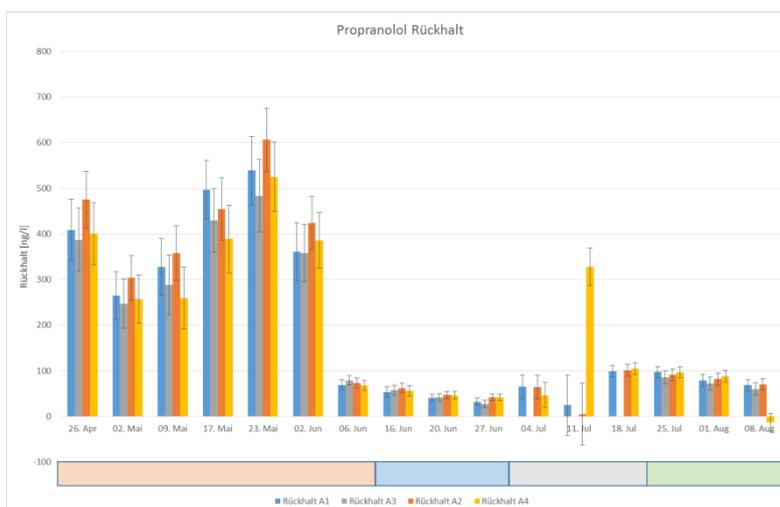


Abbildung 20: Rückhalt von Propranolol in ng/l in den Versuchsanlagen

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Sulfamethoxazol

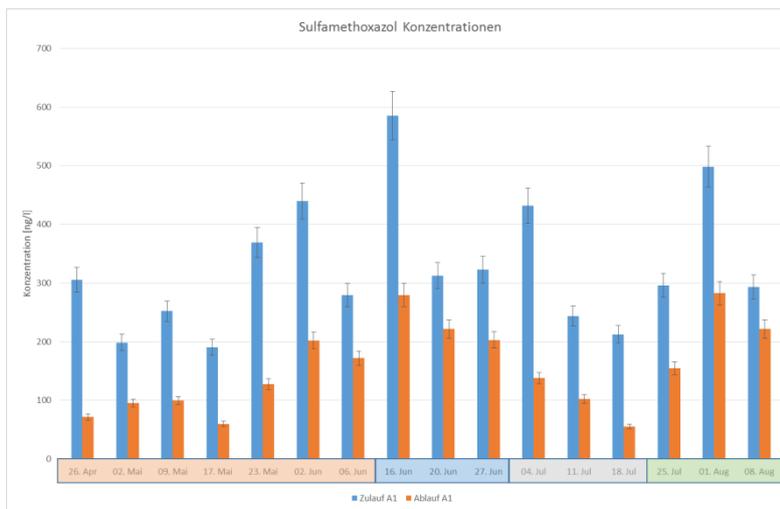


Abbildung 21: Sulfamethoxazol-Konzentrationen in Zu- und Ablauf von Anlage A1

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Auch die Zulaufkonzentrationen von Sulfamethoxazol unterlagen starken Schwankungen. Der niedrigste Messwert betrug 191 ng/l, der höchste 585 ng/l. Wie Abbildung 21 zeigt, wurde Sulfamethoxazol in Anlage A1 immer zurückgehalten. Betrachtet man Abbildung 22, in der die Rückhalte dargestellt sind, traf dies nicht auf alle Anlagen zu. Sulfamethoxazol wurde in den SeqPKA zuverlässig zurückgehalten, während aus den KonPKA auch mehrmals Freisetzungen erfolgten. Weitere Betrachtungen dazu im nächsten Abschnitt.

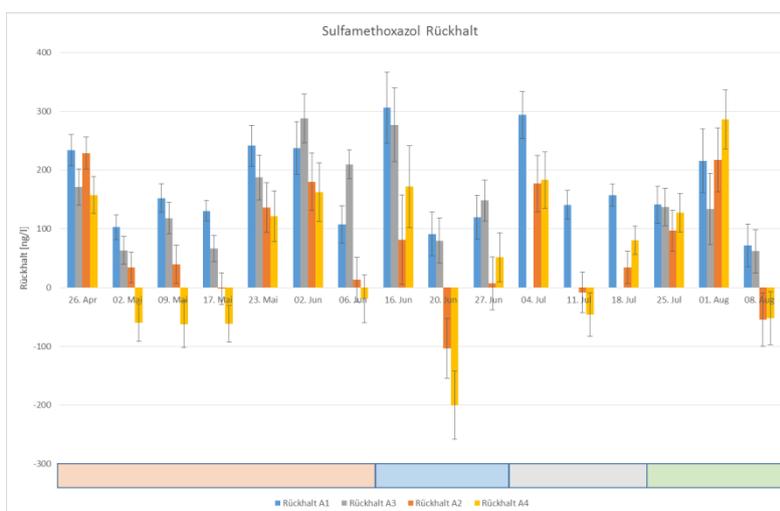


Abbildung 22: Rückhalt von Sulfamethoxazol in ng/l in den Versuchsanlagen

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Diclofenac

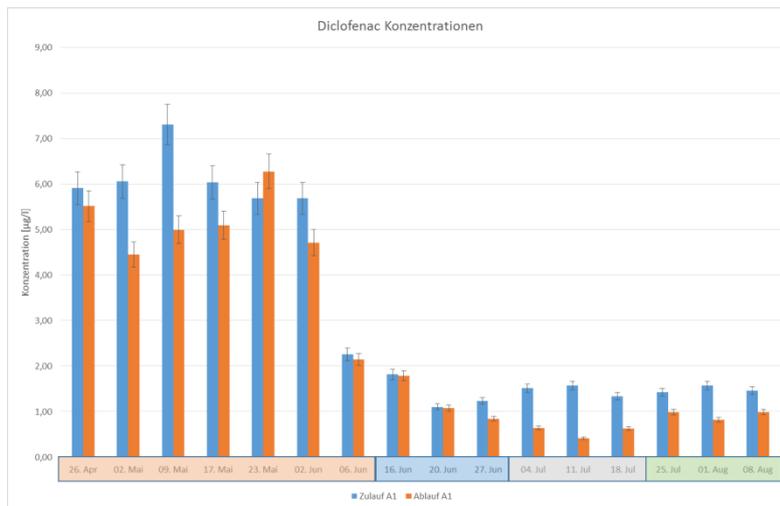


Abbildung 23: Diclofenac-Konzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A1

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Die Diclofenac-Konzentrationen im Zulauf der Versuchsanlagen sowie im Ablauf von Anlage A3 ist in Abbildung 23 dargestellt. Die niedrigste Konzentration betrug 1,1 µg/l, die höchste 7,3 µg/l. Abbildung 24 zeigt, dass der Rückhalt von Diclofenac nicht zuverlässig erfolgt. An mehreren Probenahmetagen wurde Diclofenac freigesetzt. Eine genauere Betrachtung erfolgt im nächsten Abschnitt.

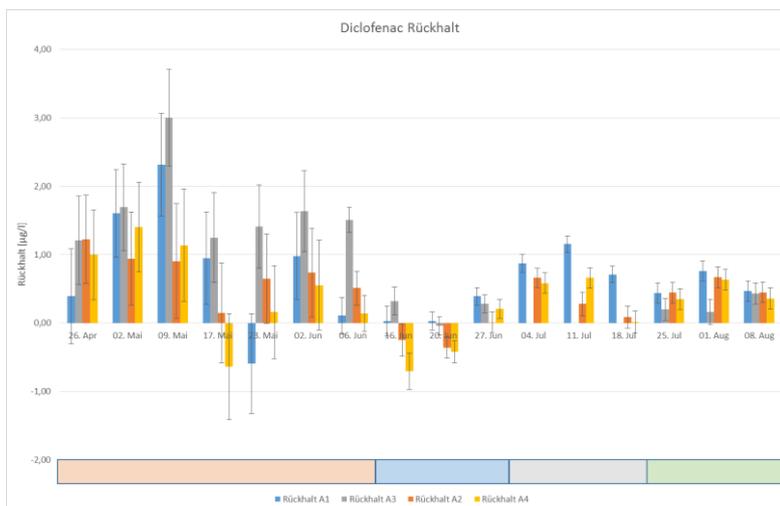


Abbildung 24: Rückhalt von Diclofenac in µg/l

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Ibuprofen

Die Analysen ergaben für Ibuprofen bei allen Messungen Werte unter der Nachweisgrenze der Messmethode.

## Metformin

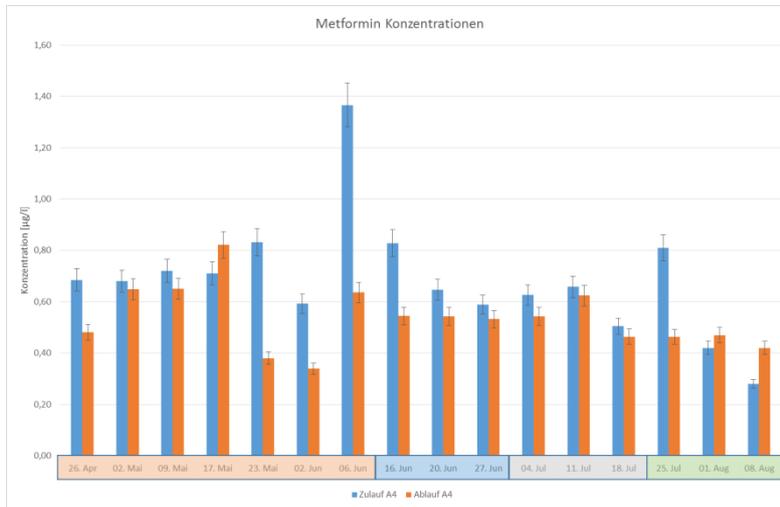


Abbildung 25: Metformin-Konzentrationen in Zu- und Ablauf der Anlage A4

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Die niedrigste Metformin-Konzentration betrug 0,28 µg/l, die höchste 1,37 µg/l. Wie in Abbildung 26 ersichtlich, erfolgten immer wieder Freisetzungen von Metformin aus den Versuchsanlagen, ein deutlicher Hinweis darauf, dass das Verhalten auch geprägt ist von reversiblen physikalischen und/oder chemisch-physikalischen Prozessen. Detaillierte Betrachtungen erfolgen auch für Metformin im nächsten Abschnitt.

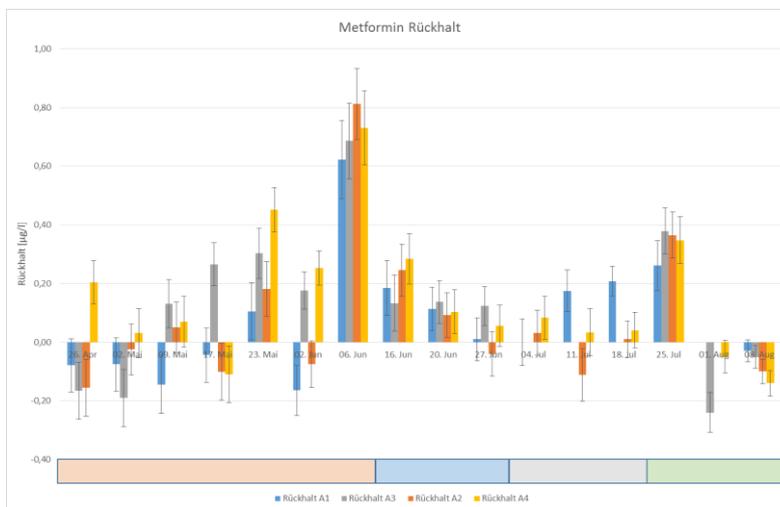


Abbildung 26: Rückhalt von Metformin in µg/l in den Versuchsanlagen

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Eliminationsleistungen der Anlagen

Die Eliminationsleistungen sind als Abnahme der Fracht pro Tag und Kubikmeter Filtervolumen berechnet. Auf Grund der verschiedenen Beschickungsvolumina sowie der verschiedenen Filtervolumen sind die Werte der Abbauleistungen aussagekräftiger als die Konzentrationen. Die Anlagen gleicher Technologie wurden der Übersichtlichkeit wegen nebeneinander dargestellt.

### Carbamazepin

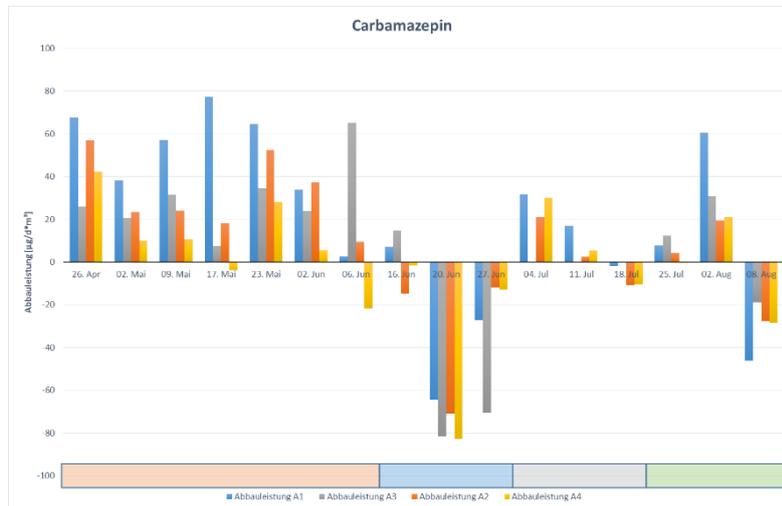


Abbildung 27: Abbauleistungen hinsichtlich Carbamazepin

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Bis zum 02. Juni wurde, mit Ausnahme Anlage A4 am 17. Mai, Carbamazepin in den Versuchsanlagen zurückgehalten. Danach wechselten Rückhalt und Freisetzung ohne ersichtliches Muster. Eine Korrelation der Abbauleistungen mit Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, CSB- oder Stickstoffkonzentration konnte nicht festgestellt werden.

Aus Abbildung 27 wird ersichtlich, dass die mit Pilzen beimpften Anlagen A1 und A2 bessere Abbauleistungen hinsichtlich Carbamazepin zeigten als die unimpften Anlagen jeweils gleicher Technologie. Anlage A1 erreichte eine durchschnittliche Abbauleistung von  $56 \mu\text{g/d}\cdot\text{m}^3$  im Zeitraum 26. April bis 02. Juni, hingegen Anlage A3 nur eine von  $24 \mu\text{g/d}\cdot\text{m}^3$ . In Anlage A2 wurde für den gleichen Zeitraum eine Leistung von  $35 \mu\text{g/d}\cdot\text{m}^3$  erreicht, in Anlage A4 eine von  $16 \mu\text{g/d}\cdot\text{m}^3$ .

Weißfäulepilze sind neben den Vertebraten die bisher einzig bekannten Organismen, die Carbamazepin metabolisieren können (Zhang und Geißen, 2012). Die Anlagen A1 und A2 wurden im März mit den beimpften Holzhackschnitzeln bestückt. Die höheren Abbauleistungen in den beimpften Anlagen lassen die Schlussfolgerung zu, dass bis zum 02. Juni die Pilze zur Elimination von Carbamazepin durch biologischen Abbau beitrugen. Die eingesetzten Pilze, *Agrocybe aegerita* und *Coprinellus radians* konnten möglicherweise die feuchte/nasse Umgebung nicht dauerhaft tolerieren, wurden durch andere Organismen verdrängt oder sie konnten auf Grund des Nährstoffmangels ihren Stoffwechsel nicht aufrechterhalten. Zhang und Geißen (2012) unternahmen Abbauprobieren mit *Phanerochaete chrysosporium* mit Ablaufwasser einer kommunalen Kläranlage (niedrige Nährstoffkonzentrationen und hohe mikrobielle Kontamination), die im Laufe der Zeit ebenfalls in einer Senkung des Carbamazepin-Abbaus resultierten. Nach einer Nährstoffzugabe von Glukose (2g/l) und Ammoniumtartrat (40 mg/l) als leicht verfügbare C- und N-Quelle stellten Zhang und Geißen (2012) eine Erhöhung des Carbamazepin-Abbaus in ihrer Versuchsanlage fest.

Ein biologischer Abbau von Carbamazepin ist in Abwasserkläranlagen nur durch Weißfäulepilze zu erreichen. Aus den vorliegenden Ergebnissen ergeben sich folgende Fragestellungen für weitere Arbeiten:

- Können gezielte Nährstoffgaben den Carbamazepinabbau unterstützen? Wenn ja, in welchen Konzentrationen?

- Sind andere Pilzarten besser geeignet, in den spezifischen Bedingungen zu gedeihen? Unseres Wissens war das vorliegende Projekt, das erste, das den Einsatz von Weißfäulepilzen kontinuierlich unter realen, unsterilen Bedingungen getestet hat. In Versuchen anderer Arbeitsgruppen kamen zum Beispiel der schon genannte *Phanerochaete chrysosporium* (Zhang und Geißen, 2012), *Trametes versicolor* (Cruz-Morató et al., 2013a und Rodríguez-Rodríguez, 2011) zum Einsatz.

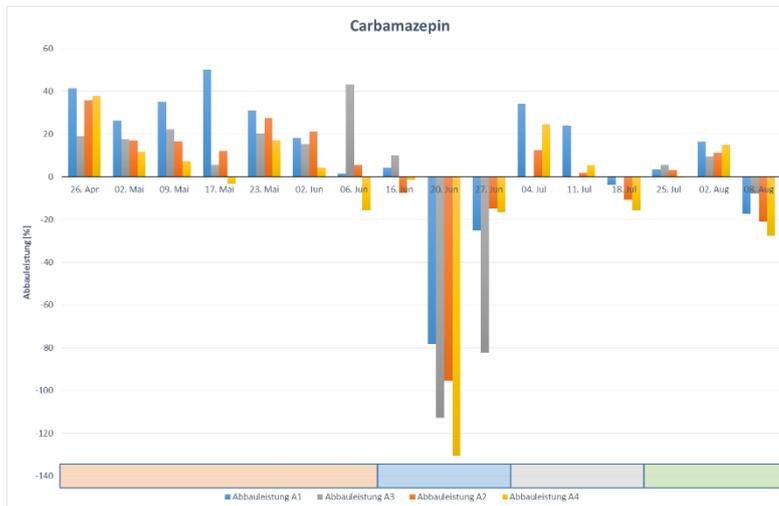


Abbildung 28: Relative Abbauleistung für Carbamazepin [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

In Abbildung 28 sind die prozentualen Abbauleistungen der Versuchsanlagen für Carbamazepin dargestellt. Die durchschnittlich erreichten Abbauleistungen für jede Testphase sind in Tabelle 6 aufgeführt. Die höchsten Eliminationsgrade wurden in der ersten Testphase erreicht. Dabei lagen die SeqPKA vor den KonPKA und die beimpften Anlagen vor den unbeimpften der gleichen Technologie. In A1 lag der höchste Eliminationsgrad in dieser Phase bei 50%, in A3 bei 43%. Der höchste Eliminationsgrad in A2 betrug 36% und in A4 wurden 38% erreicht. In der zweiten Testphase erfolgten aus allen Anlagen hohe Freisetzungen von Carbamazepin, in der dritten und vierten Phase hielten sich Rückhalte und Freisetzungen in etwa die Waage.

Tabelle 6: Durchschnittliche Abbauleistungen für Carbamazepin [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	29	19	20	8
2	-33	-39	-62	-49
3	18	1	-	5
4	1	-2	2	-4
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	10	1	-3	-5

Der Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Testphase besteht in einer besseren Belüftung bei gleicher Gesamtaufenthaltszeit in den SeqPKA; bei den KonPKA wurde die Prozessführung nicht geändert. Plausible Erklärungen für die Änderungen beim Rückhalt bzw. die Freisetzung von Carbamazepin wären ein Wechsel in der Biozönose bzw. die Autolyse der angesiedelten Pilze. Wie bereits geschrieben, konnte eine Korrelation der Eliminationsleistungen mit Temperatur, pH-Wert oder Sauerstoff-, CSB- bzw. Stickstoffgehalt nicht festgestellt werden.

Die in Phase 1 erreichten Eliminationsraten sind sehr vielversprechend, es sollten weitere Tests durchgeführt werden, um die Bedingungen für eine dauerhafte Ansiedlung Carbamazepin abbauender Weißfäulepilze zu optimieren.

## Gabapentin

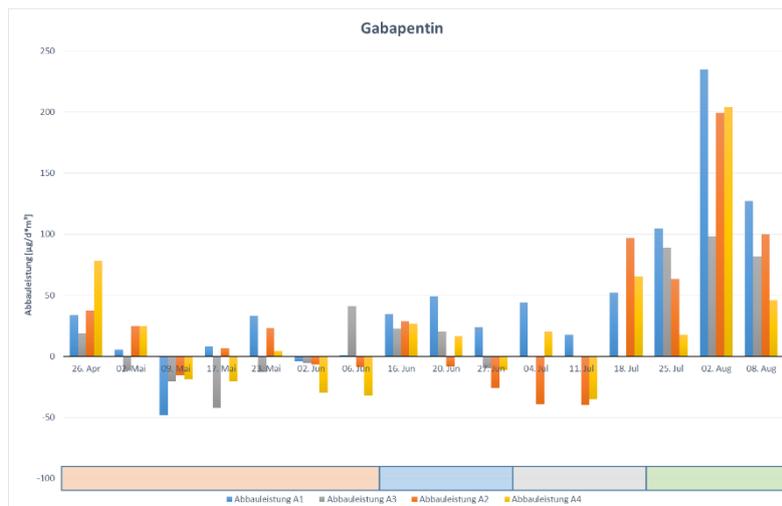


Abbildung 29: Abbauleistungen für Gabapentin

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Ein gänzlich anderes Bild als beim Carbamazepin zeigen die Abbauleistungen der Versuchsanlagen hinsichtlich des Gabapentin (Abbildung 29). Für die KonPKA zeigt die Graphik bis zum 11. Juli das typische Bild für eine Substanz, die nicht oder kaum biologisch abgebaut wird. Rückhalt und Freisetzung in/aus den Versuchsanlagen wechseln nach keinem ersichtlichen Muster, eine Korrelation zu Temperatur, pH-Werten oder Sauerstoffgehalt konnte nicht festgestellt werden. Ab dem 18. Juli stellt sich bei den KonPKA ein dauerhafter Rückhalt des Gabapentin ein. Dabei wurden Abbauleistungen von 97  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  bis 199  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  in A2 und Leistungen von 18  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  bis 204  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  in A4 erreicht. Die prozentualen Abbauleistungen (siehe Abbildung 30) beliefen sich auf 32 bis 47 % in Anlage A2 und auf 13 bis 56 % in Anlage A4 für diesen Zeitraum.

Bei den SeqPKA stellt sich in Anlage A1 ein dauerhafter Rückhalt ab 6. Juni ein. Dabei wurden in Testphase 2 Eliminationsraten von 36  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  erreicht. In Phase 3 stieg dieser Wert geringfügig auf 38  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ , wohingegen in Phase 4 eine Steigerung auf 156  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  erfolgte. In Anlage A3 trat auch in Phase 2 eine Freisetzung von Gabapentin auf, sodass man nicht von dauerhaftem Rückhalt sprechen kann. Für Phase 3 liegen keine Daten vor (Ausfall der Anlage). In Phase 4 wurde ein durchschnittlicher Rückhalt von 90  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  erreicht.

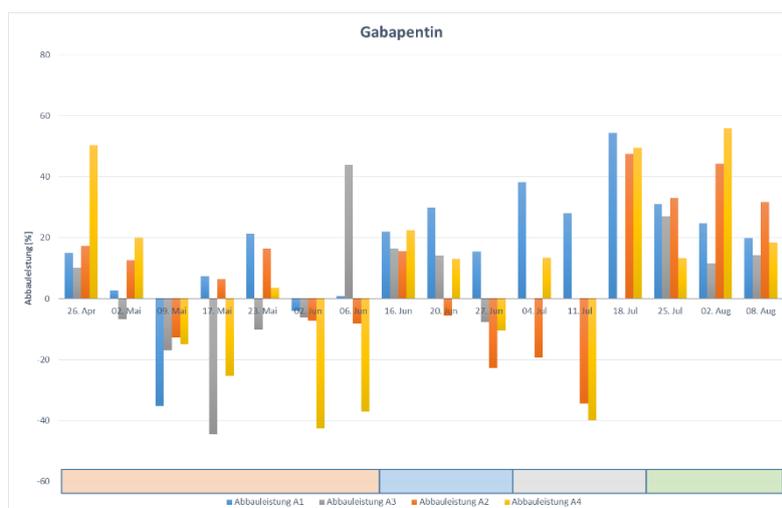


Abbildung 30: Relative Abbauleistungen für Gabapentin [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Die Werte für die prozentualen Abbauleistungen (siehe Abbildung 30 und Tabelle 7) relativieren das Bild: Die lange Gesamtaufenthaltszeit von 48h zusammen mit den Filterwechseln nach jeweils 3h steigerten die Abbauleistung in Anlage A1 von durchschnittlich 22% in Phase 2 auf 40% in Phase 3. In Phase 4 sank die Abbauleistung auf 25%, die kurze Aufenthaltszeit von insgesamt 12 h wirkte sich offenbar negativ auf die Leistung der Anlage hinsichtlich des Gabapentin-Rückhaltes aus.

Da in den KonPKA in Phase 4 die höchsten Abbauleistungen erreicht wurden, ohne dass hier die Prozessführung geändert wurde, haben die Steigerungen beim Gabapentin-Rückhalt nicht allein mit Aufenthaltszeit und Sauerstoffversorgung zu tun. Die höheren Abbauleistungen deuten auf eine Änderung in den Biozönosen der Anlagen hin, die einen Abbau des Gabapentins begünstigte.

Tabelle 7: Durchschnittliche Abbauleistungen für Gabapentin [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	1	3	-4	-7
2	22	-4	8	8
3	40	-2	-	8
4	25	36	18	29
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	17	7	3	6

## Propranolol

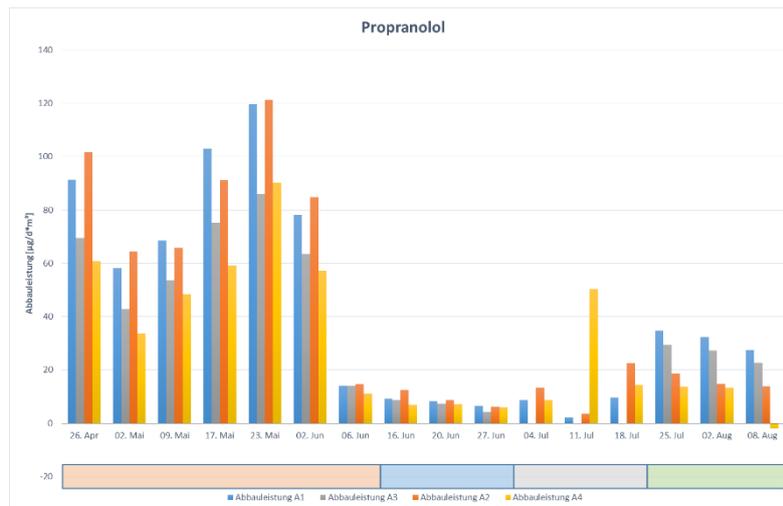


Abbildung 31: Abbauleistungen für Propranolol

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Propranolol wurde in allen Versuchsanlagen zuverlässig zurückgehalten. Da es sich um eine relativ leicht abbaubare Substanz handelt, kann man von biologischen Abbau ausgehen. Im Zeitraum 26. April bis 2. Juni zeigt sich ein sehr ähnliches Bild wie beim Carbamazepin. Die mit Pilzen beimpften Anlagen A1 und A2 zeigen bessere Abbauleistungen als die unbeimpften gleicher Technologie A3 bzw. A4. Für den genannten Zeitraum wurde in Anlage A1 eine durchschnittliche Abbauleistung von 86  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  erreicht, in Anlage A3 nur 65  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ . In Anlage A2 betrug die durchschnittliche Abbauleistung für besagten Zeitraum 88  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ , hingegen für A4 nur 58  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ . Nach dem 2. Juni ist der Unterschied zwischen den Anlagen mit Bioaugmentation und denen ohne nicht mehr eindeutig. Dies wäre wiederum ein Hinweis dafür, dass die angesiedelten Pilze zwar zum Abbau beitragen, jedoch unter den herrschenden Bedingungen nicht dauerhaft gedeihen bzw. Stoffwechsel betreiben konnten.

Hinsichtlich des Propranolols erreichten die Versuchsanlagen durchschnittliche Abbauleistungen zwischen 59 und 64 % (siehe Tabelle 8), der kurze Abfall in den Leistungen während Phase 3 ist mit den vorhandenen Daten

nicht zu erklären. Die Prozessführung konnte nicht der Grund sein, denn am 18. Juli werden die gewohnten Abbauwerte erreicht.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den getesteten Technologien festgestellt. Die unterschiedlichen Prozessführungen in den SeqPKA führten nicht zu unterschiedlichen Abbauleistungen für Propranolol.

Tabelle 8: Durchschnittliche Abbauleistungen für Propranolol [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	67	73	62	62
2	54	65	52	61
3	39	40	-	63
4	69	67	63	46
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	<b>60</b>	<b>64</b>	<b>60</b>	<b>59</b>

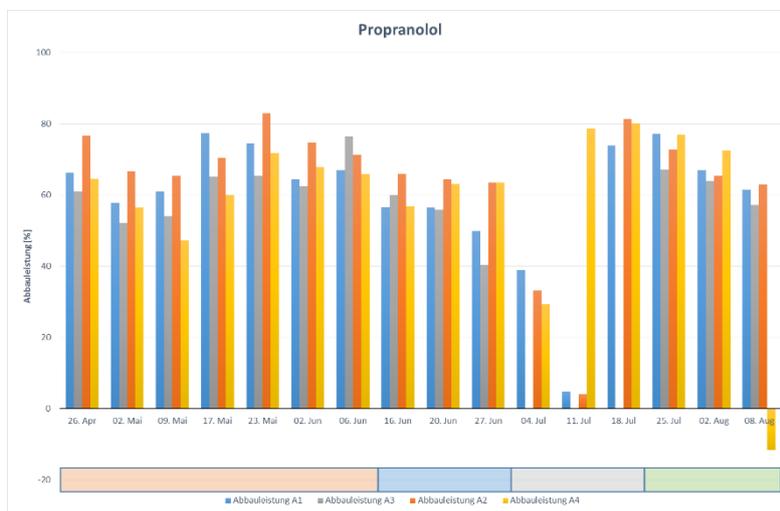


Abbildung 32: Relative Abbauleistungen für Propranolol [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Sulfamethoxazol

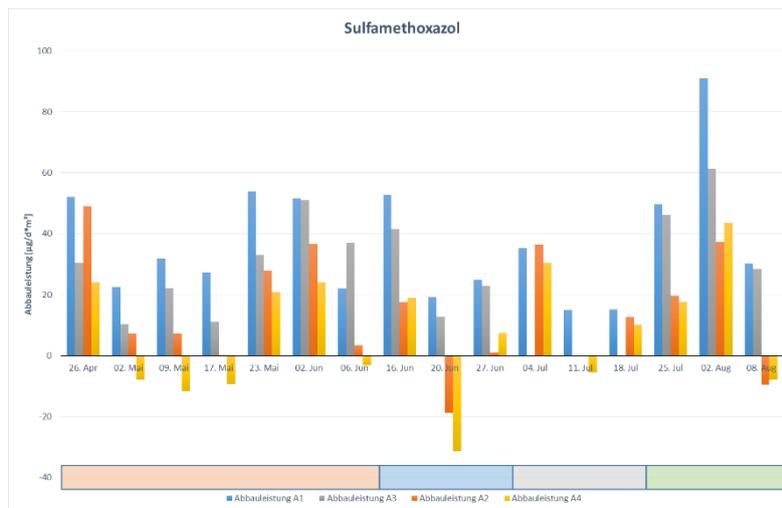


Abbildung 33: Abbauleistungen für Sulfamethoxazol

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA      A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Die Abbauleistungen hinsichtlich des Sulfamethoxazol (siehe Abbildung 33) zeigen, dass ein Rückhalt zuverlässig nur in den PKA mit sequentieller Kreislaufführung erfolgte, wohingegen aus den konventionellen PKA auch immer wieder Freisetzungen von Sulfamethoxazol auftraten. Offenbar hatte die längere Kontaktzeit zwischen Wasserinhaltsstoffen und Biofilm in den SeqPKA den größten Einfluss auf die Abbauleistungen hinsichtlich Sulfamethoxazol und führte zu einem deutlichen Unterschied zwischen den Technologien (siehe Tabelle 9). Während in den SeqPKA durchschnittliche Eliminationsgrade von 44% und 54% erreicht wurden, betragen die in den KonPKA nur 10% bzw. 19%. Bei den getesteten Prozessführungen führte die mit der längsten Gesamtaufenthaltszeit (48h) und den häufigsten Filterwechseln (16x) pro Sequenz (Phase 3) zum höchsten Eliminationsgrad von 66%.

Auch hinsichtlich des Sulfamethoxazols wiesen die beimpften Anlagen im Zeitraum 26. April bis 2. Juni bessere Abbauleistungen auf als die unimpften gleicher Technologie.

Tabelle 9: Relative Abbauleistungen für Sulfamethoxazol [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	60	28	50	4
2	40	-5	38	-8
3	66	23	-	22
4	40	19	36	27
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	54	19	44	10

Da die Phase 3 gleichzeitig die energieintensivste Variante der Prozessführung ist und die Phase 1 ähnlich gute Ergebnisse erzielt und zwar mit einem Viertel des Energieeinsatzes, wäre auch hier eine Optimierung der Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen sehr von Nutzen. Möglicherweise lässt sich hier mit geringem Einsatz, z.B. durch eine zusätzliche Nährstoffzufuhr, Energie sparen.

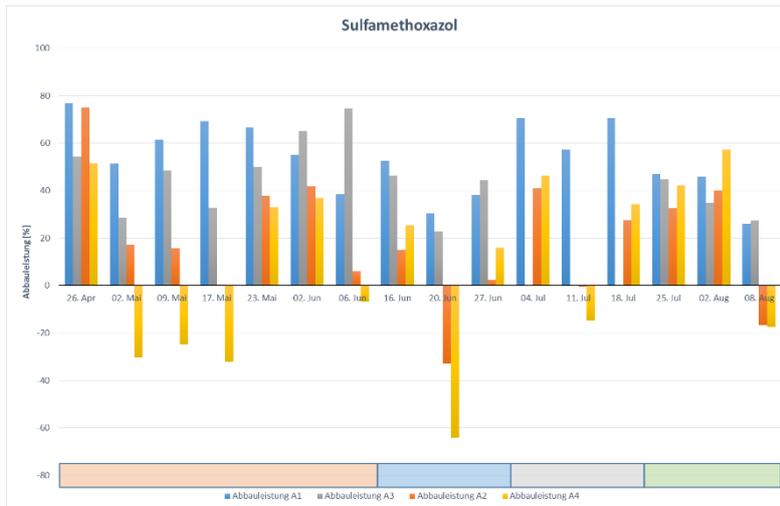


Abbildung 34: Relative Abbauleistungen für Sulfamethoxazol [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Diclofenac

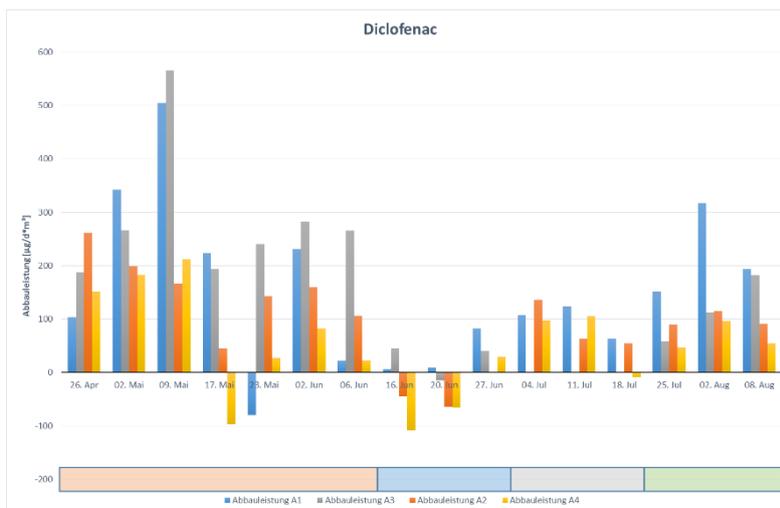


Abbildung 35: Abbauleistungen für Diclofenac

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Sowohl aus den absoluten als auch aus den relativen Werten der Abbauleistungen für Diclofenac geht hervor, dass mit den SeqPKA höhere Leistungen erzielt wurden. Am Anfang der Testphase 1 kamen mit dem Zufluss relativ hohe Diclofenacfrachten, die möglicherweise die Anlagen bereits an die Belastungsgrenze hinsichtlich der Diclofenac-Fracht brachten. Die zurück gehaltene Fracht am 9. Mai betrug in Anlage A1 504  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ , in Anlage A3 566  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$ , bezogen auf die Fracht im Zulauf waren das jedoch nur 34% bzw. 43%, die aus dem Wasser entfernt wurden. Bei geringeren Zulauffrachten, z.B. wurden in Anlage A3 am 6. Juni mit 266  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  66% der Zulauffracht aus dem Wasser eliminiert und in Anlage 1 am 11. Juli mit 169  $\mu\text{g}/\text{d}\cdot\text{m}^3$  73% der Zulauffracht zurück gehalten. In Anlage A1 werden die höchsten prozentualen Abbauleistungen (60%) in Testphase 3 erreicht (siehe Tabelle 10 und Abbildung 36), also bei der längsten Gesamtaufenthaltszeit (48h) und Filterwechsel nach jeweils 3h.

Bei den KonPKA steigt die Abbauleistung in der vierten Testphase auf 34% und 29% an. Da hier keine Änderung der Prozessführung vorgenommen wurde, lässt sich vermuten, dass eine Änderung in der Biozönose für die steigenden Leistungen verantwortlich war.

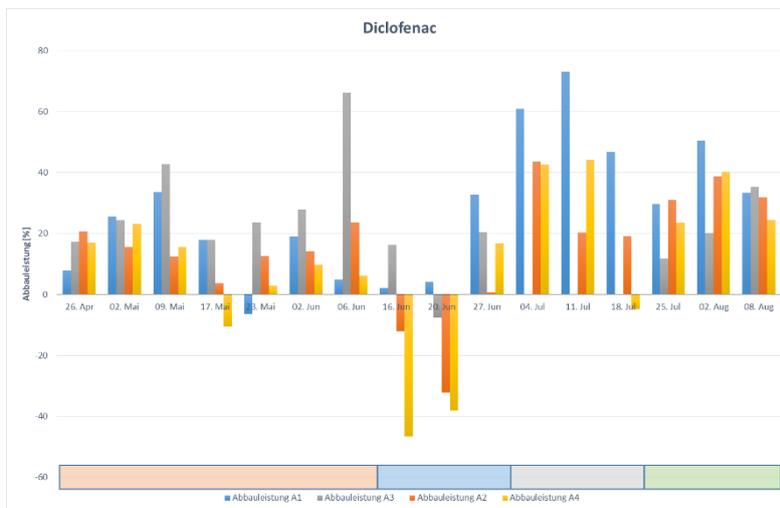


Abbildung 36: Relative Abbauleistungen für Diclofenac [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA    A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Tabelle 10: Durchschnittliche Abbauleistungen für Diclofenac [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	15	15	31	9
2	13	-15	10	-23
3	60	28	-	27
4	38	34	22	29
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	27	15	24	10

## Metformin

Wie aus Abbildung 37 ersichtlich, wurde Metformin auch immer wieder freigesetzt, obwohl die Elimination aus dem Wasser überwog. Die Freisetzungen sind ein deutlicher Hinweis darauf, dass neben einem biologischen Abbau auch physikalische Prozesse für einen Teil des Rückhalts verantwortlich waren. Es konnten keine Korrelationen zwischen den Abbauleistungen und Temperatur, pH-Wert, Sauerstoff- oder Stickstoffgehalt festgestellt werden. Auch Trends zwischen den getesteten Prozessführungen oder den eingesetzten Technologien lassen sich aus den vorliegenden Ergebnissen nicht ableiten.

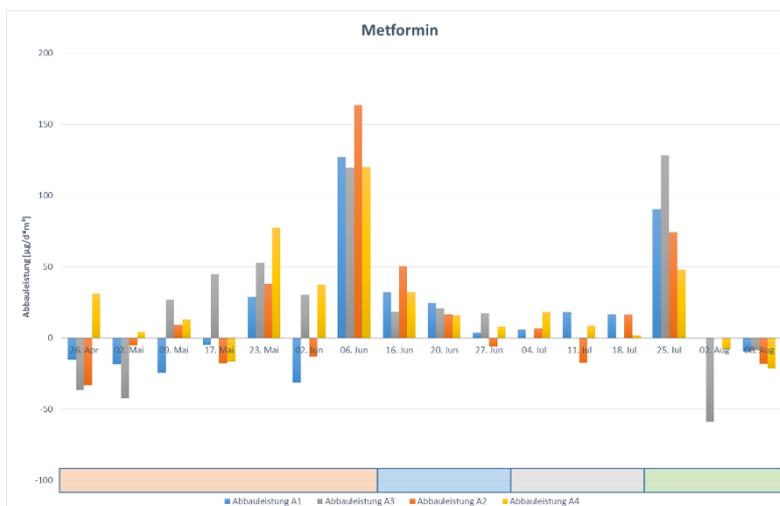


Abbildung 37: Abbauleistungen für Metformin

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA     A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

Tabelle 11: Durchschnittliche Abbauleistungen für Metformin [%]

Testphase	A1	A2	A3	A4
1	-1	6	15	26
2	15	13	17	19
3	22	2	-	10
4	11	6	-1	-7
<b>Gesamt Durchschnitt</b>	9	6	12	15

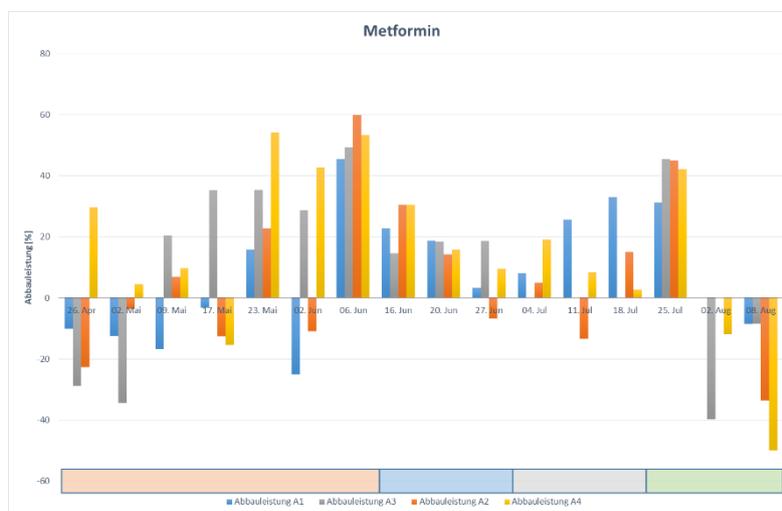


Abbildung 38: Relative Abbauleistungen für Metformin [%]

A1 & A3 = SeqPKA, A2 & A4 = KonPKA     A1 & A2 beimpft, A3 & A4 unbeimpft  
 Testphasen: 1: 4 x 6h; 2: 8 x 3h; 3: 16 x 3h; 4: 4 x 3h

## Bioaugmentation

### Ergosterolgehalte

Tabelle 12: Ergosterol-Gehalte in Holzhackschnitzeln

Probe	A1 [ $\mu\text{g/g}$ ]	A2 [ $\mu\text{g/g}$ ]	A3 [ $\mu\text{g/g}$ ]	A4 [ $\mu\text{g/g}$ ]
<b>März 2016</b>	4,09	2,62	0,72	0,85
<b>Juli 2016</b>	1,49	2,25	2,28	4,75
<b>Oktober 2016</b>	11,81	10,89	11,26	9,11

Die Beimpfung mit vorkultivierter Pilzbiomasse erfolgt in die Anlagen A1 und A2. Die Messergebnisse (Tabelle 12) vom März spiegeln das wider. In den Anlagen A1 und A2 ist die zugegebene Pilzbiomasse aktiv und sorgt für die höheren Ergosterolwerte. Im Juli wurde geringere Werte gemessen, ein möglicher Hinweis auf einen Rückgang der aktiven Pilzbiomasse oder eines Absterbens der angeimpften Spezies einhergehend mit einer Neubesiedlung. In den nicht angeimpften Anlagen A3 und A4 erfolgte ab dem Frühjahr eine natürliche Besiedlung mit Pilzen, ersichtlich aus den gestiegenen Ergosterolgehalten. Alle Anlagen hatten im Holzteil des Filters im Oktober die höchsten Ergosterolgehalte.

Die gewonnenen Ergebnisse hinsichtlich der Ergosterolgehalte in den Holzhackschnitzeln stützen die oben aufgestellte Theorie, dass die angeimpften Pilze *Agrocybe aegerita* und *Coprinellus radians* nur eine kurze Zeit im gegebenen Milieu der Kläranlagen überleben konnten, jedoch, solange sie im Filter aktiv waren, für einen Abbau von z.B. Carbamazepin sorgten.

Die natürliche Ansiedlung von Pilzen erfolgt offensichtlich mit Pilzen, die mit den speziellen Umweltbedingungen in den Versuchsanlagen leben können. Die zwei Arten, deren Fruchtkörper in Anlage A3 gefunden wurden, gehören zu den Zweitbesiedlern von Totholz. Sie selbst können Lignin nicht zersetzen, sondern sind angewiesen auf die Stoffwechselprodukte von holzabbauenden Pilzen.

Es ist Aufgabe weiterer Forschungsarbeiten, Pilzarten zu finden, die dauerhaft in PKA angesiedelt werden können, bzw. die Bedingungen durch Zugabe von Nährlösungen derart zu verbessern, dass diese Pilze zum Abbau der refraktären Stoffe im Abwasser beitragen.

### Ansiedlung von Pilzen

Fruchtkörper von natürlich angesiedelten Pilzen wurden in einem Filter der Anlage A3 gesichtet. Die Bestimmung ergab, dass es sich hierbei um *Peziza cerea* und um *Phaeohelotia imberbe* (auch *Hymenoscyphus imberbis*) handelt. Die Fruchtkörper entwickelten sich erst im September 2016.

*Peziza cerea* (Gelber Wachsbecherling) gehört zur Klasse der Ascomycetes (Schlauchpilze) und besiedelt Totholz.

*Phaeohelotium imberbe* (Bartloses Nagelbecherchen) gehört ebenfalls zu den Ascomycetes, wächst saprobiontisch an Totholz von Laubbäumen und ist regelmäßig in Feuchtgebieten anzutreffen.

## Unerwartet aufgetretene Probleme

### Unterschiedliche Entwicklung der Schilfpflanzen

Die Anlagen wurden mit *Phragmites australis* bepflanzt. Im Laufe des Sommers stellte sich heraus, dass sich die



Abbildung 39: *Phragmites australis* kurz nach dem Einpflanzen (Foto A. Kluttig)

Pflanzen in den einzelnen Filtermodulen sehr unterschiedlich entwickeln (siehe Abbildung 39 und Abbildung 40).

Obwohl davon ausgegangen werden konnte, dass *Phragmites australis* sich auch in wassergesättigten Bereichen etablieren kann, war ein großer Unterschied zwischen den Anlagentypen zu beobachten. In den KonPKA gediehen die Pflanzen sehr viel besser als in den SeqPKA, was an Wuchshöhe, Färbung und Anzahl der Neutriebe (Dichte des Bewuchses) offensichtlich wurde. Grund hierfür könnte die unterschiedliche Korngröße des Substrates sein. Als Filtersubstrat in den SeqPKA wurde Feinkies (Korngröße 2 mm bis 8 mm) eingebaut, um für eine relativ hohe hydraulische Durchlässigkeit der Filter zu sorgen. Als Filtersubstrat in den KonPKA wurde Sand mit einer Korngröße von 0 mm bis 4 mm gewählt, um für eine möglichst große Oberfläche für den Biofilm sowie



Abbildung 40: Filtermodule im September 2016, links konventionelle PKA, rechts sequentielle PKA (Foto A. Kluttig)

ein langsames Durchrieseln des Wassers zu sorgen. Da Kuschik et al. (2012) feststellten, dass die Pflanzen beim Abbau von Kontaminanten mit geringen Konzentrationen eine signifikante Rolle spielen, vor allem in Verbindung mit langen hydraulischen Aufenthaltszeiten, sehen wir an dieser Stelle eindeutigen Optimierungsbedarf. Möglich ist, dass die Pflanzen in diesem speziellen Substrat länger brauchen, um sich zu etablieren. Eine weitere Option wäre, gezielt Nährstoffe zu zusetzen, um das Wachstum zu unterstützen. Sollte *Phragmites australis* sich als gänzlich ungeeignet heraus stellen, könnten andere Sumpfpflanzen auf ihre Eignung getestet werden.

### Analytische Methode für Feststoffe (Holz, Sand, Pflanzen)

Um die Anlagen hinsichtlich der Arzneistoffe zu bilanzieren und so ihr spezifisches Verhalten beim Durchgang auf zu decken, müssten alle Teile der Filter, also Sand bzw. Kies, das Holz und auch die Schilfpflanzen analysiert werden.

Ternes et al. (2005) stellte eine analytische Methode für Klärschlamm vor, mit der verschiedene Pharmazeutika analysiert werden können. Im vorliegenden Vorhaben wurde versucht, die Methode der Probenvorbereitung (Extraktion und Reinigung) auf die hier interessanten Feststoffe zu übertragen. Leider ohne Erfolg. Es gibt derzeit offenbar keine etablierte und zuverlässige Methode, Pharmazeutika in Feststoffen zu analysieren.

## Ökologische, technologische und ökonomische Bewertung der Ergebnisse

Im vorliegenden Vorhaben wurde die Eignung der PKA mit sequentieller Kreislaufführung zur vierten Reinigungsstufe einer KKA getestet. Dies wurde im Hinblick auf ausgewählte Arzneistoffe als Vertreter schwerabbaubarer Abwasserinhaltsstoffe untersucht. Des Weiteren wurde das Potential der Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen getestet.

Aus den gewonnenen Ergebnissen geht hervor, dass die Technologie der PKA mit sequentieller Kreislaufführung das Potential hat, organische Spurenstoffe aus dem Abwasser zu eliminieren, kann also als vierte Reinigungsstufe einer KKA zum Einsatz zu kommen. Auf Grundlage dieser ersten Ergebnisse muss nun eine gezielte weitere Konzeptionierung und Optimierung dieser Technologie für diese spezielle Einsatzvariante erfolgen. Aus ökologischer und ökonomischer Sicht ist dies ein lohnenswerter Forschungsansatz. Es ist absehbar, dass in Zukunft eine vierte Reinigungsstufe in KKA zur Entfernung von refraktären Substanzen notwendig wird, um uns und unsere Umwelt vor einer weiteren Verteilung und Anreicherung dieser Stoffe in den natürlichen Ressourcen zu schützen. Ein naturnahes Verfahren wie die PKA mit sequentieller Kreislaufführung stellt hierfür eine kostengünstige Technologie mit vergleichsweise geringen Betriebskosten dar. Ein biologischer Abbau hätte außerdem den Vorteil, dass Entsorgungs- und periodisch wiederkehrende Investitionskosten (Entsorgung und Neuanschaffung technischer Filter) entfallen.

PKA mit sequentieller Kreislaufführung haben die Vorteile eines sogenannten technisierten naturnahen Verfahrens. Sie verbinden niedrige Betriebskosten und geringen Wartungsaufwand mit der Möglichkeit, Einfluss auf den Prozess nehmen zu können; Aufenthaltszeit des Abwassers in der Anlage und Belüftung der Filter können flexibel an die Notwendigkeiten des jeweiligen Einsatzes angepasst werden.

Aus den Ergebnissen dieser Machbarkeitsstudie ergeben sich folgende neue Fragen und Probleme, die geklärt werden müssen:

- Die Elimination der Arzneistoffe ist zu optimieren.
- Ein biologischer Abbau muss nachgewiesen werden durch die Analyse der jeweiligen Metabolite.
- Die Elimination anderer refraktärer Substanzen im Ablauf von KKA muss untersucht werden.
- Die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen muss weiter untersucht werden. Zum einen gibt es möglicherweise Arten, die für das spezielle Milieu besser geeignet sind als die hier getesteten. Zum anderen können gezielte Nährstoffgaben dazu beitragen, dass sich die Pilze dauerhaft im Filter etablieren und aktiven Stoffwechsel betreiben und so den Abbau der persistenten Stoffe übernehmen bzw. unterstützen.

- Es muss sichergestellt werden, dass keine dauerhafte Anreicherung/Kontamination der Filterkompartimente stattfindet. Dazu ist eine verlässliche Arzneistoffanalytik für Feststoffe und Pflanzen notwendig.
- Genaue wirtschaftliche Betrachtungen können erst nach allen Optimierungsschritten unternommen werden, da erst dann alle Notwendigkeiten für einen stabilen Betrieb abgeklärt sein werden.

## Verbreitung der Vorhabensergebnisse

Es ist ein Abstract für die Präsentation der Ergebnisse auf der IWA-Konferenz „Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies“ im Mai/Juni 2017 in Brasilien eingereicht. Weitere Konferenzbeiträge zum Vorhaben sind vorgesehen.

Des Weiteren werden die Ergebnisse auf der Homepage der Fachgruppe Umweltverfahrenstechnik dargestellt. Dies ist bisher nicht erfolgt, da die Homepage des Internationalen Hochschulinstituts derzeit in die Homepage der TU Dresden integriert wird, diese Umstellung ist noch nicht abgeschlossen.

Natürlich werden die Ergebnisse den Projektpartnern zur Verfügung gestellt.

## Fazit

Die Ergebnisse verdeutlichen die besseren Abbauleistungen hinsichtlich persistenter Substanzen der Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung gegenüber den konventionellen PKA. Dies konnte für Carbamazepin, Gabapentin, Sulfamethoxazol und Diclofenac nachgewiesen werden. Sowohl für Sulfamethoxazol als auch für Diclofenac wurden die besten Leistungen mit der längsten Gesamtaufenthaltszeit und den häufigsten Filterwechseln erreicht. Offensichtlich begünstigt die lange Kontaktzeit zwischen Abwasserkontaminanten und Biofilm die Elimination auch schwer abbaubarer Stoffe aus dem Abwasser. Dies und die Tatsache, dass die Betriebsbedingungen der SeqPKA kontrollier- und steuerbar sind, macht diese Technologie besonders geeignet für die Elimination persistenter Stoffe.

Des Weiteren geben die Ergebnisse deutliche Hinweise darauf, dass die Bioaugmentation mit Weißfäulepilzen die Reinigungsleistung sowohl der KonPKA als auch der SeqPKA hinsichtlich bestimmter refraktärer Stoffe verbessert. Die gemessenen Abbauleistungen für Carbamazepin, Propranolol, Sulfamethoxazol waren in den beimpften Versuchsanlagen höher als in den unbeimpften jeweils gleicher Technologie. Diese höheren Leistungen der beimpften Anlagen konnten allerdings nur für die erste Testphase festgestellt werden, sodass man davon ausgehen muss, dass sich die inokulierten Pilze nicht in den Anlage halten konnten. Es müssen also Verfahren gefunden werden, Weißfäulepilze dauerhaft im Filterbett zu etablieren. Zum einen sollte nach geeigneten Pilzarten geforscht werden, die unter den speziellen Umweltbedingungen einer PKA gedeihen können, zum andern könnten zusätzliche Nährstoffgaben für einen kontinuierlich guten Stoffwechsel der Pilze notwendig sein.

Hinsichtlich der Arzneimittel Gabapentin und Diclofenac lässt die im Juni und vor allem Juli erfolgte Steigerung der Abbauleistung sowohl für SeqPKA als auch KonPKA die Schlussfolgerung zu, dass eine Veränderung/Adaptation der Biozönose in den Filtern für die Leistungssteigerung verantwortlich ist. Auch dabei können gezielte Nährstoffgaben zu einer weiteren Erhöhung der Abbauleistung führen.

Pflanzenkläranlagen mit sequentieller Kreislaufführung haben das Potential als vierte Reinigungsstufe einer KKA zur Elimination organischer Spurenstoffe eingesetzt zu werden. Auf Grundlage dieser ersten Ergebnisse muss nun eine gezielte weitere Konzeptionierung und Optimierung dieser Technologie für diese spezielle Einsatzvariante erfolgen. In zukünftige Untersuchungen sollten auch andere refraktäre Stoffe einbezogen werden.

## Literaturverzeichnis

**Ankley G T, Brooks B W, Huggett D B, Sumpter J P, (2007):** Repeating History: Pharmaceuticals in the Environment. *Environ Sci Technol* 41, 8211-17.

**ARGE, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe: *Arzneistoffe in Elbe und Saale 2003*.** [www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf](http://www.arge-elbe.de/wge/Download/Berichte/03Arzn.pdf) (Abfragedatum September 2008)

**Austin David, Lohan Eric, Verson Elizabeth, (2003):** Nitrification and denitrification in a tidal vertical flow wetland pilot. Paper published in proceedings of the Water Environment Technical Conference 2003, Los Angeles, California, 1-25.

**Austin David, Nivala Jaime, (2009):** Energy requirements for nitrification and biological nitrogen removal in engineered wetlands. *Ecol. Eng.* 35, 184-192.

**Avila Cristina, Reyes Carolina, Bayona Josep María, García Joan, (2013):** Emerging organic contaminant removal depending on primary treatment and operational strategy in horizontal subsurface flow constructed wetlands: Influence of redox. *Water Research* 47, 315-325.

**Behrends L, (1999):** Reciprocating subsurface flow constructed wetlands for improving wastewater treatment. In: Office, U.S.P. (Ed.), USA.

**Bergmann Axel, Fohrmann Reinhard, Weber Frank-Andreas, (2011):** Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln. Gutachten für das Umweltbundesamt FKZ 360 14 013, Texte Nr. 66/2011.

**Brix H, (1994):** Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status, and future perspectives. *Water Sci. Technol.* 30, 209-223.

**Cai Kai, Elliott Christopher T, Phillips Debra H, Scippo Marie-Louise, Muller Marc, Connolly Lisa, (2012):** Treatment of estrogens and androgens in dairy wastewater by a constructed wetland system. *Water Research* 46, 2333-2343.

**Celiz M D, Tso J, Aga D S, (2009):** Pharmaceutical metabolites in the Environment: Analytical challenges and ecological risks. *Environ Toxicol Chem* 28, 2473-84.

**Cruz-Morató Carles, Ferrando-Climent Laura, Rodriguez-Mozaz Sara, Barceló Damià, Marco-Urrea Ernest, Vicent Teresa, Sarrà Montserrat, (2013):** Degradation of pharmaceuticals in non-sterile urban wastewater by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor. *Water Research* 47, 5200-5210.

**Cruz-Morató Carles, Jelic Aleksandra, Perez Sandra, Petrovic Mira, Barceló Damià, Marco-Urrea Ernest, Sarrà Montserrat, Vicent Teresa, (2013b):** Continuous treatment of clofibric acid by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor: Identification of transformation products and toxicity assessment. *Biochemical Engineering Journal* 75, 79-85.

**Daughton C G, Ternes T A, (1999):** Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ Health Perspectiv* 107, 907-38.

**Ebert I, (2011):** Monitoring von Arzneimitteln in der Umwelt – ein Werkzeug für die Verbesserung der Umweltrisikobewertung?. Vortrag Workshop „Monitoring von Arzneimitteln in der Umwelt – Notwendigkeit, Erfahrungen und Perspektiven für die Arzneimittelzulassung“ im Umweltbundesamt Dessau, September 2011.

**Engelmann Uwe, Rohde Sylvia, Heidenreich Majana, Ziegler Katrin, (2007):** Arzneistoffbericht 2007 – Arzneimittelwirkstoffe, Antibiotika und Röntgenkontrastmittel in Abwassereinleitungen und Oberflächengewässern in Sachsen. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG).

**Engelmann Uwe, Rohde Sylvia, Ziegler Katrin, (2011):** Arzneistoffbericht 2011 - Arzneimittelwirkstoffe, Antibiotika und Röntgenkontrastmittel in Abwassereinleitungen und Fließgewässern in Sachsen. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG).

**Fatta-Kassinou D, Meric S, Nikolaou A, (2011):** Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 251–275.

**Hanisch B., Abbas B. und Kratz W., (2002):** Ökotoxikologische Bewertung von Humanarzneimitteln, Landesumweltamt Brandenburg (Hrsg.), Studien- und Tagungsberichte Band 39, Potsdam.

**Kadlec R H, Wallace S D, (2008):** Treatment wetlands, 2<sup>nd</sup> edition. CRC Press, Boca Raton, Florida.

**Kuschik Peter, Wiessner Arndt, Seeger Eva M, Kästner Matthias, Kappelmeyer Uwe, Paredes Diego, Shtemenko Natalia I, (2012):** The Status of Research on Constructed Wetlands. Chapter 15 in: Environmental and Food Safety and Security for South-East Europe and Ukraine, NATO Science for Peace and Security. Springer Science & Business Media B.V., pp 155-171.

**LANUV NRW (2007):** Eintrag von Arzneimitteln und deren Verhalten und Verbleib in der Umwelt - Literaturstudie. In: Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein Westfalen (MUNLV NRW), Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein Westfalen (LANUV NRW) (Hrsg).

**Luederitz V, Eckert E, Lange-Weber M, Lange A, Gersberg RM, (2001):** Nutrient removal efficiency and resource economics of vertical flow and horizontal flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 18, 157-171.

**Marco-Urrea E, Perez-Trujillo M, Cruz-Morato C, Caminal G, Vicent T, (2010):** Degradation of the drug sodium diclofenac by *Trametes versicolor* pellets and identification of some intermediates by NMR. *J Hazard Mater* 176, 836-42.

**Matamoros Víctor, Nguyen Loc Xuan, Arias Carlos A, Salvadó Victòria, Brix Hans, (2012):** Evaluation of aquatic plants for removing polar microcontaminants: A microcosm experiment. *Chemosphere* 88, 1257-1264.

**Reincke Heinrich, Wiegel Simone, Harms Heinz, Stachel Burkhard, Brockmeyer Robert, Schmidt Ralf, Aulinger Armin, von Templing Wolf, (2003):** Arzneistoffe in Elbe und Saale. Sonderbericht der Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (ARGE ELBE).

**Rodarte-Morales A, Feijoo G, Moreira M, Lema J, (2012):** Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus *Phanerochaete chrysosporium* in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply. *Biodegradation* 23, 145-56.

**Rodríguez-Rodríguez Carlos E, Marco-Urrea Ernest, Caminal Gloria, (2010):** Degradation of naproxen and carbamazepine in spiked sludge by slurry and solid-phase *Trametes versicolor* systems. *Bioresource Technology* 101, 2259-2266.

**Rodríguez-Rodríguez Carlos E, Jelic´ Aleksandra, Llorca Marta, Farré Marinella, Caminal Glòria, Petrovic´ Mira, Barceló Damià, Vicent Teresa, (2011):** Solid-phase treatment with the fungus *Trametes versicolor* substantially reduces pharmaceutical concentrations and toxicity from sewage sludge. *Bioresource Technology* 102, 5602-5608.

**Semrany Samer, Favier Lidia, Djelal Hayet, Taha Samir, Amrane Abdeltif, (2012):** Bioaugmentation: Possible solution in the treatment of Bio-Refractory Organic Compounds (Bio-ROCs). *Biochemical Engineering Journal* 69, 75-86.

**Seiler R.L., Zaugg S.D., Thomas J.M. und Hoscroft D.L., (1999):** Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in wells. *Ground Water*, 37, S. 405-410.

**Sun G, Gray K, Biddlestone A, Cooper D, (1999):** Treatment of agricultural wastewater in a combined tidal flow downflow reed bed system. *Water Sci. Technol.* 40, 139-149.

**Sun G, Zhao Y, Allen S, Cooper D, (2006):** Generating „tide“ in pilot scale constructed wetlands to enhance agricultural wastewater treatment. *Eng. Life Sci.* 6, 560-565.

**Ternes, T.A. (2000):** Pharmaceuticals: Occurrence in rivers, groundwater and drinking water. In: International Seminar: Pharmaceuticals in the environment. Technological institute, Section of Environmental Technology, Brussels, 2000.

**Ternes T.A., Hirsch R., Stumpf M., Eggert T., Schuppert B. und Haberer K., (1999):** Nachweis und Screening von Arzneimittelrückständen, Diagnostika und Antiseptika in der aquatischen Umwelt. Abschlussbericht des ESWE-Institutes für Wasserforschung und Wassertechnologie GmbH zum Forschungsvorhaben 02WU9567/3 des BMBF.

**Ternes T.A., Bonerz M., Herrmann N., Löffler D., Keller E., Lacida B.B., Adler A.C., (2005):** Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC/tandem MS and GC/MS. *Journal of Chromatography A*, 1067, 213-223.

**World Health Organisation (2011):** Pharmaceuticals in Drinking-water. WHO/HSE/WSH/ 11.05. WHO Press, Geneva, Switzerland.

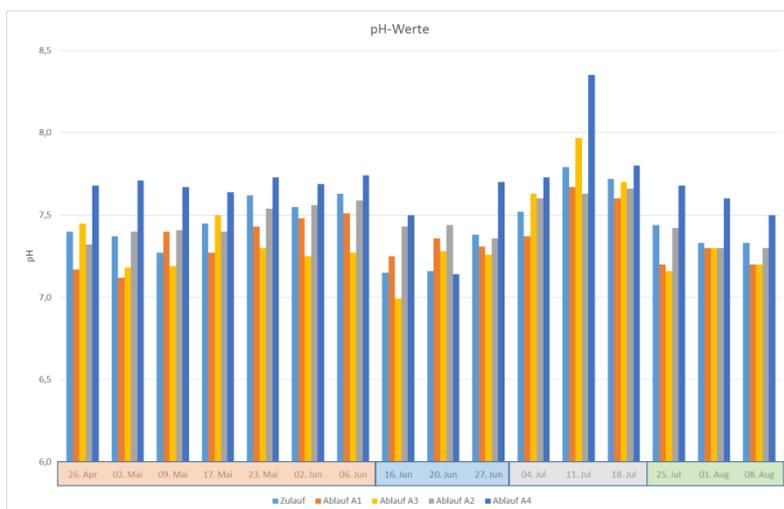
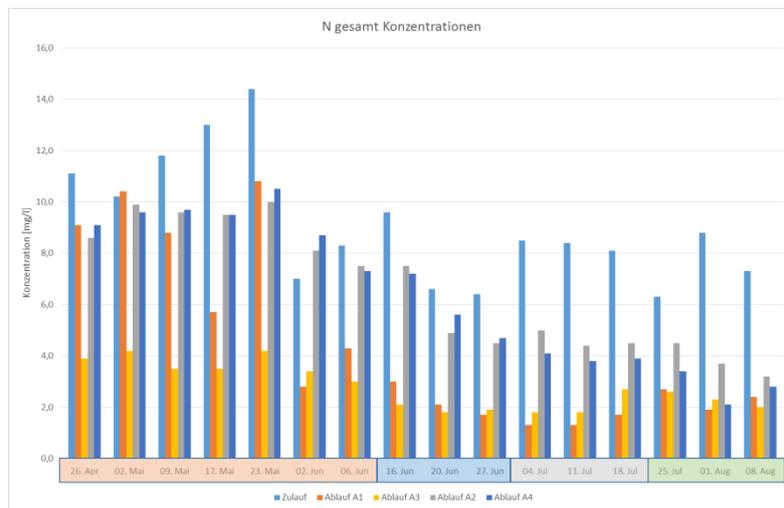
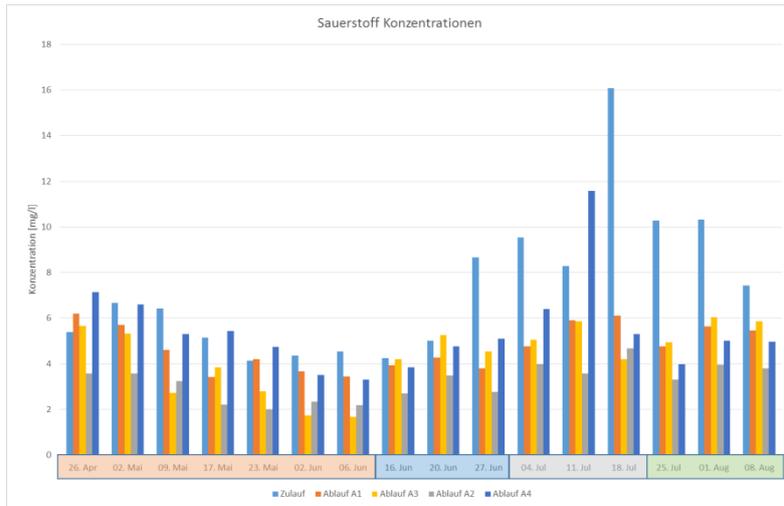
**Wu Shubiao, Zhang Dongxiao, Austin David, Dong Renjie, Pang Changle, (2011):** Evaluation of a lab-scale tidal flow constructed wetland performance: Oxygen transfer capacity, organic matter and ammonium removal. *Ecological Engineering*, 1789-1795.

**Zawierucha I, Malina G, Singh A, Parmar N, Kuhad R C, (2011):** Bioremediation of Contaminated Soils: Effects of Bioaugmentation and Biostimulation on Enhancing Biodegradation of Oil Hydrocarbons. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 187-201.

**Zhang Y, Geißen S U, (2012):** Elimination of carbamazepine in a non-sterile fungal bioreactor. *Bioresource Technology* 112, 221-227.

**Zhao YQ, Sun G, Allen SJ, (2004):** Purification capacity of a highly loaded laboratory scale tidal flow reed bed system with effluent recirculation. *Sci. Total Environ.* 330, 1-8.

# Anhang I: Abiotische Faktoren



## Anlage II: Konzentrationen der untersuchten Arzneistoffe in Zu- und Ablauf der einzelnen Anlagen

