

# Rückhalt Antibiotika-resistenter Keime und Gene in Kombination mit Spurenstoffadsorption mittels einer neuen PAK/UF Kombination



**h\_da**  
HOCHSCHULE DARMSTADT  
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**MANN + HUMMEL**

**ELW**  
Entsorgungsbetriebe der  
Landeshauptstadt Wiesbaden

**WEBER**  
Ingenieure

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Datum:</b>               | Juli 2023  |
| <b>Autoren:</b>             | Stefan Krause (hd_a), Alexander Merz (h_da),<br>Susanne Lackner (TUDa), Shelesh Agrawal (TUDa),<br>Janina Mattersdorf (TUDa), Franziska Kirchen (TUDa) |
| <b>DBU Projekt:</b>         | AZ 34963/01-2  |
| <b>Projektpartner:</b>      | TU Darmstadt, Institut IWAR (TUDa) • Hochschule Darmstadt (h_da)   |
| <b>assoziierte Partner:</b> | Microdyn-Nadir GmbH (MN) • ELW Wiesbaden (ELW) • WEBER<br>Ingenieure (WI) (vormals UNGER ingenieure)   |
| <b>Berichtszeitraum:</b>    | 01.04.2020 – 31.03.2023  |

**Projektkennblatt**

|   |  |  |                 |   |                  |
|---|--|--|-----------------|---|------------------|
| 06/02   |  | <b>Projektkennblatt</b><br>der<br><b>Deutschen Bundesstiftung Umwelt</b> |                 |  |                  |
| Az  | <b>34963/01 &amp; /02</b>  | Referat  |                 | Fördersumme   | <b>533.830 €</b> |
| <b>Antragstitel</b>   | <b>Rückhalt antibiotika-resistenter Keime und Gene in Kombination mit Spurenstoffadsorption mittels einer neuen PAK/UF Kombination</b>   |  |                 |   |                  |
| <b>Stichworte</b>   | Spurenstoffe, Antibiotikaresistenzen, Membranfiltration, Pulveraktivkohle, 4. Reinigungsstufe  |  |                 |   |                  |
| Laufzeit  | Projektbeginn  | Projektende  | Projektphase(n) |   |                  |
| <b>36 Monate</b>  | <b>01.04.2020</b>  | <b>31.03.2023</b>  | <b>2</b>        |   |                  |
| Zwischenberichte  | 1 Zwischenbericht, Dez. 2021   |  |                 |   |                  |
| <b>Bewilligungsempfänger</b>  | Technische Universität Darmstadt<br>FB13, Bau- und Umweltingenieurwissenschaften,<br>Institut IWAR,<br>FG Wasser und Umweltbiotechnologie<br><br>Franziska-Braun-Straße 7<br>64287 Darmstadt |  |                 | Tel +49 6151 16 20309<br><br>Fax +49 6151 16 20305                                  |                  |
|   |  |  |                 | Projektleitung<br>Prof. Susanne Lackner   |                  |
|   |  |  |                 | Bearbeiter<br>Dr.-Ing. Shelesh Agrawal,<br>Janina Mattersdorf, M.Sc.                |                  |
| <b>Kooperationspartner</b>  | Prof. Stefan Krause<br>Hochschule Darmstadt<br>Fachbereich Bau- und Umweltingenieurwesen<br>Schöfferstr. 3<br>64295 Darmstadt  |  |                 |   |                  |
| <p><b>Zielsetzung und Anlass des Vorhabens (2500 Zeichen)</b></p> <p>Die Belastung der Gewässer mit anthropogenen Spurenstoffen, (Antibiotika resistenten) Krankheitserregern und Mikroplastik hat aufgrund menschlicher Aktivitäten und der fortschreitenden Urbanisierung in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Kläranlagen stellen für diese oft wassergängige Schadstoffe einen möglichen Eintragspfad dar. Auch wenn es derzeit noch keine Überwachungswerte für Spurenstoffe, resistente Keime und Mikroplastik für Kläranlagen gibt, wird die Einführung einer weitergehenden (vierten) Reinigungsstufe zur Elimination dieser Stoffe intensiv diskutiert und teilweise auch schon vorangetrieben, da die langfristigen Auswirkungen auf Gewässerökosysteme und den Menschen vor allem in Bezug auf den Eintrag und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen noch nicht ausreichend verstanden sind.</p> <p>Ziel dieses Projektes ist es, vertiefte Kenntnisse über den Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien (ARB) und Resistenzgenen (ARG) mit einer Kombination aus Ultrafiltration (UF) mit Pulveraktivkohle (PAK)-Dosierung zu liefern. Dieser Ansatz geht über die meisten bisherigen Bemühungen hinaus, die sich ausschließlich mit dem Thema Spurenstoffreduktion beschäftigen. Das Projekt verfolgt einen integrierten Ansatz, bei dem über die vierte Reinigungsstufe zur Spurenstoffelimination (hier die PAK-Dosierung) hinausgegangen wird. Dabei wird eine direkte Integration einer fünften Stufe für die Reduktion von Spurenstoffen in Kombination mit ARB/ARG betrachtet.</p> <p>Eine Verfahrenskombination mit Membrantechnik ist für den Rückhalt von ARB/ARG nur dann sinnvoll, wenn die Membran die letzte Behandlungsstufe darstellt. Somit bietet die hier zu untersuchende Verfahrenstechnik gegenüber granulierter Aktivkohle den Vorteil vor / in Kombination mit der Membran eingesetzt werden zu können. Mit diesem Konzept wird eine sehr flexible Betriebsweise durch die angepasste Dosierung von PAK möglich und gleichzeitig stellt die Membran die Barriere für den Rückhalt der PAK und der ARB/ARG dar. Die Ziele des Vorhabens begründen sich so auch aus den bisher nur wenigen Erfahrungen mit der Spurenstoffelimination mit dieser Verfahrenstechnik, die außerdem bisher noch nie in Kombination mit dem ARB/ARG Rückhalt getestet wurde.</p> <p>Das Projekt verfolgt drei Forschungsfragen:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Abtrennung von ARB und ARG mit Ultrafiltration – was kann die Technologie leisten?</li> <li>2. Verfahrenstechnische Entwicklung</li> <li>3. Wirtschaftlichkeit und Abwasserabgabe</li> </ol> |  |  |                 |   |                  |

### **Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden (2500 Zeichen)**

Für das Projekt wurde in Zusammenarbeit mit den Entsorgungsbetrieben der Landeshauptstadt Wiesbaden (ELW) auf dem Hauptklärwerk (HWK) Wiesbaden (ca. 300.000 EW) eine von der Firma MANN+HUMMEL Water & Fluid Solutions (M+H) bereitgestellte Pilotanlage betrieben. Die Pilotanlage wurde mit Ablauf der Nachklärung beschickt und bestand aus PAK-Dosierung und Membranfiltration. Für eine bessere Übertragbarkeit wurde ein großtechnisches Modul verwendet. Die Pilotanlage war außerdem mit Sensorik ausgestattet, um möglichst umfangreiche Daten zu erheben. Die Vorgehensweise im Projekt lässt sich in Datenerhebung, Anlagenbetrieb und Datenauswertung gliedern.

1. **Datenerhebung** zum HKW und zur Bewertung der Pilotanlage. Diese lassen sich in drei Kategorien einteilen:
  - Klassische Abwasserparameter zur Bewertung der Pilotanlage (CSB, TOC/DOC, P, TS, etc.).
  - Spurenstoffmessungen mit Spurenstoffscreening (Zu- und Ablauf Klärwerk) und eine monatliche Routinebeprobung der Pilotanlage.
  - Bestimmung von ARG in Proben vom Klärwerk und der Pilotanlage mit Next Generation Sequencing (NGS).
2. **Anlagenbetrieb** als Kernstück des Projektes mit Ablauf der Nachklärung des HKW. Es wurden unterschiedliche Betriebseinstellungen gefahren und verglichen um das Verfahren weiter zu entwickeln und (energetisch und verfahrenstechnisch) zu optimieren.  
Erste Vorversuche zur direkten Abtrennung von Pulveraktivkohle mit getauchten UF-Membranen waren vielversprechend, jedoch wurde die Verfahrenstechnik bisher nur in kleinem Maßstab (25 m<sup>2</sup> im Vergleich zu Serienmembranmodulen mit 480 m<sup>2</sup>) und ohne umfangreiche Optimierungen erprobt. Deshalb wurde die verfahrenstechnische Optimierung im Rahmen der Pilotierung mit einem Serienmembranmodul der Firma M+H durchgeführt, um Fragen bezüglich des Luftbedarfs (Crossflow-Strömung), der Reinigungsintervalle, der Leistungsfähigkeit (spezifischer Fluss) und des Energiebedarfs zu beantworten. Diese Optimierungen wurden in Kombination mit den Untersuchungen zur Reduktion der Spurenstoffe und ARB/ARG durchgeführt.
3. **Bewertung** des Risikos für das Betriebspersonal da an vielen Stellen Kontakt zum Belebtschlamm besteht.
4. **Wirtschaftlichkeit und Abwasserabgabe:** Bewertung der Pilotanlage hinsichtlich Wirtschaftlichkeit einer großtechnischen Anlage (nach Upscaling) bzgl. Jahreskosten (Investitionen, Personal, Betriebsmittel) sowie zur Erreichung von einer evtl. Abwasserabgabefreiheit (im Kontext einer weitgehenden CSB- und P-Elimination).

### **Ergebnisse und Diskussion (2500 Zeichen)**

Im Projekt wurde eine Kombination aus Pulveraktivkohle (PAK)-Dosierung und Ultrafiltrationsmembran eingesetzt, um Antibiotikaresistenzgene (ARG) und Mikroverunreinigungen aus behandeltem Abwasser zu entfernen. In Laborversuchen wurden 13 verschiedene Pulveraktivkohlen auf ihre Adsorptionsleistung und mögliche Auswirkungen auf die Membran getestet. Eine PAK wurde ausgewählt, basierend auf Kriterien wie dem CO<sub>2</sub>-Fußabdruck; auch Lufteintrag und chemische Reinigung der Membran wurden optimiert.

Um die Effizienz der ARG- und Spurenstoffreduktion zu bewerten, wurden Referenzmessungen an der Kläranlage durchgeführt. Etwa 50% der Spurenstoffe im Ablauf lagen oberhalb der Bestimmungsgrenzen, und die Konzentration im Ablauf lag in Summe bei 118 µg/l. Die ARG-Reduktion betrug insgesamt 1 Log-Stufe in der Kläranlage und ca. 3 Log-Stufen in der Pilotanlage.

Langzeitdaten zeigten eine verbesserte Entfernung von ARG und Spurenstoffen durch die Pilotanlage. Die vorherrschende Antibiotikaklasse war die der multiresistenten ARG. Die PAK hatte jedoch keinen Einfluss auf die ARG-Reduktion. Die Reduktion der Spurenstoffe mittels PAK betrug über 80%. Unterschiede wurden bei der PAK-Dosierung und dem PAK-Typ festgestellt. PAK 12 benötigte 30% weniger Aktivkohle, um 80% der Spurenstoffe zu entfernen. Als Überwachungsparameter wurde der SAK<sub>254</sub> untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass Benzotriazol zu über 90% und Amidotrizoesäure nur maximal zu 30% entfernt wurden. Die Betriebsbedingungen der Pilotanlage hatten keinen wesentlichen Einfluss auf die ARG- und Spurenstoffentfernung.

Für die Bewertung der ARG-Reduktionsleistung wurden die Probenahme und die Auswahl der ARG detailliert betrachtet. Dazu wurden auch Tages- und Wochengänge der ARG-Konzentrationen ermittelt und ausgewertet. Der Anteil Plasmid-basierter ARG variierte zwischen den Probenahmestellen. Insgesamt wurden 45 Plasmid-basierte ARGs detektiert, die nicht vollständig entfernt wurden. Die ARG-Konzentration im Retentat betrug 4x10<sup>4</sup> Reads/ml, im Zulauf 7x10<sup>6</sup> Reads/ml und im Ablauf 1x10<sup>5</sup> Reads/ml. Von den 37 klinisch relevanten ARG wurden maximal 10 in allen Proben detektiert. Das Auftreten von riskanten ARG nahm mit dem Klärprozess ab und das Expositionsrisiko reduzierte sich deutlich.

## **Ergebnisse und Diskussion (2500 Zeichen)**

### **Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation (2500 Zeichen)**

Das Projektkonzept und die Ergebnisse des Pilotbetriebs wurden in zahlreichen Presseterminen und Präsentationen erläutert bzw. der interessierten Öffentlichkeit zugänglich gemacht.

#### **Presseberichte:**

- 23.05.22 mit der Presse zu den Ergebnissen  
„Nicht sauber, sondern rein“, Wiesbaden Kurier (25.05.22)
- 13.08.22 Tag der offenen Tür  
„Bakterien bei der Arbeit“, Wiesbaden Kurier (15.08.22)
- 15.11.22 25jähriges Jubiläum ELW  
„Schmerzmittel und Viren aus dem Wasser filtern“, Wiesbaden Kurier (18.11.22)

#### **Präsentationen hda:**

- 21.09.21 Pressetermin am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 02.11.21 Präsentation auf der Aachener Tagung
- 23.05.22 Pressetermin am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 21.07.22 Präsentation für die Hessen Agentur am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 13.08.22 Tag der offenen Tür am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 13.09.22 Vortrag auf der IWA World Water Conference in Kopenhagen
- 15.11.22 25-jähriges Jubiläum der ELW

#### **Präsentationen TUDa:**

- 21.09.21 Pressetermin am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 23.05.22 Pressetermin am Hauptklärwerk Wiesbaden
- 30.03.22 Keynote Vortrag auf der 17th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Reno, USA
- 14.08.22 Poster auf dem 18th International Symposium on Microbial Ecology (ISME 18), Lausanne, Schweiz
- 27.03.23 Vortrag auf der Tagung Spurenstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf (SUK 2023), Dechema, Frankfurt

Zusätzlich ist die Veröffentlichung der Daten in wissenschaftlichen Fachzeitschriften in Vorbereitung.

## **Fazit (1500 Zeichen)**

Die Ergebnisse des Projekts zeigen, dass die Implementierung eines weitergehenden mit PAK und UF-Membran dazu beiträgt, ARG und Spurenstoffe deutlich zu reduzieren und gleichzeitig auch hohe Eliminationsleistungen bei den Abwasser-Standardparametern (insbesondere CSB und Phosphor) zu erreichen, die sogar eine Befreiung von der Abwasserabgabe ermöglichen. Das Verfahren wurde energetisch optimiert, weist aber mit dem Wiesbadener Abwasser einen geringen Betriebsfluss auf (Energiebedarf eher hoch mit 0,1 kWh/m<sup>3</sup> für die UF). Die Reinigungen der Membran wurden optimiert um den Chemikalienbedarf zu reduzieren.

Insgesamt wurde eine 80% Reduktion der Spurenstoffe durch die PAK Dosierung beobachtet. Die Pilotanlage lieferte eine höhere Reduktion der ARG im Vergleich zur Kläranlage und erreichte eine Reduktion der ARG-Konzentration um 3-Log Stufen. Plasmid-basierte ARG wurden dagegen weniger effizient entfernt als nicht Plasmid-basierte ARG. Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer differenzierten Analyse der verschiedenen ARG inklusive der Probenahmestrategie.

Insgesamt ist dieses Verfahren bei den Investitionskosten vergleichbar oder günstiger als andere Verfahren (Ozonung, PAK und GAK-Anwendungen) und bietet eine höhere Reinigungsleistung hinsichtlich der ARG. Bei den Betriebskosten schlagen die Kosten für Energie und PAK zu buche. Mit Bruttobetriebskosten von < 0,1 €/m<sup>3</sup> sind dieser aber auch in einem vergleichbaren Rahmen mit anderen Verfahrenstechniken.

---

## Inhaltsverzeichnis

---

|  |             |
|--|-------------|
| <b>Projektkennblatt</b> .....  | <b>ii</b>   |
| <b>Inhaltsverzeichnis</b> .....  | <b>ii</b>   |
| <b>Abbildungsverzeichnis</b> .....   | <b>iv</b>   |
| <b>Tabellenverzeichnis</b> .....   | <b>vii</b>  |
| <b>Verzeichnis von Begriffen und Definitionen</b> .....                                    | <b>viii</b> |
| <b>Zusammenfassung</b> .....   | <b>x</b>    |
| <b>1..... Einleitung und Zielsetzung</b> .....   | <b>1</b>    |
| 1.1. Einführung.....   | 1           |
| 1.2. Zielsetzung und Arbeitspakete .....   | 1           |
| <b>2..... Versuchsanlage und Messprogramm</b> .....  | <b>3</b>    |
| 2.1. Bau und Betrieb der Versuchsanlage .....  | 3           |
| 2.2. Analysenprogramm und Methoden .....   | 5           |
| 2.2.1. Standardanalysen zum Betrieb der Anlage .....                                       | 5           |
| 2.2.2. Analyse der 48-Mischproben auf Spurenstoffe und weitere Abwasserparameter .....     | 5           |
| 2.2.3. Methode zur Bestimmung der ARG.....   | 5           |
| <b>3..... Ergebnisse</b> .....   | <b>7</b>    |
| 3.1. Vorarbeiten für den Anlagenbetrieb / Abwassercharakterisierung .....                  | 7           |
| 3.1.1. Auswahl der Aktivkohle .....  | 7           |
| 3.1.2. Adsorptionsversuche.....  | 8           |
| 3.1.3. Ergebnisse Adsorptionsversuche .....  | 9           |
| 3.1.4. Abrasionsversuche.....  | 9           |
| 3.1.5. Ergebnisse der Abrasionsversuche.....   | 11          |
| 3.1.6. Auswahlkriterien und Bewertung der PAK.....   | 14          |
| 3.1.7. Spurenstoffmessungen .....  | 16          |
| 3.1.8. Bestimmung von ARG.....   | 18          |
| 3.2. Verfahrenstechnische Optimierung (AP 1) .....   | 21          |
| 3.2.1. TS-Optimierung (AP 1.1).....  | 23          |
| 3.2.2. Fluss- und Luftmengenoptimierung (AP 1.2 und 1.3) .....                             | 25          |
| 3.2.3. Optimierung chemische Reinigung (AP 1.5).....                                       | 28          |
| 3.3. Beprobung der Versuchsanlage (AP 2).....  | 30          |
| 3.3.1. Standardanalytik .....  | 30          |
| 3.3.2. Spurenstoffentfernung.....  | 38          |
| 3.3.3. Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien und Resistenzgenen .....                 | 41          |
| 3.4. Beprobung der Kläranlage und Laborversuche (AP 3) .....                               | 54          |
| 3.4.1. Expositionswahrscheinlichkeit gegenüber klinisch relevanten ARG der Kläranlage..... | 56          |
| 3.5. Wirtschaftlichkeit und Upscaling (AP 4).....  | 57          |
| 3.5.1. Herausforderungen beim Betrieb der Versuchsanlage .....                             | 57          |
| 3.5.2. Leistungsfähigkeit der Membranfiltration .....                                      | 57          |

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| 3.5.3. Bemessung.....         | 58        |
| 3.5.4. Kosten.....            | 59        |
| 3.5.5. Umweltbelastungen..... | 60        |
| <b>4..... Fazit.....</b>      | <b>62</b> |
| <b>5..... Literatur .....</b> | <b>64</b> |
| <b>6..... Anhang .....</b>    | <b>67</b> |

## Abbildungsverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 1: Versuchsanlage zur Phosphat-, Spurenstoff- und Keimreduktion .....   | 3  |
| Abbildung 2: Verfahrensschema der PAK/UF-Versuchsanlage .....   | 4  |
| Abbildung 3: Ergebnisse der Adsorptionsanalyse ( $\text{DOC}_0 = 7,6 \text{ mg/l}$ ) .....  | 8  |
| Abbildung 4: Aufbau Adsorptions-Schüttelversuche (links) PAK-Konzentrationen (rechts) .....   | 8  |
| Abbildung 5: $\text{SAK}_{254}$ -Adsorption PAK-Produkte.....   | 9  |
| Abbildung 6: Membran-Stanzling (links) Spannvorrichtung für Rüttelversuch (rechts).....   | 9  |
| Abbildung 7: Aufbau Rührversuch.....  | 10 |
| Abbildung 8: Filtrations-Teststand.....   | 10 |
| Abbildung 9: Permeabilitätsveränderungen durch Abrasionsversuche .....  | 12 |
| Abbildung 10: Rückhaltmessung nach den Abrasionsversuchen anhand des TOC .....  | 13 |
| Abbildung 11: Lichtmikroskop-Aufnahme Membran-Stanzling Rührversuch PAK 4 (20 g/l) .....  | 14 |
| Abbildung 12: Summierte Konzentration verschiedener Spurenstoffgruppen im Zulauf und Ablauf der Kläranlage (a) (b).....   | 17 |
| Abbildung 13: Konzentration ausgewählter Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage mit Vergleich der entsprechenden Umweltqualitätsnorm (UQN) bzw. des PNEC (predicted no effect concentration)-Wertes (Ökotox 2020) ASP = Amisulprid; BTA = Benzotriazol; $\Sigma 4/5$ -BTA = $\Sigma 4/5$ -Benzotriazol; CST = Candesartan; CBZ = Carbamazepin; CIT = Citalopram; CTH = Clarithromycin; DCF = Diclofenac; HTC = Hydrochlorothiazid; IBS = Irbesartan; MET = Metoprolol; SMX = Sulfamethoxazol; VLF = Venlafaxin ..... | 17 |
| Abbildung 14: DNA-Konzentration in ng/ $\mu\text{l}$ des Zuflauf der Pilotanlage unter Verwendung mit drei verschiedenen Extraktionskits: Fast SPIN DNA Kit (FS), Power Water Sterivex Kit (PW) und Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit (MA) .....   | 19 |
| Abbildung 15: DNA Konzentration in Abhängigkeit zu dem filtrierten Volumen der Probe und den jeweiligen DNA Extraktionskits: Fast SPIN DNA Kit (FS), Power Water Sterivex Kit (PW) und Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit (MA). N.D = Nicht detektierbar. ....  | 20 |
| Abbildung 16: (Links) Konzentration der ARG Reads im UF-Permeat (links). Log (10) Reduktion von ARG, bestimmt im UF-Permeat relativ zum Zulauf zur Pilotanlage (rechts). ....   | 20 |
| Abbildung 17: ARG-Konzentrationen (angegeben als Reads pro Liter, d.h. die Anzahl der Reads, die mit einem ARG in 1 Liter Probe gefunden wurden) aller 50 am häufigsten vorkommenden ARG, in den Proben vom 29.04.2021 bis 10.06.2021 im Zulauf des Piloten (KA_Ablauf) und Permeat (UF_Ablauf). ....   | 21 |
| Abbildung 18: Übersichtsdiagramme des gesamten Betriebszeitraums der PAK/UF-Versuchsanlage, die Zuflüsse und die Temperatur (oben), die Betriebsparameter Transmembrandruck, Permeabilität und Luftvolumenstrom (Mitte), die Zeitpunkte der Reinigungen (Mitte) und die PAK-Dosierung und der TS-Gehalt (unten). ....   | 22 |
| Abbildung 19: Ergebnisse Untersuchungen TS-Gehalte zwischen 2 und 8 g/l .....   | 24 |
| Abbildung 20: Ergebnis Flussuntersuchung 15 l/(m <sup>2</sup> ·h) bei unterschiedlichen Luftvolumenströmen .....  | 26 |
| Abbildung 21: Ergebnis Flussuntersuchung 20 l/(m <sup>2</sup> ·h) .....   | 26 |
| Abbildung 22: Ergebnis Flussuntersuchung 25 l/(m <sup>2</sup> ·h) .....   | 27 |
| Abbildung 23: Ergebnis Flussuntersuchung 30 l/(m <sup>2</sup> ·h) .....   | 27 |
| Abbildung 24: Ablaufschema Intensivreinigung.....   | 28 |
| Abbildung 25: Reinigungserfolg der Intensivreinigung.....   | 29 |
| Abbildung 26: Relativer Reinigungserfolg mit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> im Vergleich zu NaOCl .....  | 30 |
| Abbildung 27: CSB-Analysen Feed und Permeat.....  | 31 |
| Abbildung 28: TOC-Analysen Feed und Permeat .....   | 32 |
| Abbildung 29: $\text{SAK}_{254}$ -Analytik Feed und Permeat .....   | 33 |

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 30: P <sub>ges</sub> -Analytik Feed und Permeat .....   | 34 |
| Abbildung 31: P <sub>ges</sub> -Analytik Feed und Permeat mit angepasster Fällmitteldosierung .....   | 35 |
| Abbildung 32: PO <sub>4</sub> -P-Analytik Feed und Permeat .....  | 36 |
| Abbildung 33: PO <sub>4</sub> -P-Analytik Feed und Permeat mit angepasster Fällmitteldosierung.....   | 37 |
| Abbildung 34: Summe der Konzentration der untersuchten Spurenstoffe im Zulauf sowie Ablauf der Kläranlage (KA) (a) und relative Entfernung einer Auswahl der Spurenstoffe nach der Schweizer Liste sowie nach der Auswahl des Kompetenzzentrums Baden-Württemberg durch die konventionelle Abwasserbehandlung (b) .....   | 39 |
| Abbildung 35: Relative Entfernung einer Auswahl von Spurenstoffe nach der Schweizer Liste und der Auswahl des Kompetenzzentrums Baden-Württembergs in Abhängigkeit der PAK-Dosis in mg/L (a) und in mg PAK/mg DOC (b) durch die Versuchsanlage mit zwei verschiedenen getesteten PAK .....  | 39 |
| Abbildung 36: Verhältnis der relativen Entfernung des spektralen Absorptionskoeffizienten bei 245nm (SAK <sub>254</sub> ) zur relativen Entfernung der Auswahl der Spurenstoffen nach der Schweizer Liste sowohl für PAK 4 als auch PAK 12 (a) sowie dem Verhältnis zwischen der relativen SAK <sub>254</sub> - Entfernung sowie der relativen Entfernung einzelner Spurenstoffe (b).....   | 40 |
| Abbildung 37: Abhängigkeit der Entfernung der Spurenstoffe nach der Schweizer Liste vom Trockensubstanzgehalt im Reaktor für PAK 4 (a) und PAK 12 (b) sowie Abhängigkeit der Spurenstoffentfernung vom Schlammalter im Reaktor für PAK 4 (c) und PAK 12 (d). Blasengröße: TS-Gehalt = 1,6 – 8,0 g/l; Schlammalter = 17 – 25 d .....   | 41 |
| Abbildung 38: (A) ARG-Konzentration der 24-h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben. (B) Anzahl der Antibiotikaklassen der 24-h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die Anzahl der nachgewiesenen Antibiotikaklassen sind in Anzahl pro 1 mL angegeben. .... | 42 |
| Abbildung 39: Boxplot der dominanten 10 ARGs jeder 24 h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Auf der x-Achse ist der prozentuale Anteil der dominanten ARGs pro Probe aufgetragen und auf der y-Achse die ARGs. Die Farbe entspricht der Antibiotikaklasse des Gens.....  | 44 |
| Abbildung 40: Log Reduktion der ARGs in 24 h Mischproben vom Zulauf zum Ablauf und vom Ablauf zum Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 30.06.2022 bis 04.07.2022. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet. ....  | 45 |
| Abbildung 41: Prozentualer Anteil der ARG in den unterschiedlichen Antibiotikaklassen in den 24 h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 30.06.2022 bis 04.07.2022. Der prozentuale Anteil wurde auf Grundlage der gemessenen Gesamt-Reads pro Probe berechnet. ....   | 46 |
| Abbildung 42: Venn-Diagramme der ARGs der Intensivmesswoche (30.06-04.07.22) nach Probenahmestelle dargestellt. (A) Zulauf-Proben, (B) Ablauf-Proben, (C) Permeat-Proben. Mit zunehmender Blaufärbung ist eine höhere Anzahl an ARGs dargestellt. Es wurden alle ARGs mit einer relativen Abundanz <1 % dargestellt.....  | 47 |
| Abbildung 43:(A) ARG-Konzentration der genommenen Stichproben zwischen 6 und 18 Uhr vom Zulauf, Ablauf und Permeat zu der ersten und zweiten Probenahme. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben. (B) Anzahl der unterschiedlichen ARGs der Stichproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat zu der ersten und zweiten Probenahme. Die Anzahl der unterschiedlichen ARGs sind in Anzahl in 1 mL Probe angegeben. ....                                     | 48 |

|   |    |
|---|----|
| Abbildung 44: Log Reduktion der ARG in 24 h Mischproben vor und nach der chemischen Reinigung an den Probenahmestellen vom Ablauf. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet. In (A) ist der untersuchte Zeitpunkt vom 10-11.01.2023 dargestellt und in (B) der vom 07-08.02.2023.....   | 49 |
| Abbildung 45: Log Reduktion der ARGs in 24 h Mischproben und Stichproben vom Zulauf zum Ablauf und vom Ablauf zum Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet. ....  | 50 |
| Abbildung 46: Boxplot der dominanten 10 ARGs der 24 h Mischproben und Stichproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Auf der x-Achse ist die relative Abundanz in % aufgetragen und auf der y-Achse die dominanten ARGs.....  | 51 |
| Abbildung 47: Anteil der Plasmid-basierten und nicht Plasmid-basierten ARG in % pro Probe vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. In Rot sind die nicht Plasmid-basierten ARG und in Türkis die Plasmid-basierten ARG dargestellt. ....  | 52 |
| Abbildung 48: Venn-Diagramm der Plasmid-basierten ARG, aufgeschlüsselt nach Zulauf, Ablauf und Permeat, Untersucht wurden dabei die 24h Mischproben der monatlichen Messkampagne im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023.....  | 53 |
| Abbildung 49: Boxplot der ARG Konzentration in Reads/ml der Stichproben vom Tagesgang (01.03.2023) nach den Probenahmestellen. Für eine bessere Darstellung wurden die Proben vom Zulauf mit einer separaten Achsenskalierung aufgeführt. ....  | 53 |
| Abbildung 50: ARG-Konzentration der genommenen Proben vom Zulauf der Kläranlage, Denitrifikation-Zone aus der Belebung, Nitrifikation-Zone aus der Belebung, Hauptverteilerbauwerk, Rücklaufschlamm und Ablauf der Kläranlage zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben. ....   | 54 |
| Abbildung 51: Prozentualer Anteil der Antibiotikaklassen der genommenen Proben vom Zulauf der Kläranlage, Denitrifikation-Zone aus der Belebung, Nitrifikation-Zone aus der Belebung, Hauptverteilerbauwerk, Rücklaufschlamm und Ablauf der Kläranlage zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Die relative Abundanz ist anhand der gemessenen Gesamt Reads pro Probe berechnet worden. ....  | 55 |
| Abbildung 52: (A) Prozentualer Anteil der nachgewiesenen risikobehafteten ARG in den genommenen Proben vom Zulauf, Rücklaufschlamm, Ablauf und Permeat zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Ja (schwarz) zeigt an, dass die ARG nachgewiesen wurden, Nein (Blau), dass sie nicht in den Proben detektiert wurden. (B) Boxplot der ARG für die Risikoanalysen der genommenen Proben vom Zulauf, Rücklaufschlamm, Ablauf und Permeat zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Auf der x-Achse ist die Konzentrationen der ARG in Reads/ml angeben und auf der y-Achse die ARG. .... | 56 |
| Abbildung 53: Einfluss der angenommenen Industrie-Fremdschlämme auf die Permeabilität der Membranen (normiert auf 20°C). Durch die Entwässerung der Schlämme gelangt das Schlammwasser über die Rückbelastung in die biologische Stufe der Kläranlage. ....   | 57 |

---

## Tabellenverzeichnis

---

|   |    |
|---|----|
| Tabelle 1: Volumina und Betriebsmittel der Versuchsanlage.....                | 4  |
| Tabelle 2: Online-Messtechnik der Versuchsanlage .....                        | 4  |
| Tabelle 3: Übersicht PAK-Produkte und Spezifikationen/Herstellerangaben ..... | 7  |
| Tabelle 4: Bewertungsmatrix PAK-Auswahl .....                                 | 15 |
| Tabelle 5: Übersicht Betriebsdaten .....                                      | 23 |
| Tabelle 6: Betriebseinstellungen Untersuchungen TS-Gehalte .....              | 24 |
| Tabelle 7: Betriebseinstellungen Fluss- und Luftvolumenoptimierung .....      | 25 |
| Tabelle 8: Ablauf chemische Zwischenreinigung.....                            | 28 |
| Tabelle 9: Ergebnisse CSB-Analytik .....                                      | 31 |
| Tabelle 10: Ergebnisse TOC-Analytik .....                                     | 32 |
| Tabelle 11: Ergebnisse SAK <sub>254</sub> -Analytik.....                      | 34 |
| Tabelle 12: Ergebnisse P <sub>ges</sub> -Analytik.....                        | 35 |
| Tabelle 13: Ergebnisse PO <sub>4</sub> -P-Analytik.....                       | 37 |
| Tabelle 14: untersuchte Varianten .....                                       | 58 |
| Tabelle 15: Bemessungswerte für eine großtechnische Auslegung .....           | 58 |
| Tabelle 16: Bemessungsergebnisse für die großtechnische Anwendung.....        | 59 |
| Tabelle 17: Pulverativkohledosierung .....                                    | 59 |

## Verzeichnis von Begriffen und Definitionen

|                       |   |
|-----------------------|---|
| $\Sigma$ 4/5-BTA      | $\Sigma$ 4/5- Benzotriazol  |
| ARB                   | Antibiotika-resistente Bakterien                                    |
| ARG                   | Antibiotika-resistenz Gene  |
| ASP                   | Amisulprid  |
| BG                    | Bestimmungsgrenze   |
| BTA                   | Benzotriazol  |
| CBZ                   | Carbamazepin  |
| CIP                   | Cleaning-in-place   |
| CIT                   | Citalopram  |
| CSB                   | Chemischer Sauerstoffbedarf   |
| CST                   | Candesartan   |
| CTH                   | Clarithromycin  |
| DCF                   | Diclofenac  |
| DNA                   | Dinukleinsäure  |
| DOC                   | gelöster organischer Kohlenstoff                                    |
| <i>E. coli</i>        | <i>Escherichia Coli</i>   |
| EW                    | Einwohnerwerte  |
| FM                    | Fällmittel  |
| FS                    | Fast SPIN DNA Kit   |
| h_da                  | Hochschule Darmstadt  |
| HKW                   | Hauptklärwerk   |
| HPLC-MS               | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie        |
| HTC                   | Hydrochlorothiazid  |
| IBS                   | Irbesartan  |
| JAM                   | Jahresabwassermenge   |
| MA                    | Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit                              |
| MET                   | Metoprolol  |
| MS                    | Massenspektrometrie   |
| PAK                   | Pulveraktivkohle  |
| PNEC                  | predicted no effect concentration)                                  |
| PW                    | Power Water Sterivex Kit  |
| $Q_{\text{Bem}}$      | Bemessungsabfluss zur Versuchsanlage                                |
| $Q_L$                 | Luftvolumenstrom der Versuchsanlage                                 |
| $Q_M$                 | Mischwasserzufluss zur Kläranlage                                   |
| $Q_{\text{Spur}}$     | Bemessungszufluss für die Spurenstoffelimination auf der Kläranlage |
| $Q_{T,\text{max},85}$ | maximale Trockenwetterabfluss                                       |
| SAK                   | spektraler Absorptionskoeffizient                                   |
| SMX                   | Sulfamethoxazol   |
| TMP                   | Transmembrandruck   |
| TOC                   | gesamten organischen Kohlenstoff                                    |
| TS                    | Trockensubstanz   |
| TUDa                  | TU-Darmstadt  |
| ÜS                    | Überschussschlamm   |
| UF-Membran            | Ultrafiltrationsmembran   |
| UQN                   | Umweltqualitätsnormen   |

|                      |  |
|----------------------|--|
| VE-Wasser            | Vollentsalztes Wasser  |
| VLf                  | Venlafaxin   |
| $V_{\text{Reaktor}}$ | Kontaktreaktor   |
| WHO                  | Weltgesundheitsorganisation  |
| $\beta$ -Wert        | die erforderliche, zu dosierende Fällmittelmenge bezogen auf den zu fällenden Phosphor |

---

## Zusammenfassung

---

Die Gewässerbelastung mit anthropogenen Spurenstoffen und Antibiotika resistenten Krankheitserregern hat in den letzten Jahren stetig zugenommen. Kläranlagen stellen für diese wassergängige Schadstoffe einen möglichen Eintragspfad dar. Ziel dieses Projektes war es daher, vertiefte Kenntnisse über den Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien (ARB) und Resistenzgenen (ARG) mit einer Kombination aus Ultrafiltration (UF) und Pulveraktivkohle (PAK)-Dosierung auch für die Spurenstoffreduktion zu generieren. Das Projekt verfolgte einen integrierten Ansatz, bei dem die vierte Reinigungsstufe zur Spurenstoffelimination direkt mit einer fünften Stufe für die Reduktion von ARB/ARG kombiniert wurde. Das Projekt verfolgte dazu drei Forschungsfragen:

1. Abtrennung von ARB und ARG mit Ultrafiltration – was kann die Technologie leisten?
2. Verfahrenstechnische Entwicklung
3. Wirtschaftlichkeit und Abwasserabgabe

Für das Projektes wurde in Zusammenarbeit mit den Entsorgungsbetrieben der Landeshauptstadt Wiesbaden (ELW) auf dem Hauptklärwerk (HWK) Wiesbaden (ca. 300.000 EW) eine von der Firma MANN+HUMMEL Water & Fluid Solutions (M+H) bereitgestellte Pilotanlage betrieben. Die Pilotanlage wurde mit Ablauf der Nachklärung beschickt und bestand aus PAK-Dosierung und Membranfiltration. Für eine bessere Übertragbarkeit wurde ein großtechnisches Modul verwendet.

In zusätzlichen Laborversuchen wurden 13 verschiedene Pulveraktivkohlen auf ihre Adsorptionsleistung und mögliche Auswirkungen auf die Membran getestet. Eine PAK wurde basierend auf Kriterien wie Spurenstoffreduktion und CO<sub>2</sub>-Fußabdruck ausgewählt. Lufteintrag und chemische Reinigung der Membran wurden ebenfalls optimiert.

Um die Effizienz der ARG- und Spurenstoffreduktion zu bewerten, wurden Referenzmessungen an der Kläranlage durchgeführt. Etwa 50% der Spurenstoffe im Ablauf lagen oberhalb der Bestimmungsgrenzen, und die Konzentration im Ablauf lag in Summe bei 118 µg/l. Die ARG-Reduktion betrug insgesamt 1 Log-Stufe in der Kläranlage und ca. 3 Log-Stufen in der Pilotanlage.

Langzeitdaten zeigten eine verbesserte Entfernung von ARG und Spurenstoffen durch die Pilotanlage. Die vorherrschende Antibiotikaklasse war die der multiresistenten ARG. Die PAK hatte jedoch keinen Einfluss auf die ARG-Reduktion. Die Reduktion der Spurenstoffe mittels PAK betrug über 80%. Unterschiede wurden bei der PAK-Dosierung und dem PAK-Typ festgestellt. PAK 12 benötigte 30% weniger Aktivkohle, um 80% der Spurenstoffe zu entfernen. Als Überwachungsparameter wurde der SAK<sub>254</sub> untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass Benzotriazol zu über 90% und Amidotrizoensäure nur maximal zu 30% entfernt wurden. Die Betriebsbedingungen der Pilotanlage hatten keinen wesentlichen Einfluss auf die ARG- und Spurenstoffentfernung.

Für die Bewertung der ARG-Reduktionsleistung wurden die Probenahme und die Auswahl der ARG detailliert betrachtet. Dazu wurden auch Tages- und Wochengänge der ARG-Konzentrationen ermittelt und ausgewertet. Der Anteil Plasmid-basierter ARG variierte zwischen den Probenahmestellen. Insgesamt wurden 45 Plasmid-basierte ARG detektiert, die nicht vollständig entfernt wurden. Die ARG-Konzentration im Retentat betrug  $4 \times 10^4$  Reads/ml, im Zulauf  $7 \times 10^6$  Reads/ml und im Ablauf  $1 \times 10^5$  Reads/ml. Von den 37 untersuchten klinisch relevanten ARG wurden maximal 10 in allen Proben detektiert. Das Auftreten von riskanten ARG nahm mit dem Klärprozess ab und das Expositionsrisiko reduzierte sich deutlich.

Die Ergebnisse des Projekts zeigten, dass die Implementierung eines weitergehenden mit PAK und UF-Membran dazu beiträgt, ARG und Spurenstoffe deutlich zu reduzieren und gleichzeitig auch hohe Eliminationsleistungen bei den Abwasser-Standardparametern (insbesondere CSB und Phosphor) zu erreichen, die sogar eine Befreiung von der Abwasserabgabe ermöglichen. Das Verfahren wurde energetisch optimiert, weist aber mit dem Wiesbadener Abwasser einen geringen Betriebsfluss auf (Energiebedarf eher hoch mit 0,1 kWh/m<sup>3</sup> für die UF). Die Reinigungen der Membran wurden optimiert, um den Chemikalienbedarf zu reduzieren.

Insgesamt ist dieses Verfahren bei den Investitionskosten vergleichbar oder günstiger als andere Verfahren (Ozonung, PAK und GAK-Anwendungen) und bietet eine höhere Reinigungsleistung hinsichtlich der ARG. Bei den Betriebskosten schlagen die Kosten für Energie und PAK zu buche. Mit Bruttobetriebskosten von < 0,1 €/m<sup>3</sup> sind dieser aber auch in einem vergleichbaren Rahmen mit anderen Verfahrenstechniken.

---

## 1. Einleitung und Zielsetzung

---

### 1.1. Einführung

Die Belastung der Gewässer mit anthropogenen Spurenstoffen, (Antibiotika resistenten) Krankheitserregern und Mikroplastik hat aufgrund menschlicher Aktivitäten und der fortschreitenden Urbanisierung deutlich zugenommen. In den letzten Jahren sind diese Stoffgruppen aufgrund der zunehmenden Beobachtungen von Umweltauswirkungen verstärkt in den Fokus der Öffentlichkeit gerückt. Kläranlagen stellen für wassergängige Schadstoffe einen möglichen Eintragspfad dar und werden deshalb vermehrt auf ihr Eintragspotential untersucht. Auch wenn es derzeit noch keine Überwachungswerte für Spurenstoffe, resistente Keime und Mikroplastik für Kläranlagen gibt, wird die Einführung einer weitergehenden (vierten) Reinigungsstufe zur Elimination dieser Stoffe intensiv diskutiert, da die langfristigen Auswirkungen auf Gewässerökosysteme und den Menschen vor allem in Bezug auf den Eintrag und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen noch bei weitem nicht ausreichend verstanden sind.

Neben reinen Membranstufen die nachgeschaltet installiert werden, können kombinierte Verfahren zum Einsatz kommen und bei entsprechender Leistungsfähigkeit die vierte und fünfte Stufe zur Elimination von Spurenstoffen und Antibiotika-resistenten Bakterien (ARB) und Genen (ARG) vereinen. Bisher gibt es wenige Erfahrungswerte mit dem Betrieb solcher Anlagen. Die Firma MANN+HUMMEL Water & Fluid Solutions GmbH (Vormals: Microdyn-Nadir GmbH) entwickelt derzeit ein membrangestütztes Pulveraktivkohleverfahren (PAK) zur Spurenstoffelimination welches durch den Einsatz einer UF Membran zusätzlich eine Abtrennung von Keimen und somit ARB/ARG beinhalten soll. Dieses Verfahren wurde bereits im Pilotmaßstab auf den Kläranlagen in Hünxe (NRW), Griesheim (Hessen) und in Weiterstadt (Hessen) erprobt. Die ersten Ergebnisse sind sowohl hinsichtlich der Leistungsfähigkeit als auch der Wirtschaftlichkeit vielversprechend. Die Abscheideleistung von ARB/ARG ist jedoch noch wenig erforscht. Hier setzt dieses Projekt an, bei dem neben einer weiteren verfahrenstechnischen Optimierung und einer Betrachtung der Spurenstoffreduktion insbesondere die ARB/ARG Konzentrationen vor und nach dieser PAK/UF Stufe genauer untersucht und bewertet werden sollen.

### 1.2. Zielsetzung und Arbeitspakete

Die Entsorgungsbetriebe der Landeshauptstadt Wiesbaden (ELW) betreiben zwei Kläranlagen, darunter das Hauptklärwerk mit mehr als 300.000 Einwohnerwerten (EW). Diese Kläranlage bietet ideale Versuchsbedingungen (Aufstellung und Betreuung der Pilotanlage, Laborinfrastruktur) um die Versuche durchzuführen.

Ziel dieses Projektes ist es vertiefte Kenntnisse insbesondere über den Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien und Resistenzgenen zu liefern. Dieser Ansatz geht über die meisten bisherigen Bemühungen hinaus, die sich ausschließlich mit dem Thema Spurenstoffreduktion beschäftigen. Das Projekt verfolgt einen integrierten Ansatz, bei dem über die vierte Reinigungsstufe zur Spurenstoffelimination hinausgegangen wird. Dabei wird eine direkte Integration einer fünften Stufe für die Reduktion von Spurenstoffen in Kombination mit ARB/ARG betrachtet, um nicht nachsorgend doppelt investieren zu müssen.

Eine Verfahrenskombination mit Membrantechnik ist für den Rückhalt von ARB/ARG nur dann sinnvoll, wenn die Membran die letzte Behandlungsstufe darstellt. Somit bietet die hier zu untersuchende Verfahrenstechnik gegenüber granulierter Aktivkohle den Vorteil vor / in Kombination mit der Membran eingesetzt werden zu können. Mit diesem Konzept wird eine sehr flexibel Betriebsweise durch die angepasste Dosierung von PAK möglich und gleichzeitig stellt die Membran die Barriere für den Rückhalt der PAK und der ARB/ARG dar. Die Ziele des Vorhabens begründen sich so auch aus den bisher nur wenigen Erfahrungen mit der Spurenstoffelimination mit dieser Verfahrenstechnik, die außerdem bisher noch nie in Kombination mit dem ARB/ARG Rückhalt getestet wurde.

Das Projekt verfolgt daher **drei Forschungsfragen**:

### **1. Abtrennung von resistenten Bakterien und Resistenzgenen mit Ultrafiltration – was kann die Technologie leisten?**

Um diese Forschungsfrage zu beantworten ist zunächst eine **Erfassung und Quantifizierung** der in der Kläranlage Wiesbaden **vorkommenden ARB/ARG** erforderlich. Dazu erfolgen Untersuchungen über die gesamte Kläranlage, im Vorfluter und an der Regenwasserentlastung um den Ist-Zustand zu erfassen. Aus diesen Messungen lässt sich ableiten, ob es z.B. in der Biologie zu einer Aufkonzentrierung von ARB/ARG kommt. Dies kann für den Umgang mit den Retentaten aus nachgeschalteten Membranstufen wichtig werden, da es gilt, Bedingungen zu vermeiden, die zu einer zusätzlichen Bildung oder Ausbreitung von Resistenzen führen könnten.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen steht die zentrale Frage der **Leistungsfähigkeit** einer **getauchten UF-Membran** zum **Rückhalt von ARB/ARG** im Mittelpunkt. Es soll untersucht werden inwieweit die hier eingesetzte Verfahrenstechnik (PAK/UF) die Konzentrationen von ARB/ARG im Ablauf der Kläranlage reduzieren kann, insbesondere mit dem Fokus auf die ARG, über deren Rückhalt bisher noch wenig bekannt ist. Bisher gibt es fast keine Daten, die unter realen Bedingungen im Durchflussbetrieb mit realem Abwasser / Schlamm durchgeführt wurden.

Als Ausblick soll zudem das **Risiko** für das Betriebspersonal **abgeschätzt werden**, da z.B. das Betriebspersonal der Kläranlage an vielen Stellen Kontakt zum belebten Schlamm hat. So stellt sich die Frage, ob aus Betreibersicht weitere Sicherheitsanforderungen, Schulungen, Einrichtungen erforderlich sind, wenn eine gewisse Konzentration an ARB/ARG auf der Kläranlage festgestellt wurde.

### **2. Verfahrenstechnische Entwicklung**

Erste Vorversuche zur direkten Abtrennung von Pulveraktivkohle mit getauchten UF-Membranen waren vielversprechend, jedoch wurde die Verfahrenstechnik bisher nur in kleinem Maßstab (25 m<sup>2</sup> im Vergleich zu Serienmembranmodulen mit 480 m<sup>2</sup>) und ohne umfangreiche Optimierungen erprobt. Deshalb wird die **verfahrenstechnische Optimierung** im Rahmen der Pilotierung mit einem Serienmembranmodul der Firma MANN+HUMMEL Water & Fluid Solutions beforscht, um Fragen bezüglich des Luftbedarfs (Crossflow-Strömung), der Reinigungsintervalle, der Leistungsfähigkeit (spezifischer Fluss) und des Energiebedarfs zu beantworten. Diese Optimierungen werden in Kombination mit den Untersuchungen zur Reduktion der Spurenstoffe und ARB/ARG durchgeführt.

### **3. Wirtschaftlichkeit und Abwasserabgabe**

Nachgeschaltete, weitergehende Verfahren müssen sich neben den technischen Anforderungen auch an Kriterien zur Wirtschaftlichkeit messen lassen. Daher sollen im Rahmen der Pilotierung Erfahrungen gemacht werden, die für den Betreiber eine Aussage zur Wirtschaftlichkeit einer großtechnischen Anlage (nach Upscaling) hinsichtlich der Jahreskosten (Investitionen, Personal, Betriebsmittel) sowie zur Erreichung von einer evtl. Abwasserabgabefreiheit ermöglichen. Dazu muss die **Bewertung** der Pilotanlage auch **im Kontext** einer **weitgehenden CSB Elimination und P-Elimination** erfolgen. Hier stellt vor allem der Membranbetrieb eine Herausforderung dar.

---

## 2. Versuchsanlage und Messprogramm

---

### 2.1. Bau und Betrieb der Versuchsanlage

Die Versuchsanlage wurde von WEBER Ingenieure (vormals UNGER Ingenieure) in enger Zusammenarbeit mit allen Projektpartnern geplant, mit dem Bau wurde die Firma Envirochemie beauftragt. Die Aufstellung der Versuchsanlage erfolgte im März / April 2021 auf dem Hauptklärwerk Wiesbaden. Die Anlage besteht aus insgesamt drei Containern: einem Membran-Container in dem der Kontaktreaktor mit der Ultrafiltrationsmembran untergebracht ist, ein PAK-Container zur Dosierung der Pulveraktivkohle (PAK) und ein Analyse-Container mit den online Messgeräten und dem Ablaufspeicher (Abbildung 1).



Abbildung 1: Versuchsanlage zur Phosphat-, Spurenstoff- und Keimreduktion

Ein Teilstrom des biologisch gereinigten Abwassers des Hauptklärwerks Wiesbaden wird im Ablaufschacht der Nachklärung mit einer Tauchpumpe entnommen und der Versuchsanlage zugeführt. Ein Teil dieses Zulaufstroms wird durch die PAK-Dosierung geleitet und anschließend mit einem statischen Mischer mit dem Abwasserstrom vermischt. Zudem wird vor einem weiteren Mischer das Fällmittel nach Bedarf zugegeben. Der Zulaufstrom wird anschließend in den Kontaktreaktor ( $V \approx 12 \text{ m}^3$ ) geleitet, in dem sowohl die P-Fällung (Ausfällung von Fällschlamm) als auch die Adsorption der Spurenstoffe an die Aktivkohle stattfinden. Der Fällschlamm, die PAK und die Keime verbleiben im Reaktor und das gereinigte Abwasser wird durch die getauchte Ultrafiltrationsmembran, die im Kontaktreaktor untergebracht ist, abgetrennt und mittels Pumpe dem Permeatbehälter zugeführt. Die Pumpe kann zur Rückspülung des Membranmoduls die Fließrichtung des Wassers umkehren.

Im Membranmodul sind unterhalb der Membranen Belüfter angebracht, um durch die aufsteigenden Luftblasen eine Strömung zum Abtransport der Feststoffe aus dem Modul zu erzeugen. Die Belüfter werden durch ein Gebläse (frequenzreguliert) mit Luft beaufschlagt. Die Membranen können voll automatisch mit Säure oder Lauge durch eine Cleaning-in-place (CIP) Reinigung von organischen oder anorganischen Belägen befreit werden. Das Anlagenschema ist in Abbildung 2 dargestellt und die Volumina und Betriebsmittel der Versuchsanlage sind in Tabelle 1 angegeben.

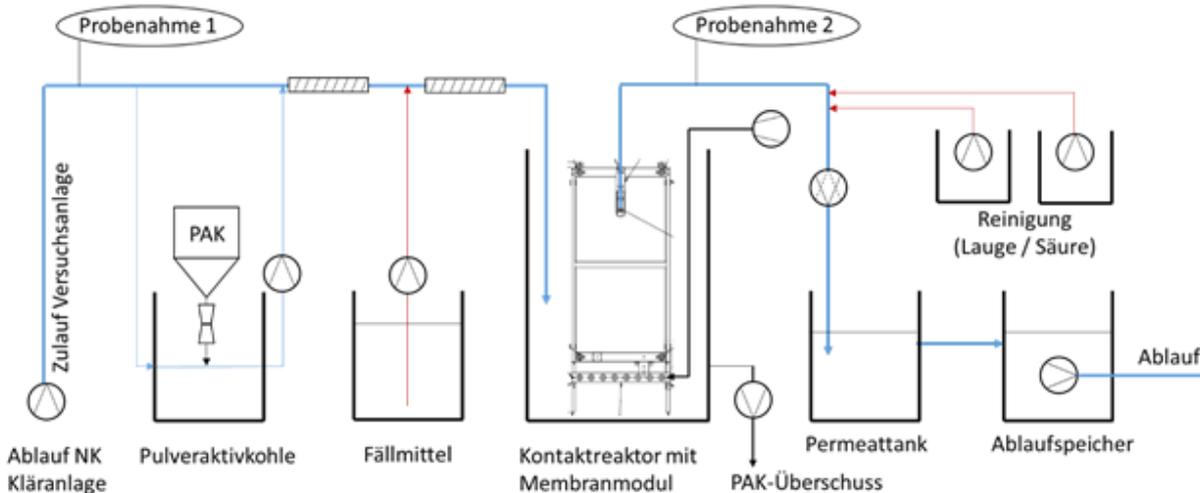


Abbildung 2: Verfahrensschema der PAK/UF-Versuchsanlage

Tabelle 1: Volumina und Betriebsmittel der Versuchsanlage

|                        |   |
|------------------------|---|
| Durchfluss             | $Q_{\text{Bem}} = 24 \text{ m}^3/\text{h}$ (spezifisch $50 \text{ L}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ )         |
| Kontaktreaktor         | $V_{\text{Reaktor}} = 12 \text{ m}^3$ bei 3,20m Füllstand   |
| Aufenthaltszeit        | $t = 30 \text{ min}$ bei $Q_{\text{Bem}}$   |
| Gebläse                | $Q_L = 25 \text{ m}^3/\text{h}$ (Normalbetrieb)<br>$Q_L = 35 \text{ m}^3/\text{h}$ (Bemessung, Peakbetrieb) |
| Membran                | BIO-CEL®-L2 mit $480 \text{ m}^2$ Membranfläche   |
| Fällmittel             | 40 % $\text{FeCl}_3$ (EnviroChemie)   |
| Pulveraktivkohle (PAK) | Donau Carbon Watercarb 800  |
| Saurer Reiniger        | Zitronensäure 50%   |
| Basischer Reiniger     | Natriumhypochlorit 12%  |

Die Anlage wird voll automatisch geregelt und kann an einem Panel vor Ort oder via Fernzugriff gesteuert werden. Alle Messwerte werden automatisch gespeichert und können zur weiteren Analyse ausgelesen werden. Im Analysecontainer sind 2 Probenahmestellen mit jeweils einem vollautomatischen Probenehmer zur Analyse von weiteren Parametern im Labor und online-Sonden installiert. In Tabelle 2 sind ist die eingesetzte Online-Messtechnik übersichtlich dargestellt.

Tabelle 2: Online-Messtechnik der Versuchsanlage

| Parameter                  | Messung / Sonde                   |
|----------------------------|-----------------------------------|
| Trübung Zulauf             | E&H Turbimax CUS52D               |
| pH Zulauf                  | E&H Memosens CPS11D Orbisint pH   |
| SAK <sub>254</sub> Zulauf  | E&H Viomax CUS51D                 |
| PO <sub>4</sub> -P Zulauf  | Hach Phosphax SC LR               |
| Trübung Ablauf             | E&H Turbimax CUS52D               |
| pH Ablauf                  | E&H Memosens CPS11D Orbisint pH   |
| SAK <sub>254</sub> Ablauf  | E&H Viomax CUS51D                 |
| PO <sub>4</sub> -P Ablauf  | Hach Phosphax SC LR               |
| pH-Permeattank             | Hach pH Sonde 1200-S              |
| TS-Gehalt Kontaktreaktor   | Hach Solitax SC                   |
| 2 automatische Probenehmer | E&H LiquiStation und WaterSam 312 |

## **2.2. Analysenprogramm und Methoden**

### **2.2.1. Standardanalysen zum Betrieb der Anlage**

Die Pilotanlage wurde anhand von 24h-Mischproben im Zu- und Ablauf wöchentlich untersucht. Neben den Standardparametern CSB (Chemischer Sauerstoffbedarf, Hach Lange GmbH LCK1414 und LCK 385), Stickstoff (N-Ges LCK138 / 338; NO<sub>3</sub>-N mittels LCK 339, NH<sub>4</sub>-N mittels LCK 304/305) und Phosphor (P-Ges und PO<sub>4</sub>-P mittels LCK348 und LCK 349) wurden weitere Analysen durchgeführt: Messung des TOC (gesamten organischen Kohlenstoff, Hach Lange LCK 386/387), Wasserhärte, pH (Hach-Lange PHC101), Leitfähigkeit, Trübung (WTW Turb 430 IR). Der spektrale Adsorptionskoeffizient bei 254 nm Wellenlänge (SAK<sub>254</sub>) wurde wöchentlich im Labor (mittels Photometer (P4 Spectrophotometer von VWR) bestimmt, um die online SAK-Sonde abzugleichen. Ebenso wurde der TS-Gehalt im Labor nach DIN 38414 gemessen, um die online TS-Sonde abzugleichen. Zur Überprüfung der Membranen wurden zudem regelmäßig *E. coli* und Gesamtcoliforme Bakterien bestimmt (Colilert 18/QuantiTray/2000, Alternativmethode nach EU Trinkwasserrichtlinie 2015/1787 gem. EN ISO-Norm 9308-2 als Referenzmethode zugelassen).

### **2.2.2. Analyse der 48-Mischproben auf Spurenstoffe und weitere Abwasserparameter**

Die 48-h-Mischproben zur Bestimmung der Spurenstoffe wurden zusätzlich mittels Küvetten-Tests (Hach Lange GmbH LCK1414 und LCK 385) auf CSB, gelösten CSB, gesamten organischen Kohlenstoff (TOC) und DOC analysiert. Der spektrale Absorptionskoeffizient wurde bei einer Wellenlänge von 254 nm mit einer 50 mm Quarzglasküvette (Hach Lange GmbH) in einem UV/Vis-Spektralphotometer (DR 6000, Hach Lange GmbH) gemessen. Zur Bestimmung der gelösten Stoffe wurden die Proben mittels Einwegspritzen (20 ml, Th. Geyer GmbH & Co.KG) und 0,45 µm Spritzenvorsatzfiltern mit einer Polyethersulfon Membran filtriert (VWR). Die Analyse von ausgewählten Spurenstoffen erfolgte durch das Technologiezentrum Wasser in Karlsruhe. Die Spurenstoffe wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS) analysiert. Der Versand erfolgte in 100 ml Braunglasflaschen, die von dem Labor zur Verfügung gestellt worden sind. Eine weitere Probenvorbereitung erfolgte nicht.

### **2.2.3. Methode zur Bestimmung der ARG**

Im Rahmen der Evaluierung des ARG-Rückhalts in der Pilotanlage wurden Im Zeitraum von Februar 2022 bis Februar 2023 mehrere Messkampagnen durchgeführt. Diese Kampagnen umfassten Probenahmen im Zulauf, im Ablauf und im Permeat der Kläranlage. Es wurden verschiedene Ansätze verfolgt, um umfassende Informationen zu erhalten. Eine monatliche Probenahme wurde durchgeführt, um kontinuierliche Daten über einen längeren Zeitraum zu sammeln. Zudem wurde eine Intensivmesswoche durchgeführt, um Veränderungen in der ARG-Zusammensetzung und -Entfernung innerhalb einer Woche zu erfassen. Ein Tagesgang-Experiment ermöglichte die Beobachtung tageszeitabhängiger Schwankungen. Darüber hinaus wurde der Einfluss der chemischen Reinigung auf die Leistung der UF-Membran bei der ARG-Entfernung untersucht. Es wurde auch analysiert, ob bzw. inwieweit die gewählte Probenahmemethode die Ergebnisse beeinflusst, indem 24 h Mischproben mit Stichproben verglichen wurden. Zusätzlich wurde untersucht, ob bestimmte Gruppen von ARG möglicherweise schlechter entfernt werden können als andere.

#### **2.2.3.1. Probenahme und Probenvorbereitung**

Es wurden Proben aus dem Zulauf der Kläranlage und aus dem Ablauf der Kläranlage entnommen; dieser Ablauf der Nachklärung war gleichzeitig der Zulauf zur Pilotanlage. Auch aus dem Ablauf der Pilotanlage wurden Proben entnommen (im Folgenden dann als Permeat bezeichnet). Für den Zulauf und den Ablauf wurden je 0,5 L Probe entnommen, für das Permeat 10-11,5 L. Die Abweichung des Volumens des Permeats im Vergleich zu den anderen Proben resultiert aus dem geringeren Vorhandensein von Biomasse im Permeat, was eine umfassende Analyse der Proben

verhindern würde. In den Kläranlagen und der Pilotanlage wurden 24 h Mischproben und Stichproben genommen. Die Proben wurden sofort ins Labor transportiert und gemäß dem unten beschriebenen Protokoll verarbeitet.

In dieser Arbeit wurden die Proben mit zwei verschiedenen Filtrationsmethoden aufbereitet: Druckfiltration und Vakuumfiltration. Die Zulaufproben wurden unter Verwendung von Stickstoff durch 0,22 µm Nitrocellulose-Filter (Millipore) druckfiltriert. Die Ablauf- und Permeatproben wurden jeweils mit einem 0,22 µm Sterivex™-Filtern (Millipore) vakuumfiltriert. Die DNA wurde anschließend mit dem FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals) gemäß den Herstellerangaben behandelt. Die endgültige DNA-Konzentration wurde mit einem Qubit 3 Fluorometric Assay (ThermoFisher Scientific) bestimmt. Die DNA wurde dann bis zur weiteren Analyse bei -20 °C gelagert.

### **2.2.3.2. Amplikon-Sequenzierung**

Die Amplikon-Sequenzierung wurde mit einem Amplikon Panel (ThermoFisher Scientific) durchgeführt, das für 815 ARG ausgelegt ist. Die Library Vorbereitung wurde mit dem Ion AmpliSeq™ Kit für Chef DL8 (ThermoFisher Scientific) durchgeführt. Die Probe wurde dann gemäß dem Protokoll Ion AmpliSeq™ Kit for Chef DL8 behandelt. Es wurden jedoch 12,06 ng DNA pro Probe verwendet und nicht 10 ng wie in der Anleitung angegeben. Die Amplifikation wurde mit einem Ion Chef™ (Ion Torrent™) durchgeführt. Es folgte die Template-Vorbereitung mit einem Ion Chef™ (Ion Torrent™) und einem Ion 510™ & 520™ & Ion 530™ Kit-Chef (Ion Torrent™). Die abschließende Sequenzierung wurde mit einem Ion 530™ Chip mit einem Ion GeneStudio S5 System (Ion Torrent™) durchgeführt.

Die aus der Sequenzierung gewonnenen Rohdaten wurden anschließend mit der CARD-Datenbank (Comprehensive Antibiotic Resistance Database, Version 3.2.5) abgeglichen. Dies ist eine bioinformatische Datenbank für Resistenzgene, ihre Produkte und die damit verbundenen Phänotypen. CARD umfasst mehr als 5000 Referenz-Sequenzen, anhand derer molekulare Sequenzen analysiert werden können (Alcock et al., 2023). Die erhaltenen Daten wurden anschließend mit R (Version 4.1.2) und R Studio (Version 2022.07.1) statistisch und grafisch analysiert.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Vorarbeiten für den Anlagenbetrieb / Abwassercharakterisierung

##### 3.1.1. Auswahl der Aktivkohle

Im Rahmen des Arbeitspakets 2.1 wurden in Vorversuchen acht PAK-Produkte verschiedener Hersteller ausgewählt und von der TU-Darmstadt (TUDa) hinsichtlich ihrer Adsorptionsleistung sowie von der Hochschule Darmstadt (h\_da) hinsichtlich ihrer Abrasionseigenschaften untersucht. Weitere fünf PAK-Produkte wurden nachträglich in den Entscheidungsprozess aufgenommen, da sie einerseits vielversprechende Adsorptionen in Versuchen der Universität Duisburg-Essen [MULNV, (2017)] erzielten und andererseits vom Kompetenzzentrum Spurenstoffe BW [Kompetenzzentrum BW, (2018)] erfolgreich getestet wurden. Tabelle 3 zeigt die näher betrachteten PAK-Produkte und weitere Spezifikationen nach Herstellerangaben.

Tabelle 3: Übersicht PAK-Produkte und Spezifikationen/Herstellerangaben

| PAK    | Rohstoff                   | Herkunft                            | Kosten in 2021<br>100-150 t | Ökologischer Aspekt                         | Härte/Form  | Referenzen                            |
|--------|----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|---|---|---------------------------------------|
| PAK 1  | k. A.                      | k. A.                               | 2.100 €/t                   | k. A.                                       | k. A.   | k. A.                                 |
| PAK 2  | Steinkohle                 | China/<br>Australien/<br>Neuseeland | 1.490 €/t                   | eigens für die PAK<br>gewonnen              | Härte: Hart, Form:<br>unregelmäßige teils<br>scharfe Bruchkanten          | Diverse<br>Anlagen                    |
| PAK 3  | Kokosnuss-<br>schalen      | Südostasien                         | 1.590 €/t                   | Nebenprodukt der<br>Plantagenwirtschaft     | Härte: sehr Hart,<br>Form: unregelmäßige,<br>teils scharfe<br>Bruchkanten | k. A.                                 |
| PAK 4  | Ligninfasern               | USA                                 | 1.480 €/t                   | Aufbereitung<br>Abfallstoff                 | Härte: sehr weich,<br>Form: rund  | keine                                 |
| PAK 5  | Holz                       | Malaysia                            | 2.100 €/t                   | Sägespäne (kein<br>FSC-Zertifikat)          | Härte: weich, Form:<br>leicht kantig                                      | Auf diversen<br>Anlagen<br>bundesweit |
| PAK 6  | Braunkohle                 | Australien                          | 1.550 €/t                   | Beiprodukt<br>Pigmentproduktion             | Härte: mittel, Form:<br>rund  |                                       |
| PAK 7  | Lignit + GAK-<br>Reaktivat | Australien<br>/Deutschland          | 1.640 €/t                   | Nebenprodukt /<br>Reaktivat                 | Härte: mittel, Form:<br>rund  | Vereinzelt<br>eingesetzt              |
| PAK 8  | Holz                       | Asien                               | 4.450 €/t                   | Hauptprodukt,<br>nachwachsender<br>Rohstoff | Härte: weich, Form:<br>leicht kantig                                      | Nur in<br>Versuchen                   |
| PAK 9  | Steinkohle                 | China                               | 1.241 €/t                   | Hauptprodukt                                | Härte: Hart, Form:<br>unregelmäßige teils<br>scharfe Bruchkanten          | Keine                                 |
| PAK 10 | Holz                       | Indien                              | 1.841 €/t                   | Hauptprodukt,<br>nachwachsender<br>Rohstoff | Härte: weich, Form:<br>leicht kantig                                      | Keine                                 |
| PAK 11 | Lignit*                    | weltweit                            | 2.620 €/t                   | Nebenprodukt*                               | Aussage nicht möglich   | Versuche mit<br>Membranen             |
| PAK 12 | Lignit*                    | weltweit                            | 2.580 €/t                   | Nebenprodukt*                               | Aussage nicht möglich   | Kommunaler<br>Einsatz                 |
| PAK 13 | Lignit*                    | weltweit                            | 1.580 €/t                   | Nebenprodukt*                               | Aussage nicht möglich   |                                       |

\*nur mündliche Aussage

### 3.1.2. Adsorptionsversuche

Zunächst erfolgte die Erstellung von Adsorptionsisothermen mit dem Abwasser der Nachklärung des HKW nach Fundneider (2020). Dafür wurde das Abwasser mit acht unterschiedlichen Aktivkohlen mit jeweils Konzentrationen zwischen 3 und 150 mg/l PAK versetzt und, um einen guten Kontakt zwischen Aktivkohle und Abwasser zu erreichen, für 48 h auf einen Horizontalschüttler platziert. Nach Ablauf der entsprechenden Kontaktzeit wurden die Proben membranfiltriert und der DOC sowie  $SAK_{254}$  ermittelt. Mittels des Programms AdsAna wurde für jede getestete Aktivkohle der DOC in fünf Fraktionen unterschiedlicher Adsorbierbarkeit eingeteilt, wodurch eine erste Einschätzung der jeweiligen Aktivkohle für die Eignung zum Einsatz in der weitergehenden Reinigungsstufe möglich ist. Dabei ließen sich insbesondere für die Aktivkohlen PAK 1, PAK 2, PAK 4, PAK 5 und PAK 6 eine große Fraktion an gut ( $K = 100$ ) und sehr gut ( $K = 180$ ) adsorbierbaren DOC und damit eine gute Eignung für das getestete Abwasser nachweisen (Abbildung 3).

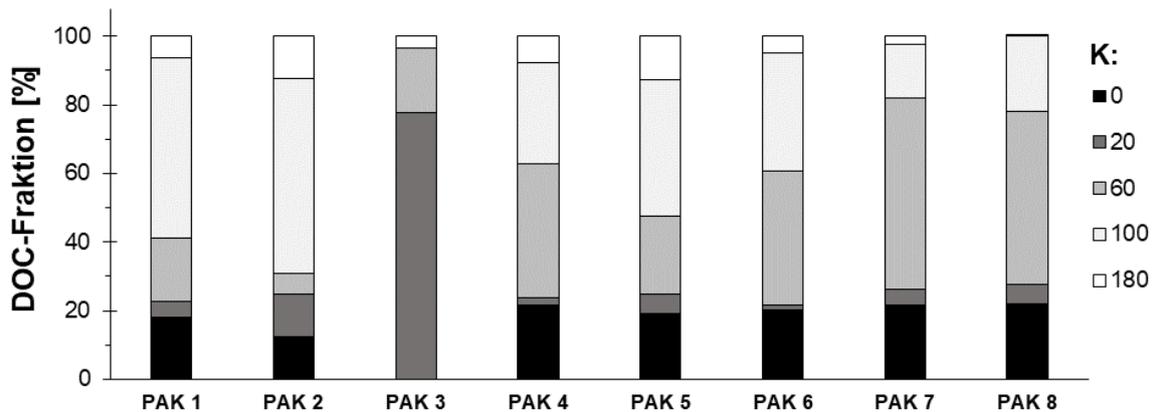


Abbildung 3: Ergebnisse der Adsorptionsanalyse ( $DOC_0 = 7,6 \text{ mg/l}$ )

In einem anschließenden Adsorptionsversuch wurden diese fünf Aktivkohlen sowie die weiteren Aktivkohlen aus Tabelle 3 untersucht. Hierbei wurden Konzentrationen von 5 bis 50 mg/l PAK bei Kontaktzeiten von 0,5 bis 24h untersucht und anhand der erreichbaren  $SAK_{254}$ -Reduktion bewertet. Dieser Versuch wurde in Anlehnung an Versuche der Universität Duisburg-Essen durchgeführt, da dort mittels der  $SAK_{254}$ -Reduktion sehr gute Korrelationen zur Elimination von Spurenstoffen nachgewiesen werden konnten. Der Versuchsaufbau der Schüttelversuche sowie die unterschiedlichen getesteten PAK-Konzentrationen sind in Abbildung 4 zu sehen.

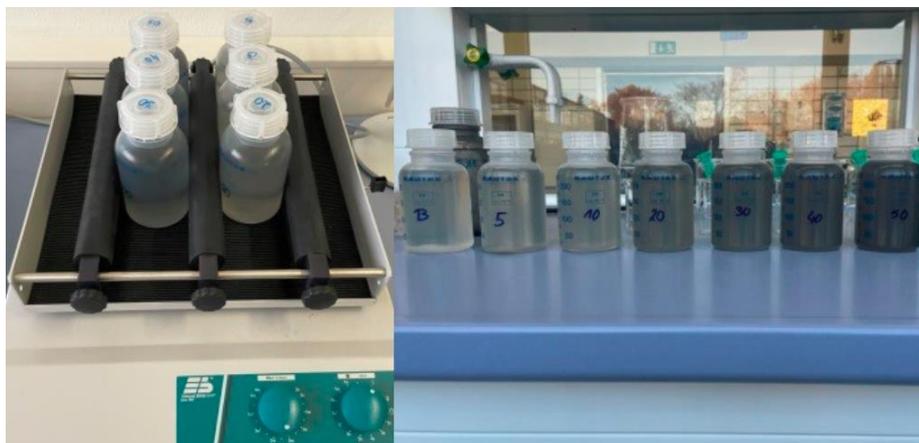


Abbildung 4: Aufbau Adsorptions-Schüttelversuche (links) PAK-Konzentrationen (rechts)

### 3.1.3. Ergebnisse Adsorptionsversuche

Die erzielten  $SAK_{254}$ -Eliminationsgrade, gemittelt über alle Messwerte, sind in Abbildung 5 für alle untersuchten Kohlen mit der Abwasserprobe vom Ablauf der Nachklärung des HKW Wiesbaden gezeigt.

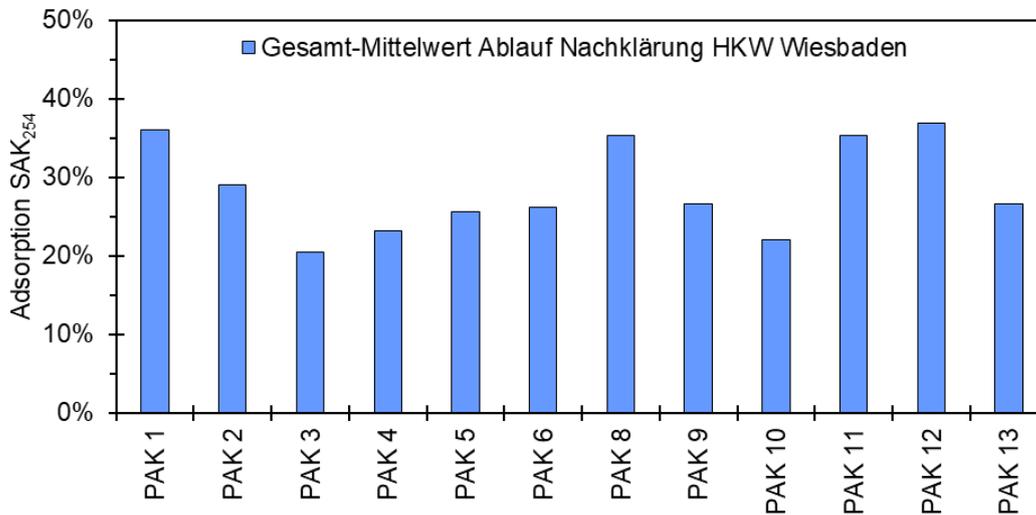


Abbildung 5:  $SAK_{254}$ -Adsorption PAK-Produkte

Die Analyseergebnisse zeigen, dass die höchsten Werte für die Adsorption durch die Kohlen „PAK 1“, „PAK 2“ und „PAK 8“, „PAK 11“ sowie „PAK 12“ erzielt wurden. Im Mittelfeld lagen die Produkte „PAK 4“, „PAK 5“ und „PAK 6“ sowie die Kohlen „PAK 9“ und „PAK 13“. Die geringste Adsorption ließ sich mit den Produkten „PAK 10“ und „PAK 3“ erreichen. Die erzielten Ergebnisse mit den Adsorptionsversuchen lassen sich, abhängig von der abwasserspezifischen Zusammensetzung und den untersuchten PAK-Produkten, durch Adsorptionsanalysen der Universität Duisburg-Essen bestätigen (MULNV, 2017).

### 3.1.4. Abrasionsversuche

Da die Aktivkohle durch die Belüftung des Membranmoduls in ständiger Schwebelage gehalten und durch die Ultrafiltrationsmembran vom Abwasser abgetrennt wird, besteht während des Betriebes der Versuchsanlage ein mehr oder weniger ständiger Kontakt zwischen Membran und PAK. Um die mögliche abrasive Wirkung der PAK auf die Membran zu untersuchen, wurden zwei weitere Versuche an Stanzlingen der eingesetzten PES-Membran „Nadir UP150T“, die in Abbildung 6 dargestellt sind, entwickelt. Beide Versuche zur Bewertung der Abrasion wurden mit allen 13 betrachteten PAK-Produkten durchgeführt.

Im ersten Versuchsaufbau wurde die Membran mit dem zuvor bereits erwähnten Horizontalschüttler (Versuchsstand 1: Rüttelversuch) bei vier verschiedenen PAK-Konzentrationen von 4 g/l bis 20 g/l für jeweils 14 Tage geschüttelt. Um die Membranzanzlinge horizontal zu fixieren und einen intensiven Kontakt zur PAK-Suspension herzustellen, musste eine Spannvorrichtung entwickelt und gebaut werden, die in Abbildung 6 (rechts) zu sehen ist.



Abbildung 6: Membran-Stanzling (links) Spannvorrichtung für Rüttelversuch (rechts)

Im zweiten Versuch wurden jeweils zwei Membran-Stanzlinge vertikal in Bechergläsern durch hierfür angefertigte Halterungen fixiert und mit denselben unterschiedlichen PAK-Konzentrationen durch Rühren bei konstanter Drehzahl 14 Tage in Kontakt gebracht (Versuchsstand 2: Rührversuch). Während der Versuchslaufzeit wurden die Bechergläser abgedeckt, um eine Verdunstung des Wassers weitestgehend zu vermeiden. Der Aufbau des Rührversuches ist in Abbildung 7 gezeigt.



Abbildung 7: Aufbau Rührversuch

Zur Bewertung des abrasiven Einflusses auf die Membran, wurden die Stanzlinge vor Beginn und nach Beendung der 14-tägigen Abrasionsversuche in einem Filtrations-Teststand hinsichtlich ihres Flusses und ihrer Permeabilität untersucht. Dieser Teststand besteht aus drei parallel geschalteten Rührzellen, die in Abbildung 8 zu sehen sind, durchgeführt.



Abbildung 8: Filtrations-Teststand

Die Membran-Stanzlinge wurden in die Rührzelle eingebaut, ein Überdruck von 750 mbar eingestellt, der Magnetrührer eingeschaltet und ein definiertes Volumen von 250 ml VE-Wasser durch die Membran filtriert, um die Poren der Membran zu spülen. Diese Einstellungen orientieren sich an den internen Qualitätskontrollen des Membranherstellers und wurden daher als Basis dieser Versuche

verwendet. Die Flussleistung wurde anschließend nach 5, 15 und 25 Minuten mit einem Messzylinder und einer Stoppuhr ermittelt und daraus die Permeabilität berechnet.

Neben den Flussmessungen wurden die Membranstanzlinge mit einer Testsubstanz hinsichtlich ihres Rückhaltes untersucht. Der Rückhalt der Membran konnte nur einmal bestimmt werden, da die Poren der Membran durch die eingesetzte 0,5 % Testlösung Polyvinylpyrrolidon (PVP K90) verstopfen, wodurch die Flussleistung enorm abnimmt und eine weitere Flussmessung nicht möglich war. Daher müssen die Rückhaltmessungen an den neuen Membranen (ungebraucht als Referenz) und an den für die Abrasionsversuche benutzten Membranen getrennt durchgeführt werden. Die Ermittlung des Rückhalts von neuen Membranen (vor den Abrasionsversuchen) wurde exemplarisch an zehn ausgewählten Membran-Stanzlingen durchgeführt, um einen Referenzwert zu erhalten.

Die Rührzellen wurden mit 100 ml der 0,5 % PVP-Lösung befüllt und filtriert. Es wurde ein Überdruck von 750 mbar beaufschlagt und der Magnetrührer eingeschaltet. Das Filtrat wird aufgefangen und anschließend zusammen mit der Testlösung hinsichtlich der Parameter Trübung, TOC, SAK<sub>254</sub> und Brechungsindex untersucht. Der Rückhalt wurde anschließend über die Reduktion der Parameter des Filtrats gegenüber der reinen Testsubstanz bestimmt.

Der Brechungsindex wurde mit dem Refraktometer „RA-510M“ des Herstellers „Mettler Toledo“ bzw. dem Handrefraktometer „OPTi Duo“ der Firma „Bellingham + Stanley“ bestimmt. Die Trübung wurde mittels Trübungsmessgerät „Turb 430 IR“ der Firma „WTW“ gemessen. Die Bestimmung des TOC fand mit den Küvettentests „LCK 385“ und „LCK 386“ sowie dem Photometer „DR 3900“ der Firma „Hach Lange“ statt und der SAK<sub>254</sub> wurde nach DIN 38404-3 mit dem Photometer „CADAS 200“ des Herstellers „Dr. Lange“ ermittelt.

### 3.1.5. Ergebnisse der Abrasionsversuche

Zunächst werden die Veränderungen bei Fluss und Permeabilität durch die beiden Abrasionsversuche diskutiert. Da die Veränderungen bei Fluss und Permeabilität identisch sind, wurden hier lediglich die Veränderungen der Permeabilität der einzelnen Membran-Stanzlinge vor und nach dem Versuch am Horizontalschüttler (Versuchsstand 1, oben Abbildung 9) und am Rührversuch (Versuchsstand 2, unten Abbildung 9) für alle getesteten Aktivkohlen und Konzentrationen (4, 8, 12 und 20 g/l) dargestellt.

Es ist erkennbar, dass es zu deutlichen Reduzierungen der Permeabilität bei allen getesteten Aktivkohlen nach der Versuchslaufzeit von 14 Tagen kam. Bis auf wenige Ausnahmen reduzierten sich die Flussleistung und die Permeabilität unabhängig vom Versuchsaufbau.

Dieses Ergebnis wurde nicht erwartet, da durch eine Abrasion der Oberfläche die asymmetrischen Poren der Membran größer werden müssten und sich der Fluss und die Permeabilität damit erhöhen sollte. Es wurden jedoch abnehmende Flüsse und Permeabilitäten ermittelt, die darauf schließen lassen, dass es sowohl durch den Rührversuch als auch durch den Rüttelversuch im gewählten Versuchszeitraum und mit den gewählten Versuchsparametern zu einem Verstopfen der Poren bzw. zur Bildung einer Deckschicht und **nicht zu Abrasionseffekten** an den Membranen kommt.

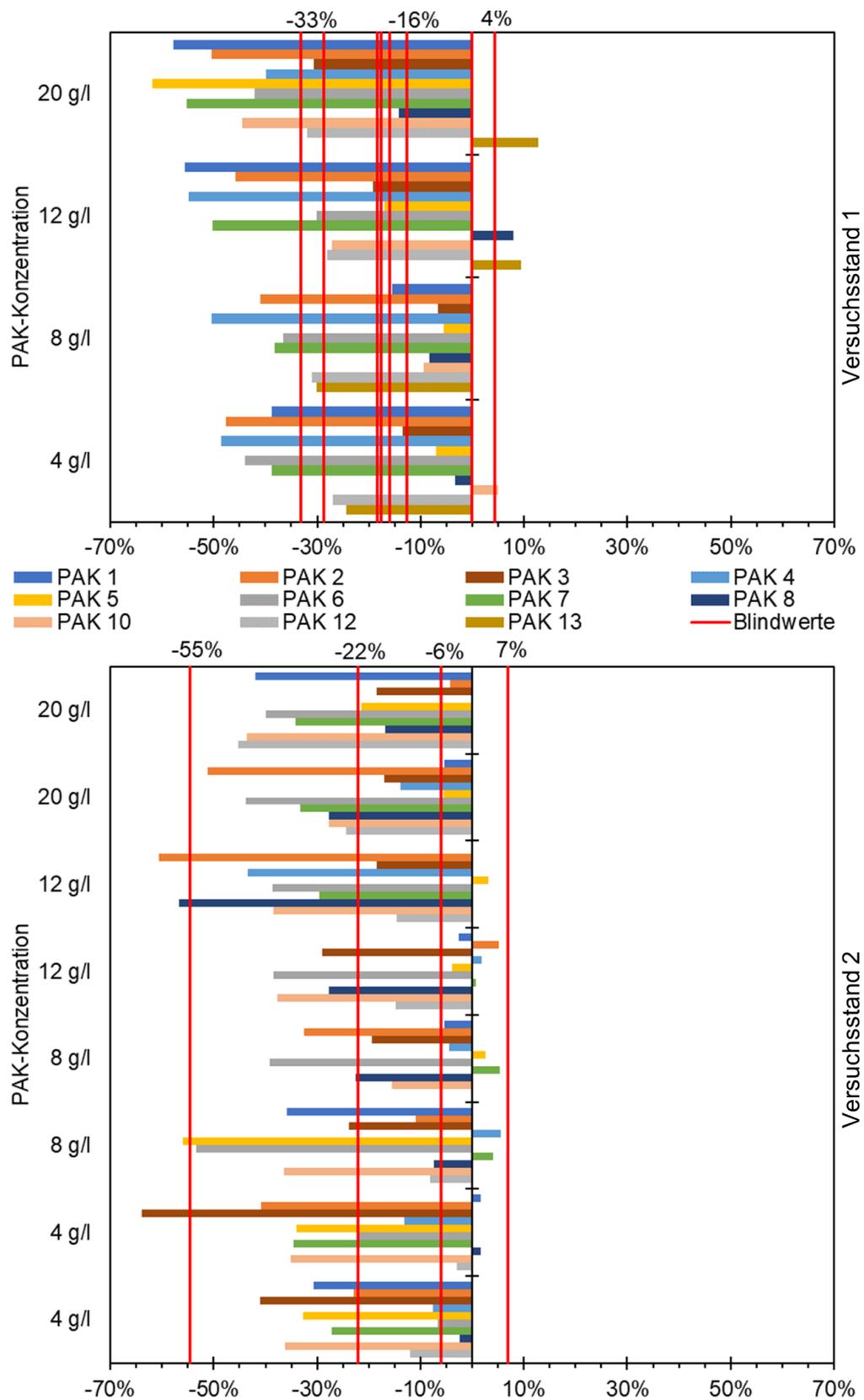


Abbildung 9: Permeabilitätsveränderungen durch Abrasionsversuche

Neben der Flussleitung und der Permeabilität wurde der Rückhalt gemessen, der in Abbildung 10 exemplarisch anhand des TOC dargestellt ist. Die Grafik zeigt beide Versuchsstände (Versuchsstand 1: Horizontalschüttler oben und Versuchsstand 2: Rührversuch unten in der Grafik) für alle untersuchten Aktivkohlen in den Konzentrationen 4, 8, 12 und 20 g/l sowie mehrere Blindwerte, die die Versuche 14 Tage ohne Aktivkohle-Exposition durchlaufen haben.

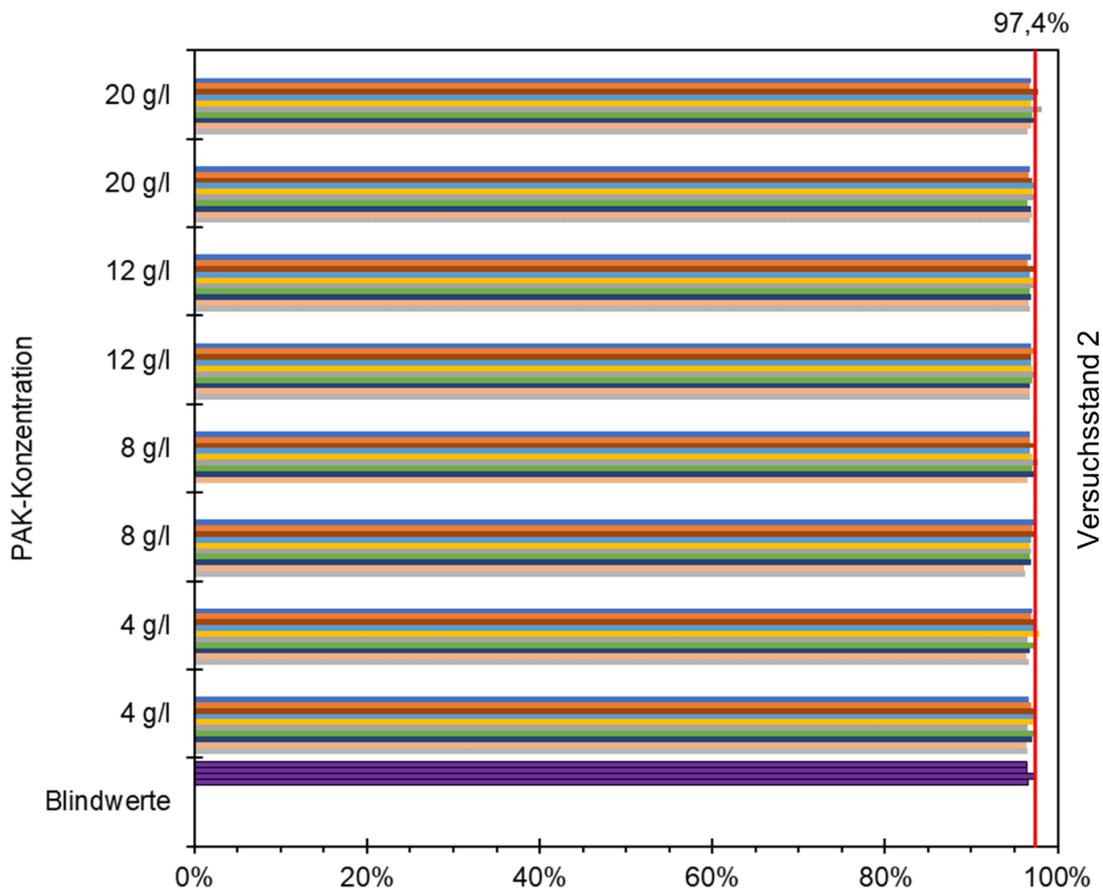
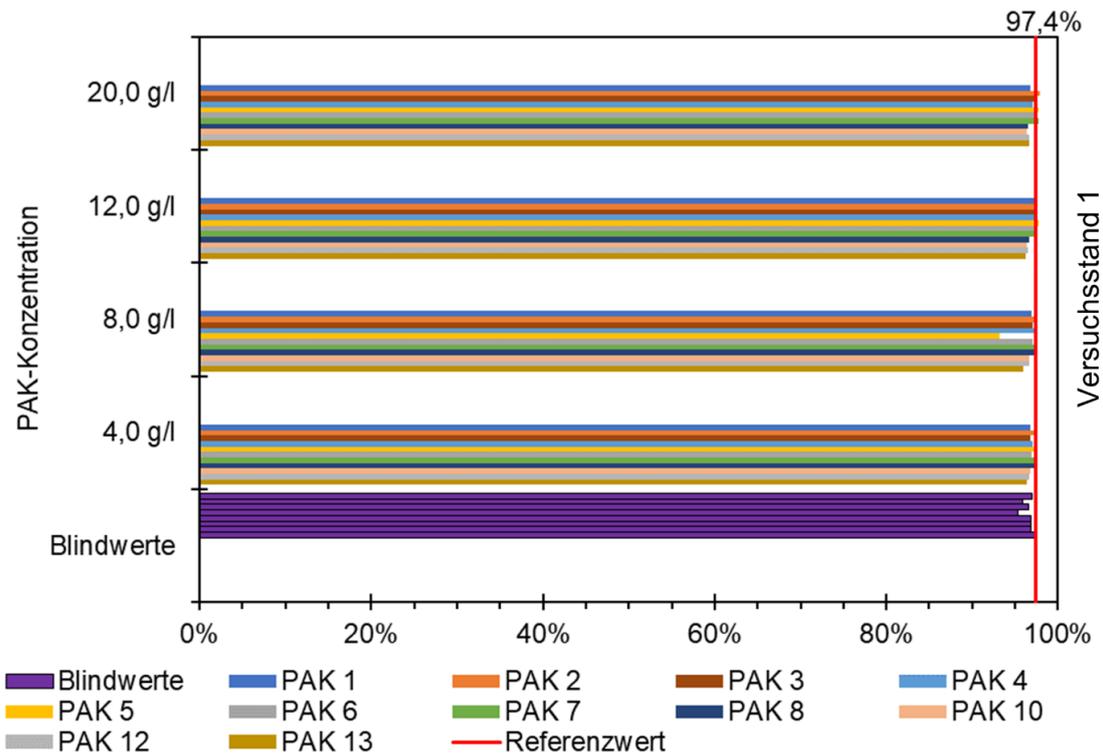


Abbildung 10: Rückhaltmessung nach den Abrasionsversuchen anhand des TOC

Die Darstellung des Rückhalts anhand des Parameters TOC wurde gewählt, weil dieses Diagramm nahezu deckungsgleich mit den Ergebnissen anhand der Trübung ist und die Parameter SAK<sub>254</sub> sowie Brechungsindex keinerlei Tendenzen erkennen ließen. Das Diagramm zeigt, dass mit allen Kohlen ein hoher TOC-Rückhalt erreicht wurde, der in dem ermittelten Größenbereich des

Referenzwertes der unbenutzten Membranen von 97,4 % lag. Auch die Blindwerte lagen in dieser Größenordnung, teilweise jedoch auch unterhalb des ermittelten Referenzwertes der unbenutzten Membranen. Bei einzelnen Messungen gab es allerdings Abweichungen (ebenso bei Blindwertproben), die auf Messungenauigkeiten zurückzuführen sind.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen darauf schließen, dass alle Membran-Stanzlinge nach Aktivkohleexposition die Testsubstanz zurückhalten und dementsprechend **durch diesen Versuch keine abrasiven Beeinflussungen der Membran nachgewiesen werden konnte**. Die Abweichungen der einzelnen erwähnten Ausreißer können auf Messunsicherheiten zurückgeführt werden, da auch die Ergebnisse der Blindwerte einer gewissen Schwankung unterlagen.

Auch zusätzliche visuelle Analysen ausgewählter Membranstanzlinge anhand von Lichtmikroskopie zeigten keine Beschädigungen der Membranen. Es können lediglich (auch in anderen Anwendungen vorkommende) Gebrauchsspuren beobachtet werden (Abbildung 11).

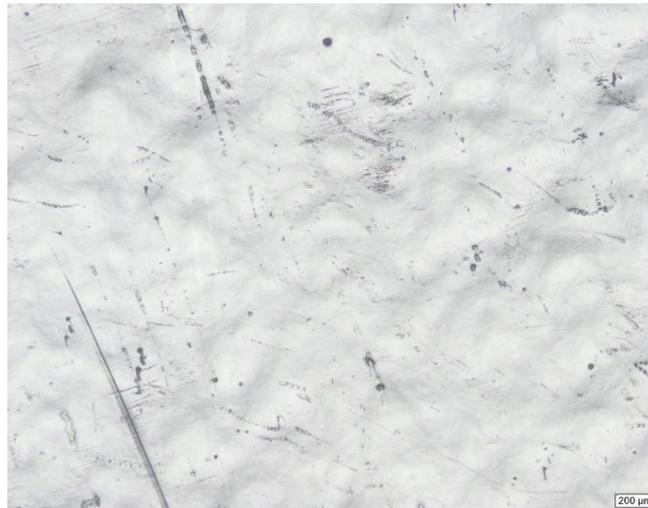


Abbildung 11: Lichtmikroskop-Aufnahme Membran-Stanzling Rührversuch PAK 4 (20 g/l)

### 3.1.6. Auswahlkriterien und Bewertung der PAK

Die Adsorptionsleistung der Aktivkohlen ist hinsichtlich der Spurenstoffelimination der maßgebende Parameter bei der PAK-Auswahl. Die ersten Adsorptionsversuche führten zu einer Empfehlung von vier bzw. fünf der acht getesteten PAK-Produkte. Die ergänzenden Adsorptionsanalysen zeigten ebenfalls bei fünf getesteten Produkten eine hohe Adsorptionsleistung, die (bis auf eine Ausnahme) mit den Empfehlungen der ersten Analyse übereinstimmen.

Neben der Adsorption wurden weitere Kriterien herangezogen, um eine geeignete PAK für den Einsatz in der Versuchsanlage auf dem HKW Wiesbaden auszuwählen. Die Umweltverträglichkeit der Produkte wurde einerseits hinsichtlich des Rohstoffes (fossiler/nachwachsender Rohstoff / Nebenprodukt / Abfallprodukt / Reaktivat) und andererseits hinsichtlich der Transportdistanz, die das entsprechende Produkt zurücklegen muss, berücksichtigt. Zudem wurden die Kosten der PAK bei einer prognostizierten Jahresverbrauchsmenge von 100-150 t, die Herstellerzusammenarbeit hinsichtlich der Transparenz und der Kooperationsbereitschaft sowie bereits vorzuweisende Referenzen des Produktes in der Abwasserreinigung bewertet. Durch die Abrasionsversuche konnten anhand membranspezifischer Parameter keine abrasiven Eigenschaften der Produkte abgeleitet und somit aufgrund dessen keine Kohle ausgeschlossen oder präferiert werden. Dennoch wurden auch die Härte und Form der PAK für die Auswahl einer Kohle berücksichtigt, um auch diesen Aspekt zu berücksichtigen.

Entsprechend der vorliegenden Informationen zu den unterschiedlichen PAK-Produkten, wurden Punkte von „1 = schlecht/gering“ bis „4 = sehr gut/hoch“ für die jeweiligen Auswahlkriterien vergeben. Wenn keine Informationen seitens der Hersteller zur Verfügung gestellt wurden, wurde dieses Kriterium mit „1“ bewertet.

Unter Berücksichtigung aller oben beschriebenen Auswahlkriterien, wurde eine Bewertungsmatrix der betrachteten PAK-Produkte erstellt, die in Tabelle 4 zu sehen ist. Die PAK-Produkte wurden entsprechend ihrer Eigenschaften bewertet und die unterschiedlichen Aspekte verschieden stark gewichtet, um die Aspekte zu quantifizieren. PAK 4 erzielt hierbei die höchste Punktzahl in der Bewertung, gefolgt von den „PAK 11“, „PAK 12“, „PAK 2“ und „PAK 8“, welche alle sehr gute Adsorptionsleistungen erzielten.

Tabelle 4: Bewertungsmatrix PAK-Auswahl

| PAK-Produkt | Adsorption |       | Rohstoff |    | Transportdistanz |      | Härte und Form |      | Preis |    | Herstellerverfügbarkeit |    | Referenzen |    | Summe |
|-------------|------------|-------|----------|----|------------------|------|----------------|------|-------|----|-------------------------|----|------------|----|-------|
|             | 50         |       | 20       |    | 5                |      | 5              |      | 10    |    | 10                      |    | 10         |    |       |
| PAK 1       | 3,8        | 187,5 | 2        | 40 | 1                | 5    | 1              | 5    | 1     | 10 | 1                       | 10 | 1          | 10 | 268   |
| PAK 2       | 3,0        | 150,0 | 1        | 20 | 1                | 5    | 1              | 5    | 4     | 40 | 4                       | 40 | 4          | 40 | 300   |
| PAK 3       | 1,5        | 75,0  | 2,5      | 50 | 1                | 5    | 1              | 5    | 3     | 30 | 4                       | 40 | 1          | 10 | 215   |
| PAK 4       | 2,5        | 125,0 | 4        | 80 | 2                | 10   | 4              | 20   | 4     | 40 | 3,5                     | 35 | 1          | 10 | 320   |
| PAK 5       | 2,5        | 125,0 | 3        | 60 | 2                | 10   | 2              | 10   | 1     | 10 | 3,5                     | 35 | 3          | 30 | 280   |
| PAK 6       | 2,5        | 125,0 | 2,5      | 50 | 1                | 5    | 2              | 10   | 3     | 30 | 3,5                     | 35 | 3          | 30 | 285   |
| PAK 7       | 2,0        | 100,0 | 3        | 60 | 2,5              | 12,5 | 3              | 15   | 3     | 30 | 3                       | 30 | 2          | 20 | 268   |
| PAK 8       | 3,5        | 175,0 | 2        | 40 | 2                | 10   | 2              | 10   | 1     | 10 | 3                       | 30 | 1          | 10 | 285   |
| PAK 9       | 3,0        | 150,0 | 1        | 20 | 2                | 10   | 1              | 5    | 4     | 40 | 2,5                     | 25 | 1          | 10 | 260   |
| PAK 10      | 2,3        | 112,5 | 2        | 40 | 2,5              | 12,5 | 2              | 10   | 2     | 20 | 2,5                     | 25 | 1          | 10 | 230   |
| PAK 11      | 3,5        | 175,0 | 2,5      | 50 | 2,5              | 12,5 | 2,5            | 12,5 | 1     | 10 | 2,5                     | 25 | 3          | 30 | 315   |
| PAK 12      | 3,3        | 162,5 | 2,5      | 50 | 2,5              | 12,5 | 2,5            | 12,5 | 1     | 10 | 2,5                     | 25 | 3          | 30 | 303   |
| PAK 13      | 2,5        | 125,0 | 2,5      | 50 | 2,5              | 12,5 | 2,5            | 12,5 | 3     | 30 | 2,5                     | 25 | 2          | 20 | 275   |

Die PAK mit der höchsten Punktzahl erzielte lediglich durchschnittliche bis gute Ergebnisse hinsichtlich der Adsorption, sodass sie im Mittelfeld der betrachteten PAK-Produkte einzuordnen ist. Sie punktete jedoch bei nahezu allen anderen Auswahlkriterien. Die Kohle wird aus Ligninfasern gewonnen, welche als Abfallstoff in der Papierindustrie anfallen, sodass es sich hierbei um die Verwertung eines Stoffstromes aus nachwachsenden Rohstoffen handelt, der andernfalls entsorgt werden müsste. Zudem stammt der Rohstoff aus den USA und nicht aus Asien, sodass die Transportdistanz vergleichsweise gering ist. Aufgrund dieser beiden Spezifika weist die Kohle aus ökologischer Sicht Vorteile auf. Bedingt durch den Rohstoff, beschreibt der Hersteller die Kohlepartikel als sehr weich und rund, was ebenfalls positiv beim Einsatz mit Membranen zu beurteilen ist, obwohl anhand der bislang durchgeführten Abrasionsversuche bei keiner Kohle ein abrasiver Effekt festzustellen war. Darüber hinaus ist die PAK vergleichsweise günstig, sodass sie ebenfalls aus ökonomischer Sicht zu empfehlen ist. Lediglich Referenzen in der kommunalen

Abwasserreinigung ließen sich bislang nicht für diese Kohle nachweisen. Aufgrund dieser Eigenschaften wurde die PAK4 für die Versuchsanlage auf dem HKW Wiesbaden ausgewählt.

### 3.1.7. Spurenstoffmessungen

Zur Quantifizierung der Abwasserbelastung mit verschiedenen organischen Spurenstoffen wurde zunächst eine umfangreiche Analyse auf 117 verschiedene Spurenstoffe durchgeführt. Diese umfassende Untersuchung diente der qualitativen und quantitativen Erfassung der Belastung des Zulaufs sowie des Ablaufs der Kläranlage mit Spurenstoffen. Zudem konnte mithilfe dieser Ergebnisse eine Auswahl von Spurenstoffen für die regelmäßigen Analysen der Versuchsanlage getroffen werden. Die untersuchten Spurenstoffe umfassten dabei 51 Stoffe aus der Stoffgruppe der pharmazeutischen Wirkstoffe, davon handelte es sich bei 20 Stoffe um Antibiotika, 5 Röntgenkontrastmittel, 11 Industriechemikalien, 7 Pflanzenschutzmittel und 13 polyfluorierten Verbindungen sowie 10 weitere Stoffe, die unter anderem verschiedene Metabolite und künstliche Süßstoffe umfassten. Die vollständige Übersicht des durchgeführten Screenings sowie die dazugehörigen Bestimmungsgrenzen (BG) der Spurenstoffe befindet sich in Anhang 1. Die Auswertung erfolgte aus zwei 48-Stunden-Mischprobe, die im Abstand von etwa einem Monat im Mai und Juni 2021 genommen wurden.

Im Zulauf der Kläranlage konnten 64 (erste Probenahme) bzw. 60 (zweite Probenahme) der untersuchten Spurenstoffe oberhalb der Bestimmungsgrenzen zwischen 0,001 – 10 µg/l nachgewiesen werden, während im Ablauf der Kläranlage 35 bzw. 42 der Stoffe nachweisbare waren und oberhalb der Bestimmungsgrenzen von 0,0001 – 1 µg/l lagen. Die aufsummierten Gesamtkonzentrationen der einzelnen Stoffgruppen beider Probenahmen, jeweils für den Zulauf und Ablauf der Kläranlage, sind in Abbildung 12 dargestellt. Im Zulauf belief sich die Konzentration der Spurenstoffe der Stoffgruppen der Industriechemikalien, der Röntgenkontrastmittel und der pharmazeutischen Wirkstoffe in Summe auf etwa 285 µg/l, während sich im Ablauf die Konzentration auf 118 µg/l reduzierte. Dabei zeigte sich vor allem für die Gruppe der pharmazeutischen Wirkstoffe eine große Reduktion durch die konventionelle Abwasserbehandlung um etwa 75 %, während sich die Konzentration der Röntgenkontrastmittel um nur etwa 10 % und die Konzentration der Industriechemikalien um etwa 35 % reduziert hatte. Bei der Gruppe der pharmazeutischen Wirkstoffe zeigten sich große Unterschiede der erreichten Entfernung durch die konventionelle Belebungsanlage für die einzelnen Spurenstoffe. So wurde der Wirkstoff Paracetamol von 12 µg/l im Zulauf bis unter die Bestimmungsgrenze von 0,05 µg/l im Ablauf reduziert, während der Wirkstoff Diclofenac sowohl im Zulauf als auch im Ablauf eine Konzentration von 2,2 µg/l aufwies und sich damit keine Entfernung mittels konventioneller Belebungsanlage nachweisen ließ.

Von den 13 analysierten polyfluorierte Verbindungen ließen sich im Zulauf der Kläranlage nur drei oberhalb der Bestimmungsgrenze von 0,005 µg/l nachweisen. Insgesamt ließen sich die polyfluorierten Verbindungen und Pflanzenschutzmittel in einer niedrigeren Konzentration im Vergleich zu den pharmazeutischen Stoffen nachweisen, sodass sich die summierte Konzentration dieser beiden Stoffgruppen im Zulauf auf 0,43 µg/l und im Ablauf auf 0,26 µg/l belief. Für die polyfluorierten Verbindungen konnte keine Entfernung mittels konventionellerer Belebungsanlage nachgewiesen werden, während die Pflanzenschutzmittel um etwa 40 % reduziert wurden.

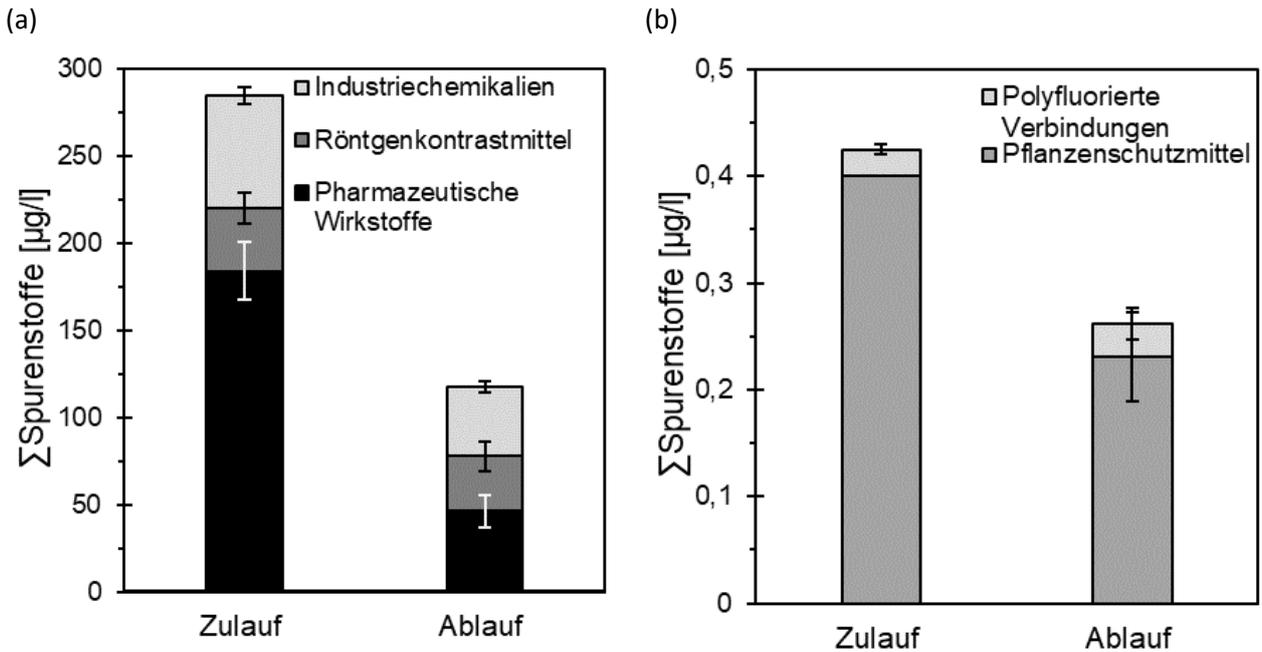


Abbildung 12: Summierte Konzentration verschiedener Spurenstoffgruppen im Zulauf und Ablauf der Kläranlage (a) (b)

Die Konzentrationen einzelner Spurenstoffe inklusive der entsprechenden Umweltqualitätsnormen (UQN) bzw. Vorschläge für die UQN oder PNEC-Werte sind in Abbildung 13 dargestellt. Insbesondere für die Spurenstoffe Clarithromycin, Diclofenac und Venlafaxin wurde eine Überschreitung der entsprechenden UQN bzw. UQN-Vorschläge deutlich und damit die Notwendigkeit einer weitergehenden Abwasserbehandlung. Der Vergleich mit Konzentrationen an Spurenstoffen in Abläufen weiterer kommunalen Kläranlagen (Bitterwolf 2017, Fundneider 2020) zeigt, dass die gemessenen Spurenstoffe in der gleichen Größenordnung vorkommen, sodass auf eine durchschnittliche Belastung von Spurenstoffen geschlossen werden kann.

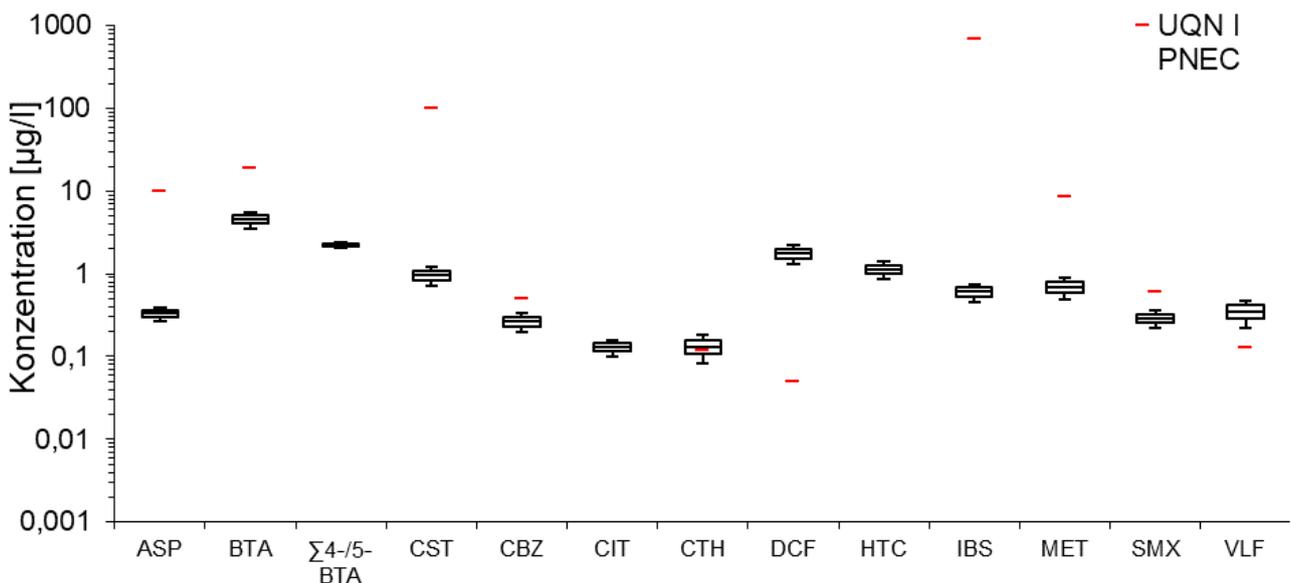


Abbildung 13: Konzentration ausgewählter Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage mit Vergleich der entsprechenden Umweltqualitätsnorm (UQN) bzw. des PNEC (predicted no effect concentration)-Wertes (Ökotox 2020) ASP = Amisulprid; BTA = Benzotriazol; Σ4/5-BTA = Σ4/5- Benzotriazol; CST = Candesartan; CBZ = Carbamazepin; CIT = Citalopram; CTH = Clarithromycin; DCF = Diclofenac; HTC = Hydrochlorothiazid; IBS = Irbesartan; MET = Metoprolol; SMX = Sulfamethoxazol; VLF = Venlafaxin

### 3.1.8. Bestimmung von ARG

Zur Bewertung der Leistung der Pilotanlage bei der Reduktion von ARG und ARB wurde eine kulturunabhängige molekularbiologische Methode, nämlich die Next-Generation Sequenzierung, verwendet. Der erste entscheidende Schritt für diese Methode ist die Ermittlung des optimalen Probenvolumens, um eine ausreichende Menge an Probenmaterial zu erreichen. Das für die Probenahme erforderliche Volumen hängt von der Menge an DNA bzw. der Biomasse in der Probe ab (Wilcox et al., 2016). Dazu ist eine entsprechende Aufkonzentrierung notwendig. Nach der Probenaufkonzentration wird qualitativ hochwertige DNA, d. h. frei von Kontaminationen und Inhibitoren, aus der konzentrierten Biomasse extrahiert. Unzureichend aufgereinigte, extrahierte DNA kann eine Verzerrung im Nachweis der mikrobiellen Gemeinschaft bzw. der Gene erzeugen. Mehrere Studien haben kommerzielle Kits zur Bestimmung von mikrobiellen Gemeinschaften in Kläranlagen und deren Effizienz verglichen. Allerdings beschränkt sich das gegenwärtige Wissen über das am besten geeignete Probenvolumen, die Probenaufkonzentrationsmethode und das DNA-Extraktions-Kit auf Studien, die hauptsächlich mit Belebtschlamm und damit hochkonzentrierter Biomasse durchgeführt wurden. Dagegen weist das Permeat der Ultrafiltration im Vergleich zu Belebtschlamm sehr geringe Bakterienzellkonzentrationen auf (Arkhangelsky et al., 2011; Hembach et al., 2019). Je nach Membran, DNA-Typ und -Größe sind aufgrund von Molekulargewichtsunterschieden im Permeat immer noch große DNA-Schwankungen zu beobachten, die das Aufkonzentrieren von ausreichend DNA für die nachfolgende Analyse erschweren.

Daher war das Ziel in diesem Projekt im ersten Schritt das Probenvolumen für eine maximale Rückgewinnung der DNA zu optimieren und dann die verschiedenen Extraktionsmethoden basierend auf der DNA-Ausbeute zu bewerten. Um die Ausbeute der DNA Extraktion zu bewerten, wurden 4 L Zulauf und 100 – 120 L Permeat von einer Pilotanlage gesammelt. Vier verschiedene Permeatvolumina (1 L, 5 L, 10 L und 20 L), und 0,5 L der Zulaufprobe wurden mit 0,22 µm Sterivex™ Filtereinheiten (Millipore) mit einer peristaltischen Pumpe gefiltert, um die Biomasse aufzukonzentrieren. Diese Filtereinheiten ermöglichen die Filtration großer Wassermengen und sind von einem sterilen zylindrischen Gehäuse umgeben, welches das Kontaminationsrisiko reduziert. DNA wurde aus jeder Sterivex-Filtereinheit durch Aufschneiden der beiliegenden Filtermembran aus dem Gehäuse extrahiert, wie in Craud et al., (2017) erläutert. Die DNA wurde aus den Filterstücken unter Verwendung von drei kommerziell erhältlichen Kits extrahiert: Fast SPIN DNA Kit (FS), Power Water Sterivex Kit (PW) und Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit (MA), die alle ein Bead-Beating und eine chemische Lyse nutzen. Extraktionen wurden in dreifacher Ausführung für die Zulaufproben durchgeführt. Für Permeatproben wurden keine Replikate durchgeführt.

#### 3.1.8.1. Optimierung der DNA-Extraktionsmethode

Kommerziell erhältliche Kits ermöglichen eine schnelle, zuverlässige und einfach zu handhabende DNA Extraktion aus Abwasserproben für die weitere Downstream Analyse mit molekularbiologischen Methoden (Cruaud et al., 2014; Guo & Zhang, 2013). Frühere Studien haben gezeigt, dass der Zellyseschritt und die Aufreinigung während der DNA-Extraktion einen Einfluss auf die DNA-Ausbeute haben. Eine allgemeine Empfehlung für die DNA-Extraktion ist die Verwendung einer mechanischen Lyse. Insgesamt liefert das FastDNA-Spin-Kit for Soil eine hohe Ausbeute und Reinheit. Zusammen mit der mechanischen Lyse durch den Bead-Beating Schritt haben die Intensität und die Dauer des Bead-Beating-Schritts einen signifikanten Einfluss auf die analysierte mikrobielle Gemeinschaft gezeigt (Albertsen et al., 2015). Dabei wurde die Laufzeit des Bead-Beating für alle drei ausgewählten Kits für die Permeatproben optimiert, jedoch musste ein Kompromiss zwischen DNA-Ausbeute und Integrität gefunden werden.

Im Gegensatz zu Belebtschlamm oder unbehandeltem Abwasser weist das Permeat der Ultrafiltration eine geringe mikrobielle Dichte auf, was eine große Herausforderung für die Gewinnung hochwertiger DNA aus den Proben darstellte. DNA, die aus Proben mit geringer Biomasse extrahiert wurde, ist sehr anfällig für Kontaminationen durch exogene DNA (Selway et al., 2020). Es hat sich gezeigt, dass die DNA-Extraktion, die auf magnetischen Beads basiert, effizient DNA trennt, die in geringen Mengen im Abwasser vorhanden ist (Yuan et al., 2019). Um die Effizienz

während der Zellyse und -reinigung zu kombinieren, wurden Beads aus dem FS-Kit für den Zellyseschritt im MA-Kit verwendet.

Somit wurden die Protokolle für die Extraktion mit einigen Modifikationen angepasst

1. das Bead-Beating für FS betrug  $2 \times 6,0 \text{ ms}^{-1}$  für 40 Sekunden. Der Bindungsschritt wurde auf 6 min erhöht.
2. die Inkubation für die Zellfreisetzung mit PW erfolgte für 3 Stunden (Zulauf) und für 4 Stunden (Permeat) bei  $33^\circ\text{C}$ . Das Bead-Beating wurde 30 Minuten lang horizontal durchgeführt.
3. die Zellyse für das MA-Kit wurde mit den Beads aus dem FS-Kit durchgeführt. Nachfolgende Bindung, Reinigung und Elution wurden unter Verwendung eines Magnetbead-Ansatzes unter Verwendung eines Kingfisher Flex-Automaten durchgeführt.

### 3.1.8.2. DNA-Extraktionseffizienz des Zulaufs mit verschiedenen Extraktionskits

Abbildung 14 zeigt die mit den drei Extraktionskits erreichte DNA-Konzentrationen in  $\text{ng}/\mu\text{l}$  des Zulaufs zur Pilotanlage. Es ist ersichtlich, dass das FS-Kit im Vergleich zu den anderen beiden Kits für alle Probenahmen eine hohe DNA-Ausbeute lieferte. Die beiden Kits PW und MA lieferten ähnliche Ausbeuten. Das FS-Kit verwendet eine robuste Homogenisierung für die Zellyse und enthält eine Matrix, die spezifisch an DNA bindet, während das PW-Kit eine Spinsäule für die DNA Bindung verwendet. Das MA-Kit extrahierte nur eine geringe DNA-Menge, was auf ein unzureichendes Bead-Beating für die Zellyse zurückzuführen sein könnte.

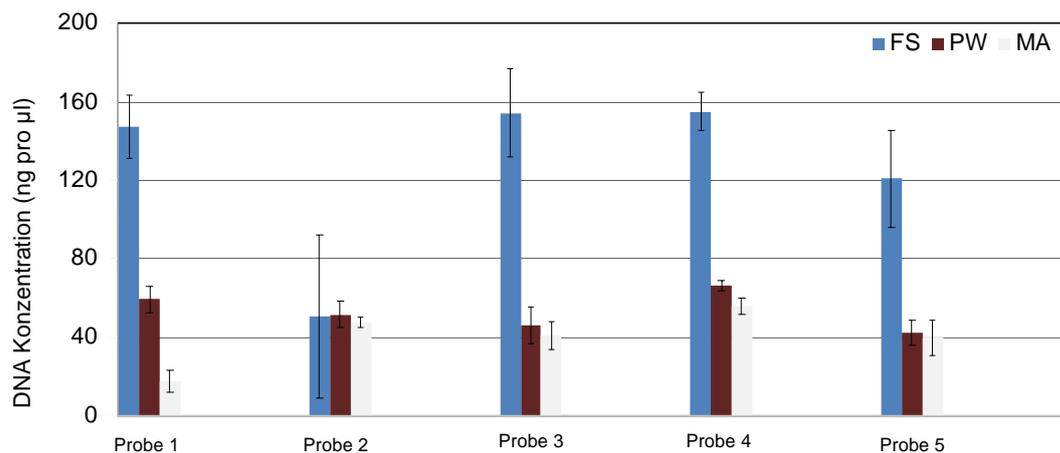


Abbildung 14: DNA-Konzentration in  $\text{ng}/\mu\text{l}$  des Zuflauf der Pilotanlage unter Verwendung mit drei verschiedenen Extraktionskits: Fast SPIN DNA Kit (FS), Power Water Sterivex Kit (PW) und Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit (MA)

### 3.1.8.3. DNA-Extraktion von Permeatproben mit unterschiedlichen Volumina

Abbildung 15 zeigt die DNA-Konzentration in  $\text{ng}/\mu\text{L}$  der Permeatproben für verschiedene Volumina, die mit den drei Kits extrahiert wurden. Es ist ersichtlich, dass unabhängig von dem jeweiligen Extraktions-Kit höhere Volumina auch die DNA-Ausbeute erhöhten. Eine geringe und inkonsistente DNA-Ausbeute in den Permeatproben wird sehr wahrscheinlich durch eine starke Biomassereduktion nach der UF-Membran verursacht. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde das FS-Kit für alle weiteren Analysen ausgewählt.

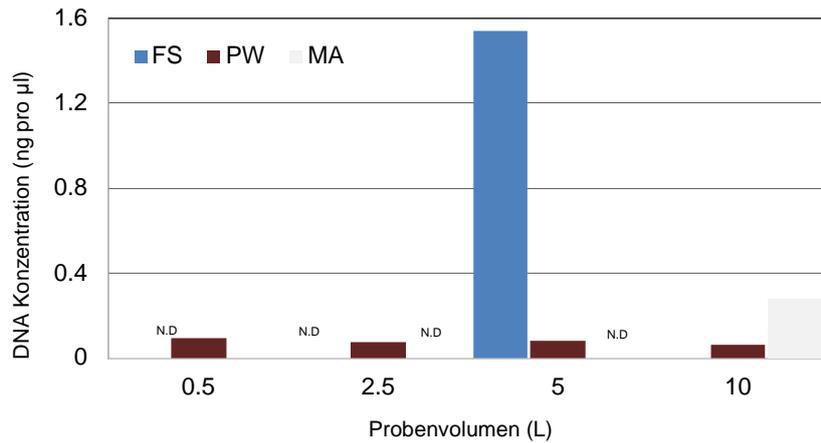


Abbildung 15: DNA Konzentration in Abhängigkeit zu dem filtrierten Volumen der Probe und den jeweiligen DNA Extraktionskits: Fast SPIN DNA Kit (FS), Power Water Sterivex Kit (PW) und Qiagen MagAttract Power/Microbiome Kit (MA). N.D = Nicht detektierbar.

### 3.1.8.4. ARG-Konzentration – Zulauf und Ablauf des UF-Membranmoduls

Um den Einfluss der UF-Membran allein (d. h. ohne PAK) auf die Reduzierung der ARG-Konzentration im Abwasser zu beurteilen, wurde die ARG-Konzentration im Zulauf der Pilotanlage und im Permeat der UF-Membran vor der ersten PAK-Dosierung bestimmt. Hierbei lag der Fokus auf den Proben des Permeats nach der Membranfiltration. Dabei zeigte sich, dass der ARG Konzentration lag zwischen  $1 \times 10^5$  und  $1 \times 10^6$  (Abbildung 16, links). Erst nach Mitte Mai ließ sich eine deutliche Reduktion der ARG Konzentration feststellen. Im Permeat wurde eine log-Reduktion der ARG-Konzentrationen zwischen 1 und 3 Log-Stufen gemessen (Abbildung 16, rechts).

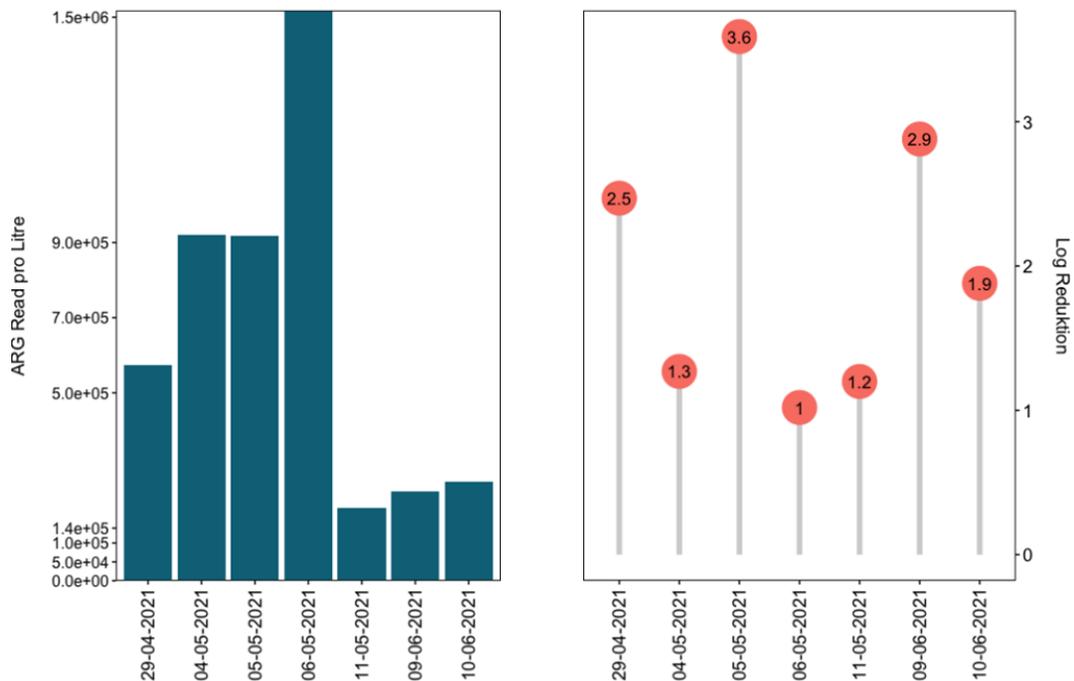


Abbildung 16: (Links) Konzentration der ARG Reads im UF-Permeat (links). Log (10) Reduktion von ARG, bestimmt im UF-Permeat relativ zum Zulauf zur Pilotanlage (rechts).

### 3.1.8.5. Vergleich der ARG-Zusammensetzung zwischen Zulauf und Ablauf der Pilotanlage

Die 50 am häufigsten vorkommenden ARG, die sich in den Proben der Pilotanlage nachweisen ließen, wurden mit den dazugehörigen Antibiotikaklassen abgeglichen (Abbildung 17). Bei genereller Betrachtung wird deutlich, dass die ARG Reads pro Liter im Ablauf der Kläranlage höher lagen als im Ablauf der Pilotanlage. Hier kann also geschlussfolgert werden, dass die UF-Membran zu einer deutlich erkennbaren Reduktion führte. Zu den Top 50 ARG in den Proben zählten unter anderem Tetrazyklin-Resistenzgene (tet(A), tet(C), tet(G) und tet(E)), ebenso wie beta-Lactam ARG (OXA-164, OXA-199, OXA232...) sowie Aminoglykosid-ARG (aadA10, aadA13, aadA7...). Tetrazyklin ist ein häufig verwendetes Breitbandantibiotikum, ebenso wie beta-Lactam Antibiotika, zu denen auch Penicillin gehört. Es zeigte sich, dass im Permeat alle ARG weiterhin nachweisbar waren und es nicht möglich war, die Diversität der ARG durch die Verfahrenstechnik zu reduzieren. Jedoch war es möglich die Konzentration der ARG deutlich zu reduzieren.

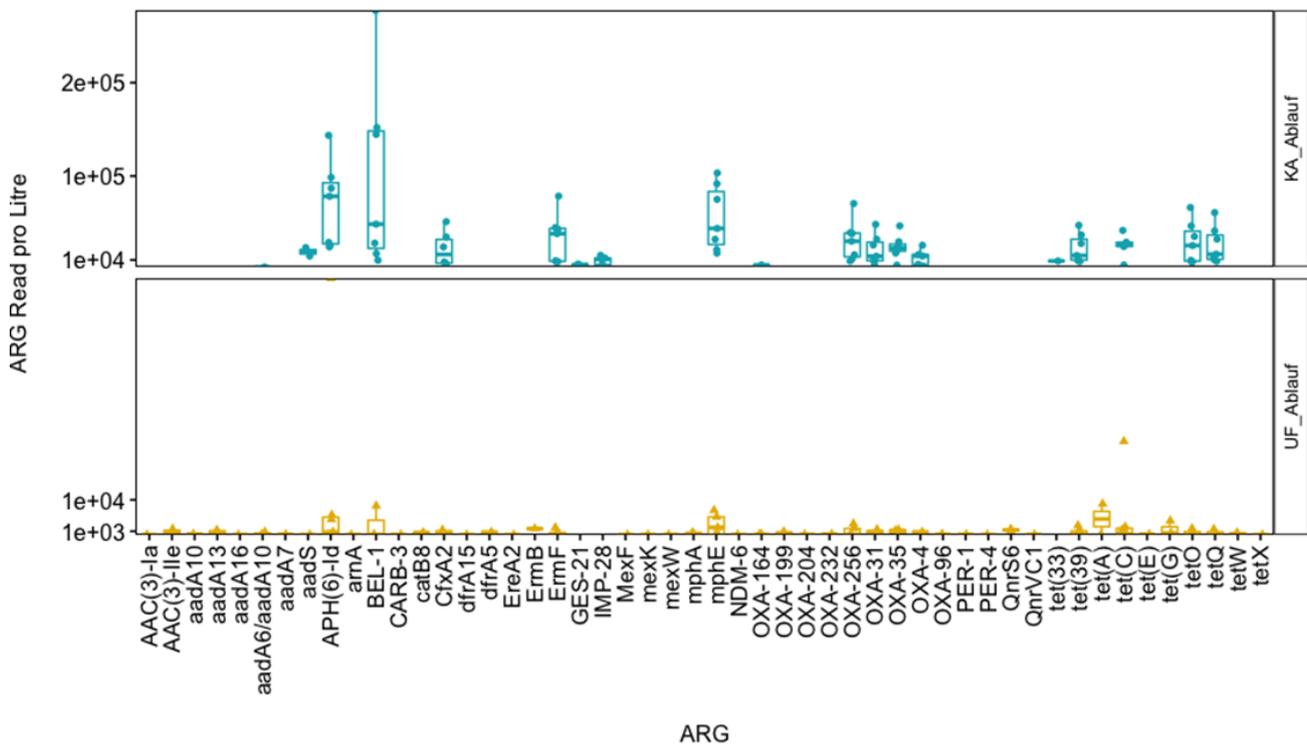


Abbildung 17: ARG-Konzentrationen (angegeben als Reads pro Liter, d.h. die Anzahl der Reads, die mit einem ARG in 1 Liter Probe gefunden wurden) aller 50 am häufigsten vorkommenden ARG, in den Proben vom 29.04.2021 bis 10.06.2021 im Zulauf des Piloten (KA\_Ablauf) und Permeat (UF\_Ablauf).

### 3.2. Verfahrenstechnische Optimierung (AP 1)

Die Versuchsanlage wurde zwischen April 2021 und März 2023 auf dem Gelände des Hauptklärwerkes Wiesbaden betrieben. Die folgenden drei Diagramme geben einen Überblick über den gesamten Betriebszeitraum. In Abbildung 18 oben ist der Gesamtzufluss zur Kläranlage dem Netto-Durchfluss der Versuchsanlage, zusammen mit der Abwassertemperatur im Versuchsreaktor, gegenübergestellt. Im zweiten Diagramm sind die membranspezifischen Parameter Fluss, TMP, temperaturkorrigierte Permeabilität, Luftvolumenstrom für die Crossflow-Belüftung und die chemischen Reinigungen dargestellt. Die dritte Abbildung zeigt die eingestellte PAK-Dosis an der Versuchsanlage sowie den TS-Gehalt im Reaktor. Darüber hinaus sind in diesem Diagramm die Probenahme-Tage sowie der Wechsel des Aktivkohle-Produktes von PAK4 auf PAK 12 aus Tabelle 3 kenntlich gemacht.

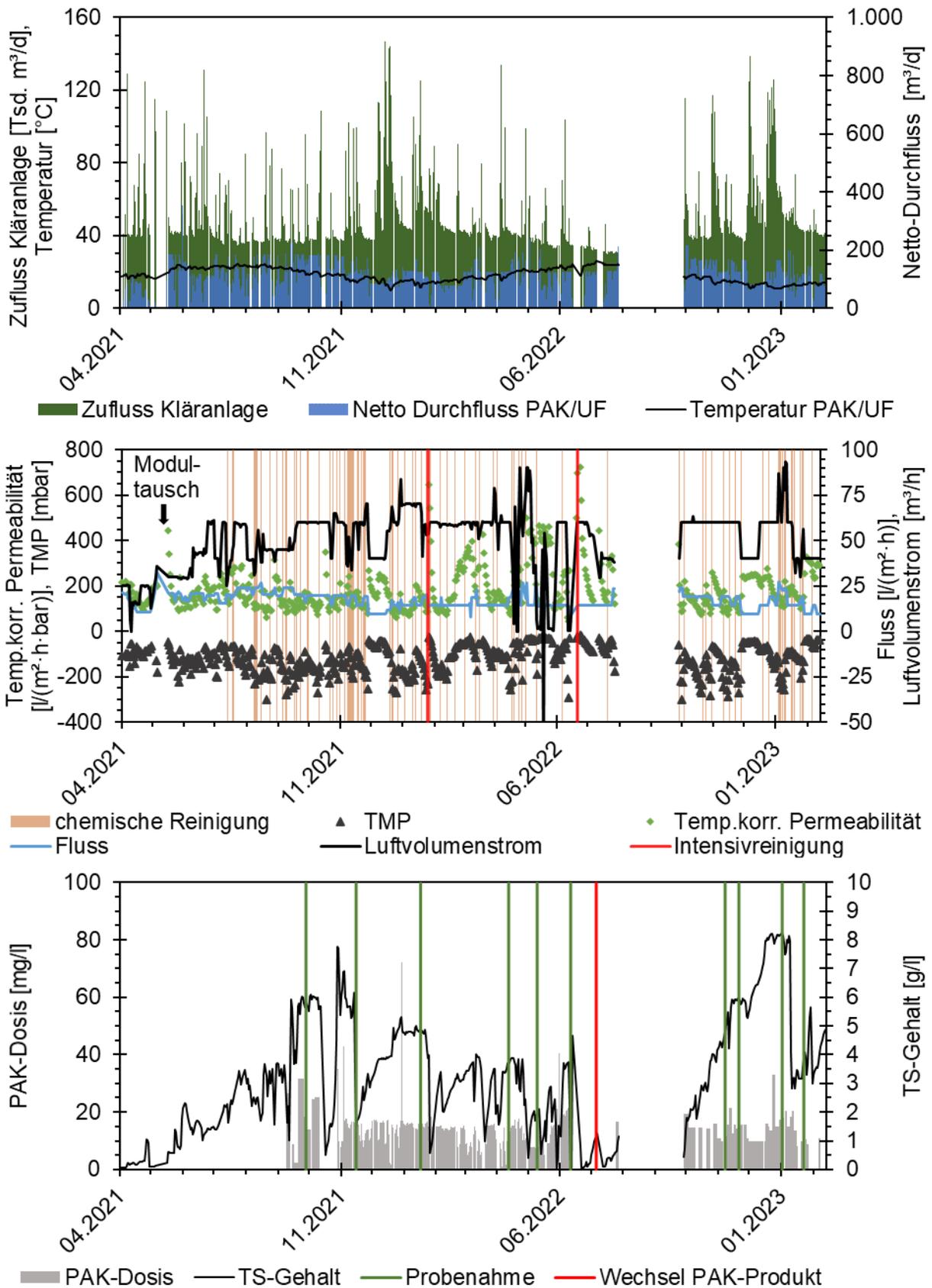


Abbildung 18: Übersichtsdiagramme des gesamten Betriebszeitraums der PAK/UF-Versuchsanlage, die Zuflüsse und die Temperatur (oben), die Betriebsparameter Transmembrandruck, Permeabilität und Luftvolumenstrom (Mitte), die Zeitpunkte der Reinigungen (Mitte) und die PAK-Dosierung und der TS-Gehalt (unten).

Die Diagramme zeigen einen kontinuierlichen Betrieb der Versuchsanlage mit einigen kurzzeitigen, für Versuchsanlagen typischen, Anlagenausfällen. Der längere Ausfall zwischen August 2022 und Oktober 2022 ist auf einen Defekt des Crossflowgebläses und Lieferverzögerungen bei der Beschaffung eines Ersatzaggregates zurückzuführen.

Zusätzlich zu den Diagrammen wird eine Übersicht über Maxima, Minima, Mittelwerte und Mediane der Tagesmittelwerte für die o.g. Parameter in Tabelle 5 gegeben. Aufgrund der Komprimierung der Messwerte auf Tagesmittelwerte wurden manche kurzzeitigen Maxima und Minima bei dieser Auswertung nicht abgebildet.

Tabelle 5: Übersicht Betriebsdaten

| Parameter                           | Einheit                   | Min.   | Mittelwert | Median | Max.    | Anzahl |
|-------------------------------------|---------------------------|--------|------------|--------|---------|--------|
| Zufluss Kläranlage                  | m <sup>3</sup> /d         | 29.718 | 53.446     | 43.929 | 147.505 |        |
| Durchfluss Versuchsanlage netto     | m <sup>3</sup> /d         | 12,3   | 118,8      | 123,4  | 353,4   |        |
| Fluss brutto                        | L/(m <sup>2</sup> ·h)     | 7,2    | 16,6       | 15,5   | 32,7    |        |
| Luftvolumenstrom                    | m <sup>3</sup> /h         | 11,7   | 51,7       | 58,7   | 93,5    |        |
| PAK-Dosis                           | mg/L                      | 0,29   | 14,66      | 14,59  | 72,19   |        |
| TS-Gehalt                           | g/l                       | 0,04   | 3,23       | 3,13   | 8,22    |        |
| Temperaturkorrigierte Permeabilität | l/(m <sup>2</sup> ·h·bar) | 44,8   | 184,8      | 156,4  | 721,5   |        |
| Temperatur                          | °C                        | 10,0   | 17,9       | 17,8   | 26,0    |        |
| Chemische Reinigungen               |                           |        |            |        |         |        |

Es zeigte sich, dass über den gesamten Betriebszeitraum von ca. 2 Jahren Flüsse von bis zu 33 l/(m<sup>2</sup>·h) und Permeabilitäten von bis zu 720 l/(m<sup>2</sup>·h·bar) erreicht werden konnten. Im langfristigen Mittel lag der Fluss bei 16,6 l/(m<sup>2</sup>·h) und die temperaturkorrigierte Permeabilität bei 185 l/(m<sup>2</sup>·h·bar), woraus ein mittlerer Netto-Durchfluss der Versuchsanlage von 119 m<sup>3</sup>/d resultiert. Die Crossflow-Belüftung wurde mit einem Volumenstrom von bis zu 94 m<sup>3</sup>/h in der Spitze und im Mittel mit 52 m<sup>3</sup>/h betrieben. Im Betriebszeitraum lag die Wassertemperatur zwischen 10 und 26°C, der TS-Gehalt im Reaktor zwischen 0 bis 8,2 g/l und die eingestellte PAK-Dosis variierte, bedingt durch die Herausforderungen bei der Dosierung, von 0 bis 72 mg/l und lag im Mittel bei knapp 15 mg/l.

Hinsichtlich der verfahrenstechnischen Optimierung des PAK/UF-Verfahrens aus AP 1 wurden einerseits der Einfluss des TS-Gehaltes im Reaktor auf die Leistungsfähigkeit des Verfahrens untersucht und andererseits der maximale Fluss in Kombination mit einer Variation der Crossflow-Belüftung auf dem Hauptklärwerk Wiesbaden bestimmt, um die optimalen Betriebseinstellungen der Anlage für ein Upscaling zu ermitteln. Der Einfluss der Durchmischung konnte nicht untersucht werden, da ein Rührwerk nicht installiert werden konnte. Darüber hinaus wurden zusätzlich Versuche im Labormaßstab durchgeführt, die dazu dienten, zukünftig alternative chemische Reinigungslösungen gegen Membranfouling einsetzen zu können.

### 3.2.1. TS-Optimierung (AP 1.1)

Ziel dieser Untersuchungen war es den Einfluss des TS-Gehaltes im Reaktor auf die Leistungsfähigkeit der Membranfiltration beurteilen zu können. Hierfür wurde der TS-Gehalt durch die Dosierung von Aktivkohle mit einer Dosis von 15 mg/l schrittweise um jeweils 2 g/l von 0 bis auf 8 g/l erhöht. Währenddessen wurde keine Aktivkohle / Schlamm aus der Anlage abgezogen, bis der gewünschte TS-Gehalt erreicht wurde. Vor jeder Versuchsreihe wurde das Membranmodul mittels NaOCl und Zitronensäure chemisch gereinigt, um Einflüsse vorhandener Deckschichten weitestgehend zu vermeiden und zudem für jede Versuchsreihe den gleichen Ausgangspunkt zu schaffen. In der Versuchslaufzeit wird der TS-Gehalt, durch regelmäßigen Schlammabzug, für fünf Tage konstant im Reaktor gehalten und der Einfluss des TS-Gehaltes auf die Permeabilität, bei konstantem Fluss von 20 l/(m<sup>2</sup>·h) und einer konstanten Belüftungsrate von 60 m<sup>3</sup>/h, untersucht. Die Betriebseinstellungen der Versuchsreihen sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Betriebseinstellungen Untersuchungen TS-Gehalte

| TS-Gehalt | Fluss                    | Luftvolumenstrom     |
|-----------|--------------------------|----------------------|
| 2 g/l     | 20 l/(m <sup>2</sup> ·h) | 60 m <sup>3</sup> /h |
| 4 g/l     |                          |                      |
| 6 g/l     |                          |                      |
| 8 g/l     |                          |                      |

Die Ergebnisse der vier untersuchten Einstellungen sind in der folgenden Abbildung 19 mit der vorherrschenden Temperatur sowie der daraus ermittelten temperaturkorrigierten Permeabilität dargestellt.

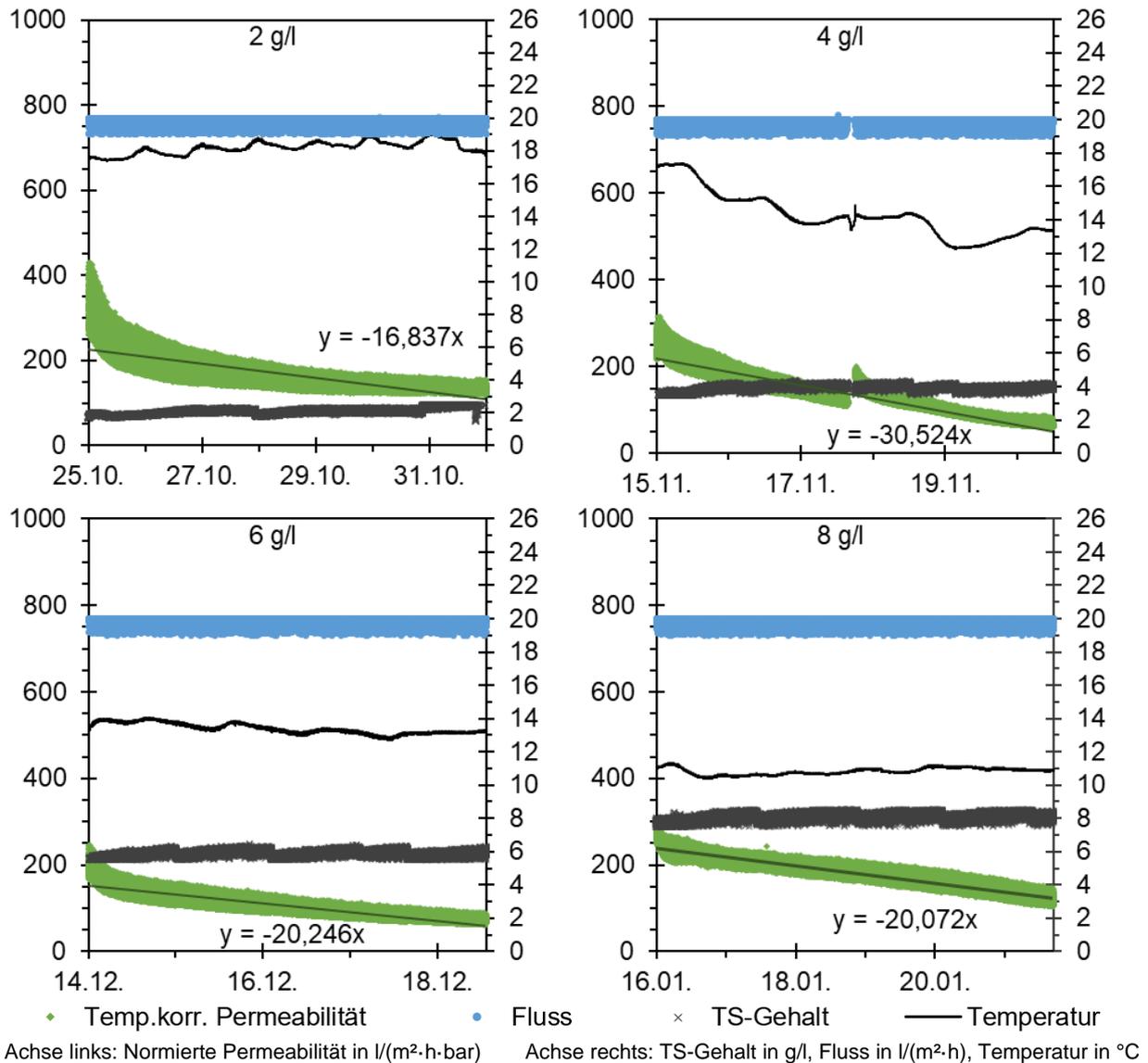


Abbildung 19: Ergebnisse Untersuchungen TS-Gehalte zwischen 2 und 8 g/l

Die vier Diagramme zeigen den Verlauf der temperaturnormierten Permeabilität bei konstanten Fluss- und Belüftungseinstellungen und den vier unterschiedlichen TS-Gehalten. Die Permeabilität innerhalb der 4 Versuchsreihen verhielt sich sehr ähnlich. Anhand der linearen Trendlinie und der angegebenen Steigung dieser Linie zeigte sich ein geringfügig niedrigerer Abfall der Permeabilität bei einem TS-Gehalt von 2 g/l. Dies war darauf zurückzuführen, dass die Wassertemperatur in dieser Versuchsphase mit 18-19°C vergleichsweise hoch lag und durch die erhöhte Wassertemperatur ein positiver Effekt, insbesondere auf die Anfangs-Permeabilität zu verzeichnen war, der nicht vollständig durch die angewendete Temperaturkorrektur eliminiert werden konnte. Auffällig ist die

Versuchsreihe mit einem TS-Gehalt von 4 g/l, da sie einerseits wegen einer Sonden-Wartung unterbrochen wurde, wodurch die Membran einen kurzzeitigen Regenerationseffekt durch die Filtrationspause erfahren hatte und es andererseits zu einem starken Temperaturabfall in kurzer Zeit im Abwasser kam. Durch diese Effekte lässt sich erklären, warum die lineare Trendlinie in diesem Fall eine größere negative Steigung als die übrigen Versuchsreihen zeigte.

Bei den Einstellungen 6 und 8 g/l verläuft die Trendlinie der Permeabilität nahezu deckungsgleich, trotz ca. 2°C Temperaturdifferenz im Mittel zwischen den beiden Untersuchungen.

Somit lässt sich anhand der erzielten Ergebnisse festhalten, dass der TS-Gehalt in einer Größenordnung von 2 - 8 g/l keinen identifizierbaren Einfluss auf die Permeabilität und somit auf die Filtrationsleistung der Membran hatte. Die Temperaturkorrektur der Permeabilität, welche ausschließlich die Veränderung der Viskosität berücksichtigt, scheint hingegen nicht ausreichend zu sein, dies wurde auch schon in anderen Projekten beobachtet.

### 3.2.2. Fluss- und Luftmengenoptimierung (AP 1.2 und 1.3)

Die Arbeitspakete 1.2 und 1.3 wurden zusammen bearbeitet, da die Flussleistung nur in Abhängigkeit der Crossflow-Belüftungsrate untersucht bzw. bewertet werden kann. Hierfür wurde die Versuchsanlage mit Flüssen von 15-30 l/(m<sup>2</sup>·h) bei Belüftungsraten von 30-115 m<sup>3</sup>/h betrieben. Während dieser Untersuchungen wurde eine konstante PAK-Dosis von 15 mg/l gewährleistet, um den Einfluss einer variierenden PAK-Dosierung auf die Filtrationsleistung ausschließen zu können. Die untersuchten Betriebseinstellungen sind in der folgenden Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: Betriebseinstellungen Fluss- und Luftvolumenoptimierung

| Fluss                    | Belüftungsrate        |
|--------------------------|-----------------------|
| 15 l/(m <sup>2</sup> ·h) | 30 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 40 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 60 m <sup>3</sup> /h  |
| 20 l/(m <sup>2</sup> ·h) | 30 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 40 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 60 m <sup>3</sup> /h  |
| 25 l/(m <sup>2</sup> ·h) | 40 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 60 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 90 m <sup>3</sup> /h  |
| 30 l/(m <sup>2</sup> ·h) | 60 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 90 m <sup>3</sup> /h  |
|                          | 115 m <sup>3</sup> /h |

Als Zeitraum für die Untersuchungen wurden die Wintermonate Januar und Februar 2023 gewählt, da die dort vorherrschenden niedrigen Temperaturen die anspruchsvollsten Bedingungen für die Filtrationsleistung der Membranen darstellt. Zwischen den vier unterschiedlichen Flüssen wurde das Membranmodul mittels Zitronensäure und mit NaOCl gereinigt, um Einfluss von Deckschichten auf die Ergebnisse weitestgehend auszuschließen. Zudem wurde zusätzlich vor jeder einzelnen Veränderung in der Belüftungsrate eine chemische Zwischenreinigung mit NaOCl durchgeführt, um organische Deckschichten nach jedem Versuchsdurchgang zu entfernen und für jeden Versuch möglichst gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen. Die o.g. Einstellungen wurden an der Versuchsanlage für eine Dauer von je maximal einem Tag dauerhaft, ohne Standby-Zeiten, betrieben, um alle Betriebseinstellungen innerhalb der Projektlaufzeit betrachten zu können. Ziel dieser Untersuchungen war es, einen Spitzenfluss inklusive der benötigten Belüftungsrate für das Verfahren am Hauptklärwerk Wiesbaden mit den hiesigen abwasserspezifischen Randbedingungen zu ermitteln. Darauf aufbauend wurde in Kapitel 3.5 ein Upscaling für das Hauptklärwerk Wiesbaden und eine Wirtschaftlichkeitsbetrachtung erstellt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe sind in den folgenden Abbildungen dargestellt. Die Diagramme zeigen die Versuchsreihen mit Flüssen von 15, 20, 25 und 30 l/(m<sup>2</sup>·h) in jeweils einem Diagramm, obwohl die Versuche nicht immer an aufeinander folgenden Tagen durchgeführt wurden. Die drei unterschiedlichen Versuchsdurchgänge

sind über einen Zeitraum von 24 Stunden für den jeweils eingestellten Luftvolumenstrom dargestellt und durch vertikale rote Linie voneinander abgegrenzt. Die Diagramme zeigen neben dem Fluss und der Belüftungsrate die Wassertemperatur, die im Untersuchungszeitraum etwa bei 12 °C lag, den TMP sowie die temperaturkorrigierte Permeabilität, die zur Auswertung der Versuche herangezogen wurde.

In Abbildung 20 zeigte sich bei einem eingestellten spezifischen Fluss von 15 l/(m<sup>2</sup>·h) für alle drei untersuchten Luftvolumenströme von 30, 40 und 60 m<sup>3</sup>/h ein sehr stabiler Betrieb. Sowohl der TMP als auch die temperaturkorrigierte Permeabilität reduzierten sich nach einer kurzen Einfahrphase nur marginal. Daraus lässt sich ableiten, dass ein Betrieb der Anlage mit 15 l/(m<sup>2</sup>·h) bereits bei einem Luftvolumenstrom von 30 m<sup>3</sup>/h über einen längeren Zeitraum möglich war.

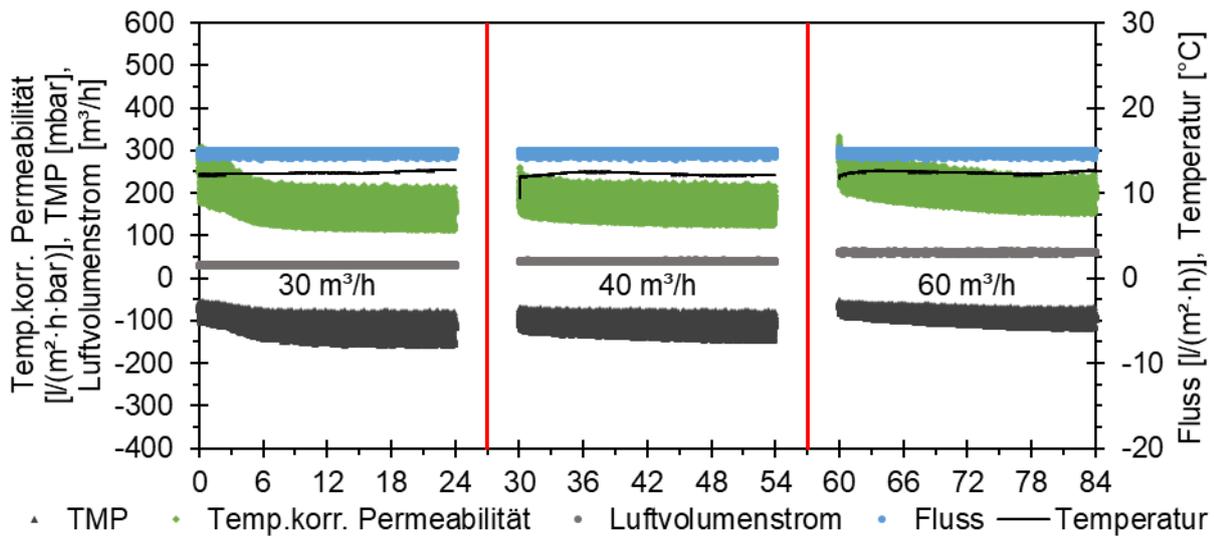


Abbildung 20: Ergebnis Flussuntersuchung 15 l/(m<sup>2</sup>·h) bei unterschiedlichen Luftvolumenströmen

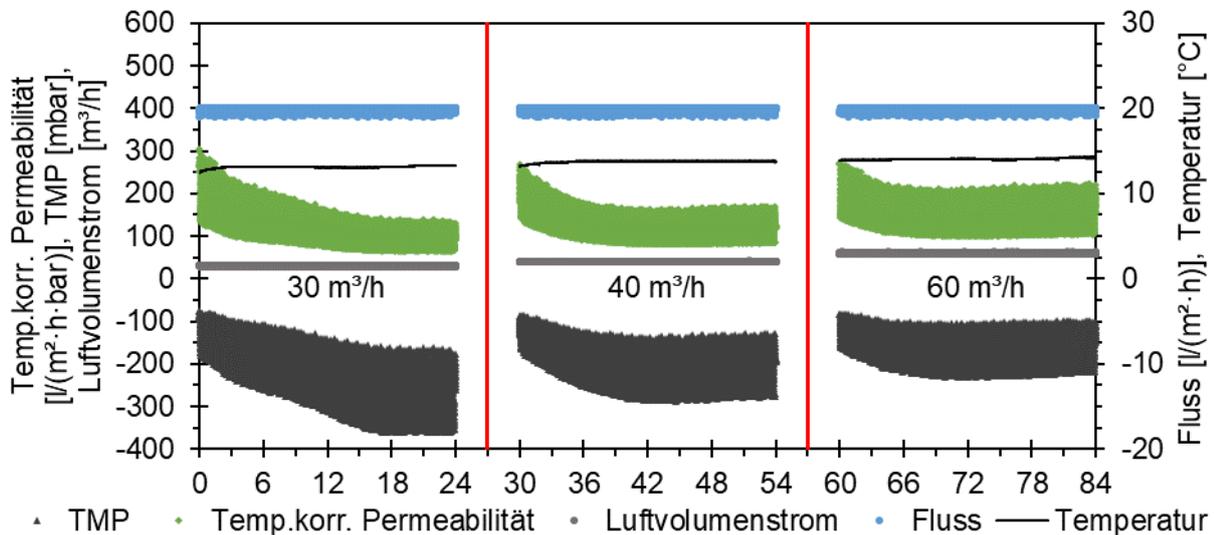


Abbildung 21: Ergebnis Flussuntersuchung 20 l/(m<sup>2</sup>·h)

Bei einem spezifischen Fluss von 20 l/(m<sup>2</sup>·h) zeigte sich in Abbildung 21 für die Luftvolumenströme von 40 und 60 m<sup>3</sup>/h ein ähnlich stabiles Bild wie im vorangegangenen Diagramm, wobei die Einfahrphase bei 40 m<sup>3</sup> Luft pro Stunde bereits einen längeren Zeitraum beanspruchte. Mit einer Belüftungsrate von 30 m<sup>3</sup>/h zeigte sich, insbesondere bei der Betrachtung des TMP ein stetiger Anstieg, der allerdings nach ca. 17 Stunden Betrieb auf einem hohen Niveau abflachte, sodass ein längerfristiger Betrieb der Anlage mit 20 l/(m<sup>2</sup>·h) bei niedrigen Wassertemperaturen mit mindestens 40 m<sup>3</sup> Luft pro Stunde erfolgen sollte.

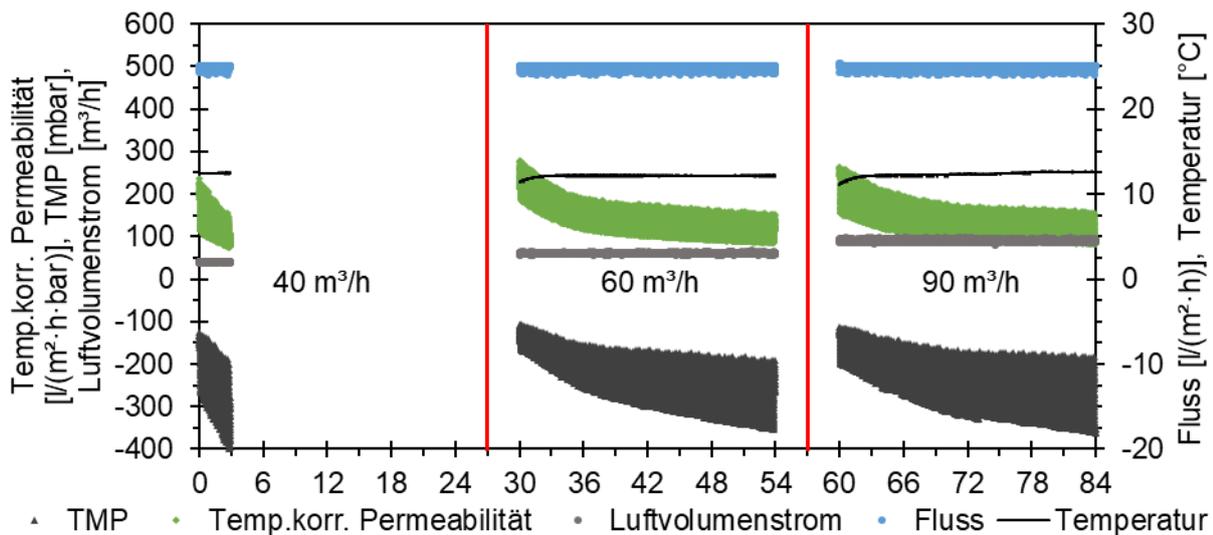


Abbildung 22: Ergebnis Flussuntersuchung 25 l/(m<sup>2</sup>·h)

Mit einem spezifischen Fluss von 25 l/(m<sup>2</sup>·h) und einer Belüftungsrate von 40 m<sup>3</sup>/h war, nach den Ergebnissen aus Abbildung 22, ein längerfristiger Betrieb nicht mehr möglich. Die Anlage erreichte nach 3 Stunden Betrieb den maximal zulässigen TMP und hatte die Filtration gestoppt. Bei Luftvolumenströmen von 60 und 90 m<sup>3</sup>/h ergab sich für den TMP und die temperaturkorrigierte Permeabilität ein kontinuierlicher Anstieg. Dennoch war ein Dauerbetrieb der Anlage über 24 Stunden möglich, sodass für einen Fluss von 25 l/(m<sup>2</sup>·h) in den Wintermonaten und unter diesen abwasserspezifischen Randbedingungen eine Belüftungsmenge von mindestens 60 m<sup>3</sup>/h anzusetzen ist.

Abbildung 23 zeigt, dass ein Dauerbetrieb bei einem Luftvolumenstrom von 60 m<sup>3</sup>/h mit einem Fluss von 30 l/(m<sup>2</sup>·h) hingegen nicht mehr möglich war, da die Anlage nach ca. 4 Stunden den maximal zulässigen TMP erreichte und die Filtration stoppte. Mit den höheren Belüftungsraten von 90 und 115 m<sup>3</sup>/h war jedoch ein Dauerbetrieb, ohne Standby-Phasen über einen Zeitraum von 16 bis 19 Stunden möglich. Da großtechnische Anlagen auf einen Spitzenabflussereignis ausgelegt werden müssen, welches üblicherweise nur kurzzeitig auftritt, ist es zweckmäßig dennoch diesen hohen Fluss zur Auslegung heranzuziehen, um die verbaute Membranfläche und somit die Investitionskosten möglichst gering zu halten.

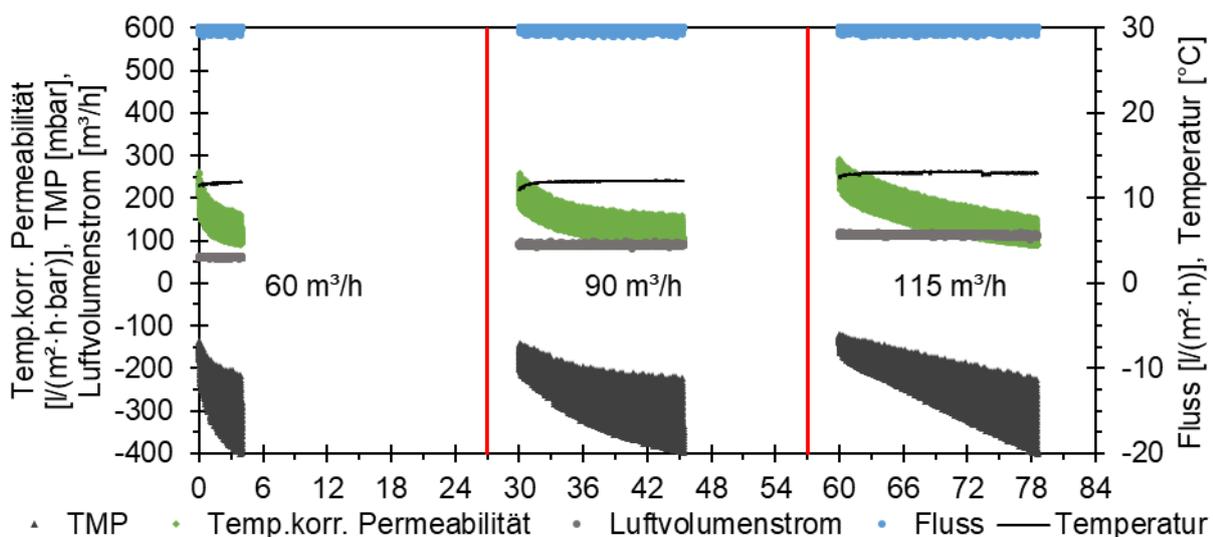


Abbildung 23: Ergebnis Flussuntersuchung 30 l/(m<sup>2</sup>·h)

### 3.2.3. Optimierung chemische Reinigung (AP 1.5)

Während des Betriebes der Versuchsanlage wurden im Regelbetrieb wöchentlich chemische Reinigung zur Entfernung von Belägen auf der Membran durchgeführt. Diese Zwischenreinigungen (maintenance cleaning) wurden sowohl mit Natriumhypochlorit (NaOCl) zur Beseitigung organischen Foulings als auch mit Zitronensäure zur Entfernung anorganischer Deckschichten ausgeführt. Zuerst wurde hierbei mit NaOCl bei einer Zielkonzentration von 500 ppm gereinigt. Anschließend folgte eine kurze Filtrationsphase, um die beiden Chemikalien nicht zu vermischen. Schließlich wurde die zweite chemische Reinigung mit Zitronensäure bei einer Zielkonzentration von 3.200 ppm durchgeführt. Der Ablauf der chemischen Reinigungen ist in Tabelle 8 übersichtlich dargestellt.

Tabelle 8: Ablauf chemische Zwischenreinigung

| Phase            | Zeitdauer | Pumpeneinstellung |          |                    | Zielkonzentration               |
|------------------|-----------|-------------------|----------|--------------------|---------------------------------|
|                  |           | Permeat           | NaOCl    | Zitronensäure (CA) |                                 |
| Stop Filtration  | 0 Min     | -                 | -        | -                  | -                               |
| Backwash Chemie  | 10 Min    | 4,8 m³/h          | 21,6 L/h | 48 L/h             | NaOCl: 500 ppm<br>CA: 5.000 ppm |
| Einwirkzeit      | 45 Min    | -                 | -        | -                  |                                 |
| Backwash Chemie  | 3 Min     | 4,8 m³/h          | 21,6 L/h | 48 L/h             |                                 |
| Einwirkzeit      | 45 Min    | -                 | -        | -                  |                                 |
| Backwash Chemie  | 1 Min     | 4,8 m³/h          | 21,6 L/h | 48 L/h             |                                 |
| Einwirkzeit      | 45 Min    | -                 | -        | -                  |                                 |
| Freispülen       | 3 Min     | 4,8 m³/h          | -        | -                  |                                 |
| Start Filtration | 0 Min     | -                 | -        | -                  | -                               |

Ergänzend zu den Zwischenreinigungen wurden an der Versuchsanlage zwei Intensivreinigungen durchgeführt. Diese hatten das Ziel irreversibles Fouling nach längerer Betriebszeit auf den Membranen, das durch die Zwischenreinigungen nicht mehr gelöst werden konnte, zu entfernen und die Permeabilität wiederherzustellen. Zudem wurde dadurch eine Begutachtung der Membranmodule sowie der Belüfterelemente ermöglicht. Der Ablauf der beiden Intensivreinigungen ist in der folgenden Abbildung 24 schrittweise dargestellt.

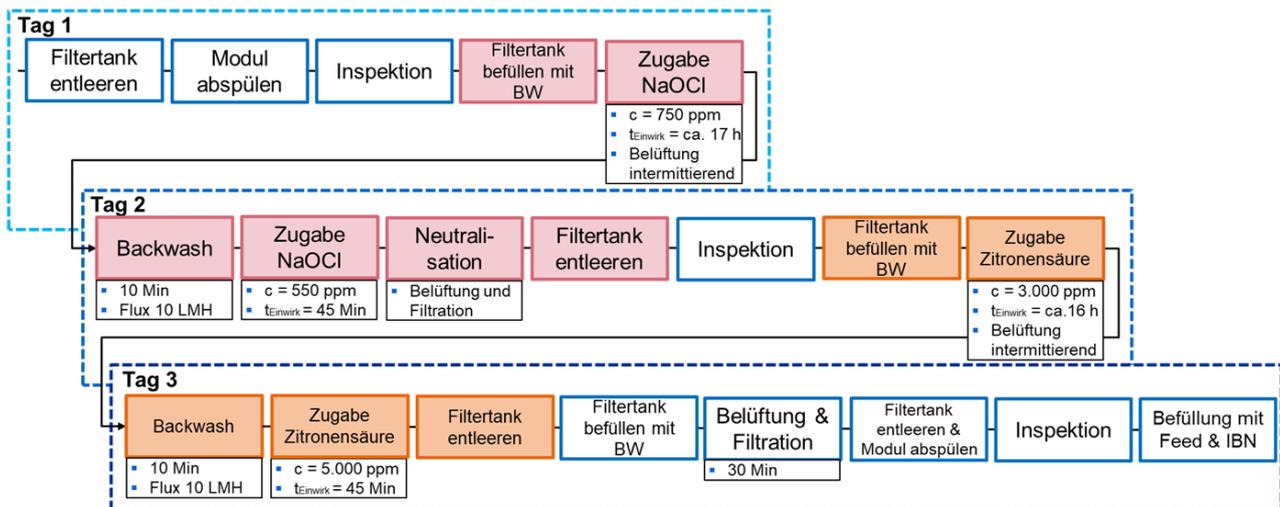


Abbildung 24: Ablaufschema Intensivreinigung

Die folgenden Bilder (Abbildung 25) zeigen den Zustand des Membranmoduls vor der Intensivreinigung, nach der Reinigung mit NaOCl und nach der zweiten Reinigung mit Zitronensäure.

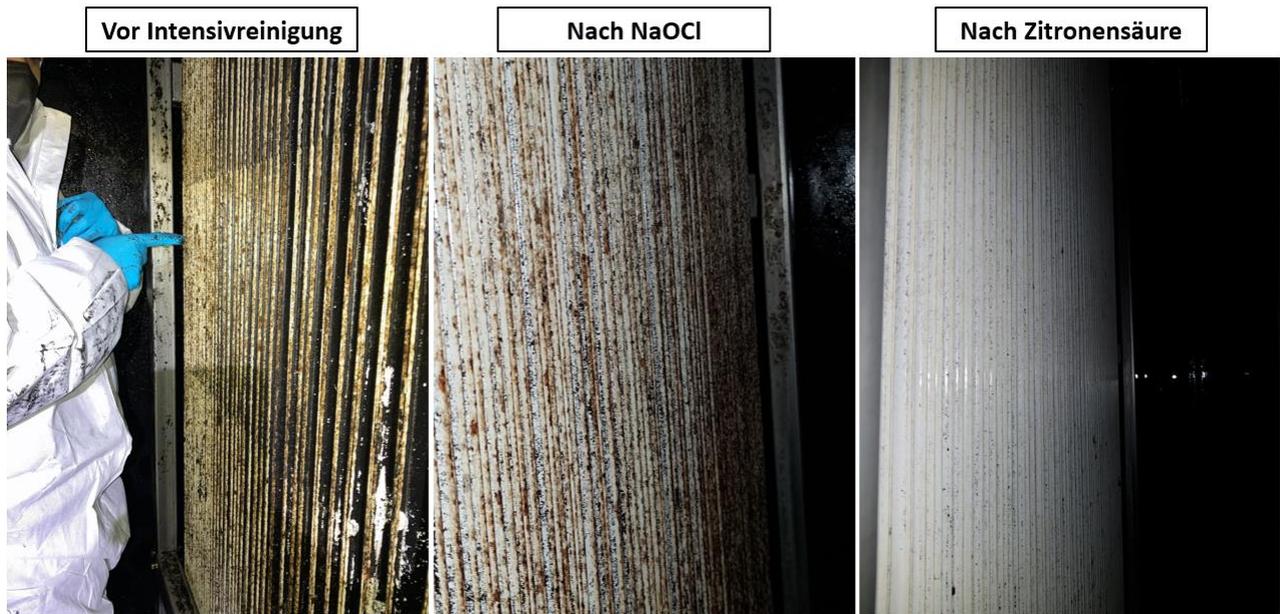


Abbildung 25: Reinigungserfolg der Intensivreinigung

Es ist bereits optisch erkennbar, dass durch die Reinigung mit NaOCl ein Reinigungseffekt an der Membran erzielt wurde. Dieser optische Eindruck wurde nach der Reinigung mit Zitronensäure nochmals intensiviert. Ergänzend zu den visuellen Reinigungserfolgen, zeigte sich auch eine deutliche Regeneration der Permeabilität um mehr als Faktor zwei von 237 l/(m<sup>2</sup>·h·bar) vor auf 526 l/(m<sup>2</sup>·h·bar) nach der Intensivreinigung. Darüber hinaus konnten bei der Begutachtung des Moduls keine Beschädigungen an den Membranen festgestellt werden, was durch begleitende Analysen des Permeats auf *E. coli* und Gesamtcoliforme bekräftigt wurde.

Ergänzend zu den Zwischen- und Intensivreinigungen wurden initiale Laborversuche durchgeführt, die zum Ziel hatten, NaOCl als Reinigungschemikalie gegen Fouling durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu ersetzen. Hierfür wurden drei Miniatur-Membrantaschen mit einer Fläche von jeweils 0,09 m<sup>2</sup> über mehrere Wochen in einem 60L-Durchlaufreaktor betrieben. Der Reaktor war mit Belebtschlamm gefüllt, wurde kontinuierlich mit synthetischem Abwasser befüllt und belüftet, um die Mikroorganismen mit Nährstoffen und ausreichend Sauerstoff zu versorgen. Durch den Betrieb in Belebtschlamm sollte möglichst schnell Fouling auf den Membranen erzeugt werden. Die Filtration lief kontinuierlich mittels Schlauchpumpe und wurde nach festen Zeitintervallen kurzzeitig unterbrochen, um Deckschichten auf der Membranoberfläche mittels Crossflow wirksam abzutragen. Sobald der Transmembrandruck ausreichend hoch war, um auf ein Fouling schließen zu können, wurden die Membranen einerseits mit der herkömmlichen Methode mittels NaOCl bei einer Zielkonzentration von 500 ppm und andererseits mittels H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mit Zielkonzentrationen von 5.000 ppm, 7.500 ppm und 10.000 ppm gereinigt. Zur Beurteilung des Reinigungserfolges wurde die Permeabilität vor und nach der jeweiligen Reinigung herangezogen. Ausgewertet wurden hierbei 1, 2 und 5 Filtrationszyklen, um die Dauerhaftigkeit des Reinigungserfolges erkennen zu können. Die Ergebnisse der Laborversuche sind in der folgenden Abbildung 26 dargestellt.

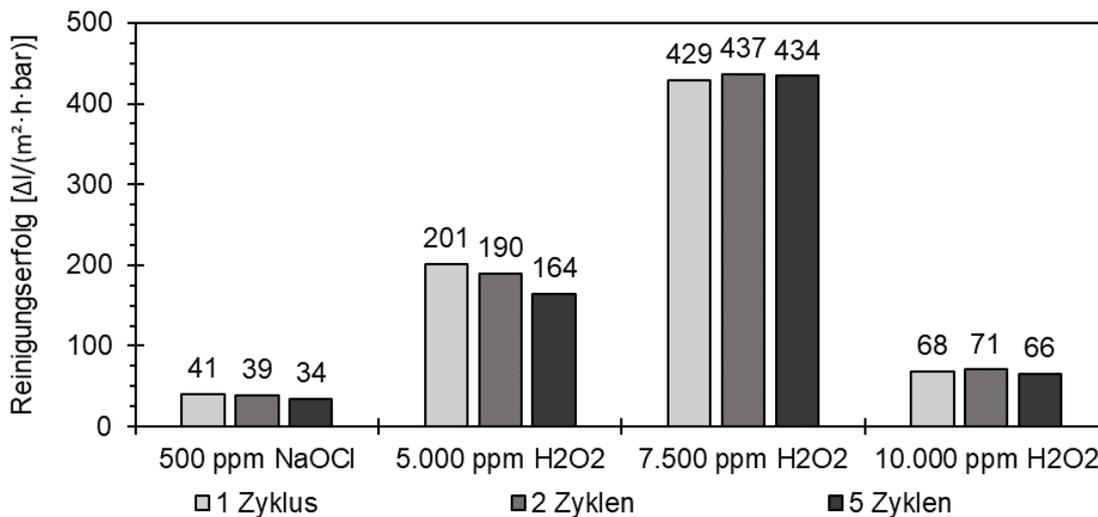


Abbildung 26: Relativer Reinigungserfolg mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> im Vergleich zu NaOCl

Es ist zu erkennen, dass alle chemischen Reinigungen einen Reinigungseffekt hervorriefen. Darüber hinaus zeigte sich ein stärkerer Reinigungseffekt bei 5.000 und 7.500 ppm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> im Vergleich zu den herkömmlichen 500 ppm NaOCl. Dieser gesteigerte Reinigungserfolg ließ sich mit der dritten Reinigung bei einer Zielkonzentration von 10.000 ppm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nicht bestätigen. Diese Reinigung wies einen niedrigeren Reinigungserfolg auf als die herkömmliche chemische Zwischenreinigung mit 500 ppm NaOCl.

Die Wirksamkeit von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als Reinigungschemikalie konnte auf Grundlage dieser Versuche zwar bestätigt werden, jedoch ließ sich aufgrund des geringen Reinigungserfolges bei einer Zielkonzentration von 10.000 ppm nicht abschließend einschätzen, ob H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> besser zur Beseitigung von organischem Fouling als NaOCl geeignet ist. Zur Klärung dieser Fragestellung sind umfassende weitere Versuche im Labormaßstab sowie die Übertragung auf die Pilot- bzw. großtechnische Anlage notwendig.

### 3.3. Beprobung der Versuchsanlage (AP 2)

#### 3.3.1. Standardanalytik

Die Versuchsanlage wurde regelmäßig anhand von 24h-Mischproben, hinsichtlich der Standardanalytik-Parameter CSB, P<sub>ges</sub>, PO<sub>4</sub>-P, SAK<sub>254</sub> und TOC in einem Labor der Hochschule Darmstadt beprobt. Darüber hinaus wurden die Parameter SAK mit Sonden und PO<sub>4</sub>-P mittels Phosphax sc low range im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage online aufgezeichnet. Die Parameter CSB, TOC und SAK werden hierbei durch die Dosierung der Aktivkohle beeinflusst. Die Analyseergebnisse werden aufgrund dessen in drei Projektphasen unterteilt. Einerseits in eine Einfahrphase ohne PAK-Dosierung und andererseits in zwei weitere Phasen mit jeweils unterschiedlichen PAK-Produkten.

Hinsichtlich der P-Fällung ist zu beachten, dass über das gesamte erste Betriebsjahr sehr niedrige P<sub>ges</sub>- und PO<sub>4</sub>-P-Ablaufwerte vorlagen, sodass eine zusätzliche, weitergehende Phosphor-Elimination in der Versuchsanlage nicht durchgeführt werden konnte. Dementsprechend wurde über den ersten Betriebszeitraum nahezu kein Fällmittel in der Anlage dosiert. Im vierten Quartal 2022 stiegen die P-Ablaufkonzentrationen der Kläranlage, aufgrund global stark steigender Kosten für Fällmittel und daraus resultierender betrieblicher Umstellungen, jedoch an. Im Zuge dieser Umstellung wurde auch die Fällmitteldosierung an der Versuchsanlage angepasst, sodass in der letzten Projektphase auch der Einsatz von Fällmitteln zur weitergehenden P-Elimination untersucht werden konnte.

### 3.3.1.1. CSB-Elimination

Die Analyse der 24h-Mischproben hinsichtlich des CSB-Gehaltes fand im Labor der Hochschule Darmstadt statt. Die Ergebnisse der CSB-Konzentration im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage (Feed & Permeat) sind zusammen mit der erzielten prozentualen Reduktion durch die PAK/UF-Anlage in Abbildung 27 über den gesamten Versuchszeitraum mit der Darstellung der drei unterschiedlichen Projektphasen (ohne PAK, PAK 4, PAK 12) dargestellt.

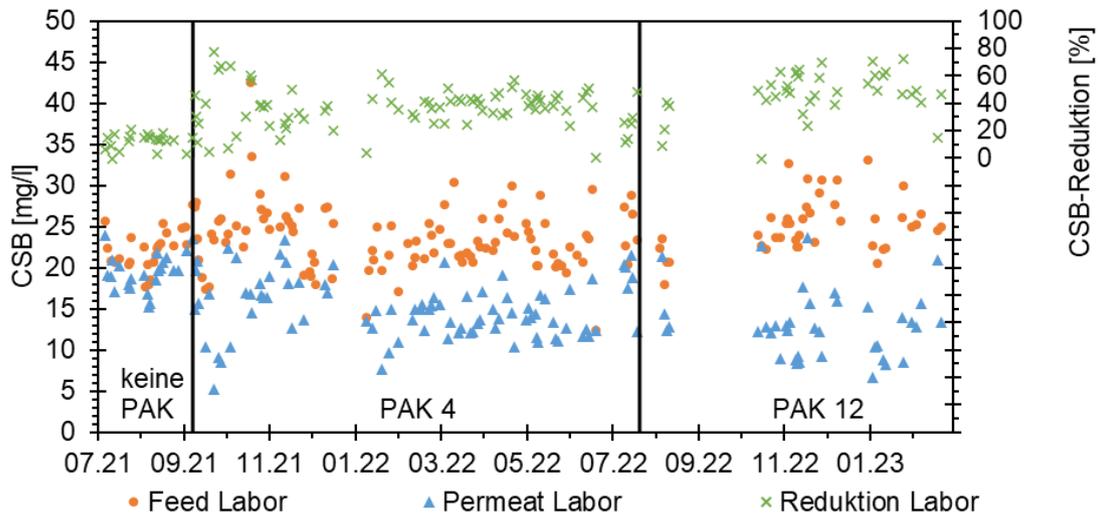


Abbildung 27: CSB-Analysen Feed und Permeat

Anhand der Analyseergebnisse lässt sich erkennen, dass sich die CSB-Konzentrationen im Zulauf zur Versuchsanlage (Feed) über die gesamte Versuchslaufzeit, mit entsprechenden Schwankungen, auf einem gleichbleibenden Niveau bewegte. In der ersten Versuchsphase ohne PAK-Dosierung lagen die Messwerte im Permeat unmittelbar unterhalb der Zulauf-Messwerte, was auf die Abscheidung der partikulären organischen Abwasserinhaltsstoffe zurückzuführen war. Mit dem Einsetzen der PAK-Dosierung sanken die Messwerte im Permeat ab September 2021 ab. Dieser Trend wurde nach dem Wechsel des PAK-Produktes im Juli 2022 und dem unmittelbar anschließenden längeren Betriebsausfall im September und Oktober 2022 fortgesetzt und noch verstärkt. Einzelne Ausreißer in den Messwerten waren sowohl für die Analysen des Zu- als auch des Ablaufs zu erkennen. Die gesteigerten Effekte der CSB-Elimination durch die PAK-Dosierung spiegeln sich auch in der prozentualen Reduktion wider. Die erzielten Ergebnisse hinsichtlich der CSB-Analytik sind zusätzlich in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9: Ergebnisse CSB-Analytik

| Phase     | Parameter                | Minimum | Mittelwert | Median | Maximum | Anzahl |
|-----------|--------------------------|---------|------------|--------|---------|--------|
| Keine PAK | Feed CSB Labor [mg/l]    | 14,4    | 23,5       | 22,8   | 39,5    | 47     |
|           | Permeat CSB Labor [mg/l] | 13,9    | 20,1       | 20,0   | 25,4    | 47     |
|           | Reduktion CSB Labor [%]  |         | 13,74      | 13,72  |         | 40     |
| PAK 4     | Feed CSB Labor [mg/l]    | 12,4    | 23,6       | 23,3   | 42,5    | 106    |
|           | Permeat CSB Labor [mg/l] | 5,3     | 15,0       | 14,9   | 23,3    | 88     |
|           | Reduktion CSB Labor [%]  |         | 36,7       | 37,7   |         | 85     |
| PAK 12    | Feed CSB Labor [mg/l]    | 18,0    | 25,1       | 25,0   | 33,1    | 42     |
|           | Permeat CSB Labor [mg/l] | 6,7     | 13,1       | 12,8   | 23,6    | 38     |
|           | Reduktion CSB Labor [%]  |         | 46,98      | 48,33  |         | 38     |

In der Versuchsphase ohne PAK-Dosierung wurde die CSB-Konzentration im Mittel im Permeat auf 20,1 mg/l, alleine durch die Ultrafiltration reduziert. Bezogen auf alle Messungen bei denen Feed und Permeat gleichzeitig untersucht wurden, ergab sich daraus eine gemittelte prozentuale Reduktion von 13,7%. Ab September 2021 startete die Dosierung des ersten PAK-Produktes (PAK 4), was im Durchschnitt zu einem Ablaufwert im Permeat von 15,0 mg/l und einer mittleren

Reduktion um 36,7% führe. Nach dem Wechsel des PAK-Produktes (PAK 12) im Juli 2022 erhöhte sich die mittlere CSB-Elimination auf 47% mit einem mittleren Ablaufwert von 13,1 mg/l im Permeat. Anhand der erzielten Analyseergebnisse zeigte sich, dass über die Laufzeit der Anlage mit Aktivkohledosierung Mittelwerte und Mediane unterhalb von 20 mg/l erreicht werden konnten. Jedoch wurden auch in allen drei Phasen des Projektes vereinzelte Maximalwerte oberhalb der 20 mg/l (23,6 mg/l bei den Phasen mit PAK-Dosierung und 25,4 mg/l in der Phase ohne PAK-Dosierung) gemessen.

### 3.3.1.2. TOC-Elimination

Die TOC-Konzentrationen wurden ebenfalls im Labor der Hochschule Darmstadt bestimmt. Die Ergebnisse der TOC-Konzentration im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage (Feed & Permeat) sind zusammen mit der erzielten prozentualen Reduktion durch die PAK/UF-Anlage in Abbildung 28 über den gesamten Versuchszeitraum mit der Darstellung der drei unterschiedlichen Projektphasen (ohne PAK, PAK 4, PAK 12) dargestellt.

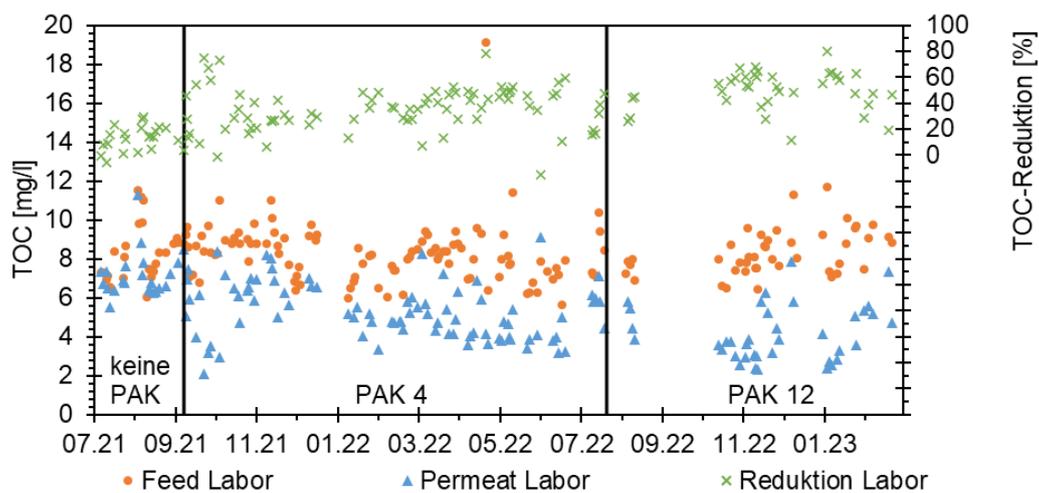


Abbildung 28: TOC-Analysen Feed und Permeat

Die Verteilung der TOC-Messwerte im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage zeigten, simultan zu den Ergebnissen der CSB-Konzentrationen, eine geringfügige Reduktion hervorgerufen durch die Membranfiltration ohne Aktivkohleeinsatz. Auch in diesem Diagramm war eine gesteigerte Reduktion nach Einsetzen der PAK-Dosierung zu erkennen, welche nochmals erhöht wurde, nachdem Wechsel des PAK-Produkts. Schwankungen in den Messwerten können auch in dieser Darstellung erkannt werden, welche vorrangig auf Schwankungen in der Zulaufkonzentration zurückzuführen waren, jedoch auch durch Abweichungen bei der PAK-Dosierung oder Messunsicherheiten hervorgerufen werden können. Die Messwerte sind über alle drei Betriebsphasen der Anlage mit den Minima, Mittelwerten, Medianen, Maxima und der betrachteten Probenanzahl in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Ergebnisse TOC-Analytik

| Phase     | Parameter                | Minimum | Mittelwert | Median | Maximum | Anzahl |
|-----------|--------------------------|---------|------------|--------|---------|--------|
| Keine PAK | Feed TOC Labor [mg/l]    | 5,64    | 8,39       | 8,30   | 13,10   | 47     |
|           | Permeat TOC Labor [mg/l] | 4,49    | 7,00       | 6,75   | 11,30   | 47     |
|           | Reduktion TOC Labor [%]  |         | 14,02      | 14,31  |         | 39     |
| PAK 4     | Feed TOC Labor [mg/l]    | 5,61    | 8,25       | 8,25   | 19,10   | 104    |
|           | Permeat TOC Labor [mg/l] | 2,09    | 5,32       | 5,17   | 9,11    | 86     |
|           | Reduktion TOC Labor [%]  |         | 35,70      | 36,18  |         | 83     |
| PAK 12    | Feed TOC Labor [mg/l]    | 6,46    | 8,33       | 8,01   | 11,70   | 44     |
|           | Permeat TOC Labor [mg/l] | 2,32    | 4,16       | 3,80   | 7,84    | 38     |
|           | Reduktion TOC Labor [%]  |         | 49,80      | 52,64  |         | 38     |

Bevor die PAK-Dosierung in Betrieb genommen wurde, reduzierte die Versuchsanlage die TOC-Konzentration im Mittel um 14% von 8,39 mg/l im Feed auf 7,00 mg/l im Permeat. Während der Dosierung des ersten PAK-Produktes konnte der TOC von 8,25 auf 5,32 mg/l um 35,7% reduziert werden und mit dem Einsatz des zweiten PAK-Produktes sogar noch weiter von 8,33 auf 4,16 mg/l um etwa 50 % verringert werden. Insgesamt zeigte sich dasselbe Bild wie bei der Reduzierung des CSB.

### 3.3.1.3. SAK<sub>254</sub>-Elimination

Die Analyse der 24h-Mischproben hinsichtlich des SAK<sub>254</sub> fand einerseits im Labor der Hochschule Darmstadt statt und wurde andererseits mittels Sonden Viomax CUS51D der Firma Endress & Hauser im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage online aufgezeichnet. Die Ergebnisse des SAK<sub>254</sub> im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage (Feed & Permeat) sind zusammen mit der erzielten prozentualen Reduktion durch die PAK/UF-Anlage in Abbildung 29 über den gesamten Versuchszeitraum mit der Darstellung der drei unterschiedlichen Projektphasen (ohne PAK, PAK 4, PAK 12), die durch vertikale Linien voneinander getrennt sind, dargestellt.

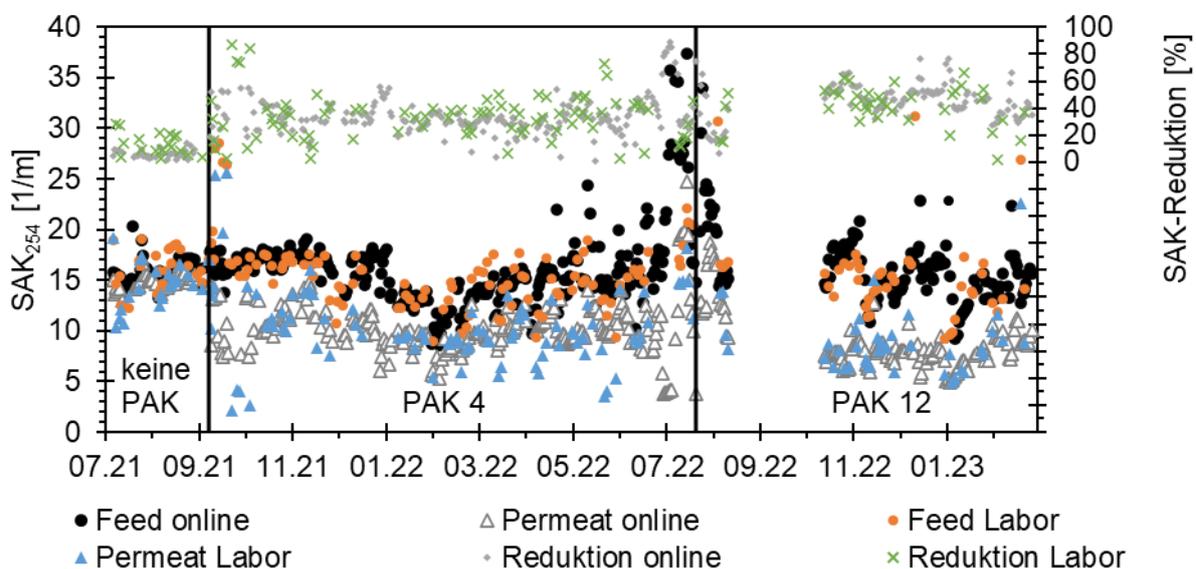


Abbildung 29: SAK<sub>254</sub>-Analytik Feed und Permeat

Das Diagramm zeigt für den Zulauf der Versuchsanlage eine sehr gute Übereinstimmung zwischen der Laboranalytik und den Messwerten der SAK-Sonde. In der Phase ohne PAK-Dosierung zeigte sich eine Reduktion des SAK<sub>254</sub>-Gehaltes im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage um etwa 20%. Mit dem Beginn der PAK-Dosierung verringerte sich der SAK<sub>254</sub>-Gehalt im Permeat sowohl in der online Messtechnik als auch in der Laboranalytik, was auch an der stark gestiegenen prozentualen Reduktion deutlich wurde. Nach dem Wechsel der eingesetzten Pulveraktivkohle und der unmittelbar anschließenden Betriebspause verstärkte sich dieser Effekt nochmals. Die folgende Tabelle 11 stellt die erzielten SAK<sub>254</sub>-Werte zusätzlichen für die drei unterschiedlichen Phasen gegenüber.

In der Betriebsphase ohne PAK-Dosierung wurde mit der online Messtechnik eine mittlere SAK<sub>254</sub>-Reduzierung von 6,2% von 15,75 auf 14,87 1/m und mit der Laboranalytik von 17,5% von 17,77 auf 15,02 1/m bestimmt. Während der Dosierung des ersten PAK-Produktes, erhöhte sich die mittlere Elimination des SAK<sub>254</sub> mit den Sonden auf 34,1% und 33,6% anhand der Laboranalytik. Nach der Umstellung auf die alternative Pulveraktivkohle stieg die mittlere Reduktion des SAK<sub>254</sub> mittels Messsonden auf 45,4% von 16,12 auf 8,74 1/m an. Bei der Laboranalyse der alternativen PAK stieg die Elimination auf 41,4%, d.h. von 15,51 im Feed auf 8,85 1/m im Permeat. Mit diesen Werten bestätigte sich der optische Eindruck, dass die Messwerte der Sonden und der Laboranalytik gut übereinstimmen. Ebenso zeigte sich deutlich der Adsorptionseffekt der Aktivkohle auf den SAK<sub>254</sub> in den analysierten Proben.

Tabelle 11: Ergebnisse SAK<sub>254</sub>-Analytik

| Phase     | Parameter                               | Minimum | Mittelwert | Median | Maximum | Anzahl |
|-----------|---|---------|------------|--------|---------|--------|
| Keine PAK | Feed SAK <sub>254</sub> online [1/m]    | 13,28   | 15,75      | 15,58  | 20,34   | 55     |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> online [1/m] | 13,03   | 14,87      | 14,79  | 17,12   | 42     |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> online [%] |         | 6,23       | 5,35   |         | 37     |
|           | Feed SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]     | 8,10    | 17,77      | 16,70  | 34,50   | 51     |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]  | 9,20    | 15,02      | 14,55  | 28,20   | 48     |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> Labor [%]  |         | 17,48      | 15,48  |         | 34     |
| PAK 4     | Feed SAK <sub>254</sub> online [1/m]    | 8,58    | 16,01      | 15,60  | 37,35   | 251    |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> online [1/m] | 3,77    | 10,34      | 10,03  | 24,75   | 235    |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> online [%] |         | 34,14      | 31,70  |         | 235    |
|           | Feed SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]     | 9,00    | 15,53      | 15,40  | 28,60   | 106    |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]  | 2,10    | 10,46      | 9,90   | 25,60   | 88     |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> Labor [%]  |         | 33,62      | 35,06  |         | 85     |
| PAK 12    | Feed SAK <sub>254</sub> online [1/m]    | 9,19    | 16,12      | 15,57  | 33,95   | 134    |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> online [1/m] | 4,95    | 8,74       | 8,12   | 18,69   | 134    |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> online [%] |         | 45,37      | 46,52  |         | 133    |
|           | Feed SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]     | 9,20    | 15,51      | 15,18  | 31,25   | 44     |
|           | Permeat SAK <sub>254</sub> Labor [1/m]  | 4,95    | 8,85       | 8,20   | 22,60   | 39     |
|           | Reduktion SAK <sub>254</sub> Labor [%]  |         | 41,43      | 42,84  |         | 38     |

### 3.3.1.4. P<sub>ges</sub>-Elimination

Die Analyse der 24h-Mischproben hinsichtlich der P<sub>ges</sub> Konzentration fand einerseits mittels Küvettentests LCK 349 der Firma Hach Lange in einem Labor der Hochschule Darmstadt statt und wurde andererseits mit einem Phosphax Sigma der Firma Hach Lange im Zulauf der Versuchsanlage online aufgezeichnet. Die Ergebnisse der P<sub>ges</sub>-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage (Feed & Permeat) wurden zusammen mit der erzielten prozentualen Reduktion durch die PAK/UF-Anlage in Abbildung 30 über den gesamten Versuchszeitraum mit den durchgeführten Anpassungen an der Fällmitteldosierung dargestellt.

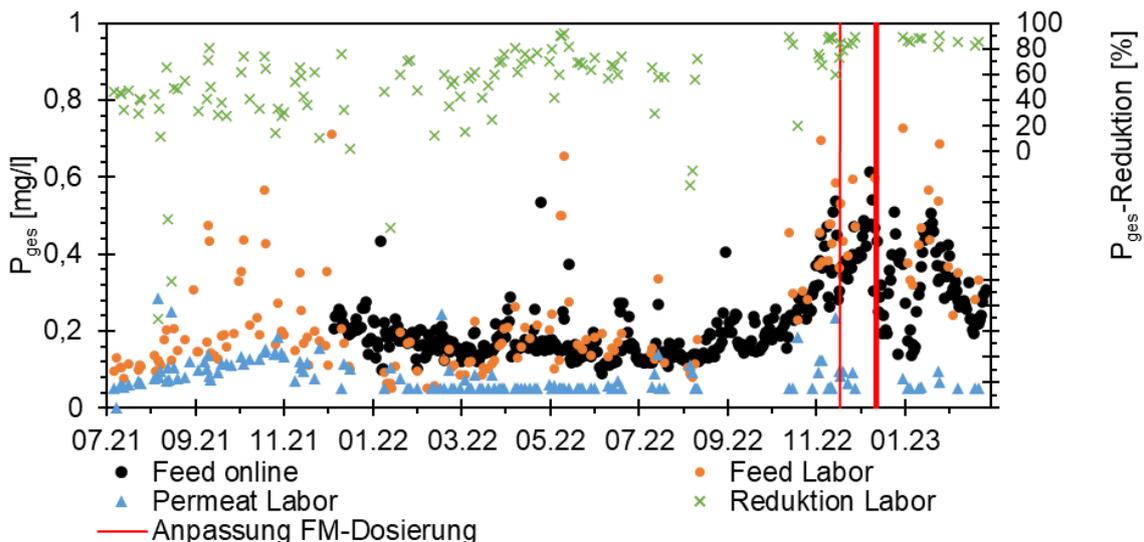


Abbildung 30: P<sub>ges</sub>-Analytik Feed und Permeat

Das Diagramm gibt einen Überblick über die P<sub>ges</sub>-Labormesswerte in Feed und Permeat der Versuchsanlage über die gesamte Projektlaufzeit sowie P<sub>ges</sub>-online-Messwerte im Zulauf zur Versuchsanlage ab Dezember 2021, da diese Messstelle zuvor nicht in Betrieb war. Es wird deutlich, dass im Zulauf zur Versuchsanlage bis September 2022, mit Ausnahme einiger Ausreißer, konstant eine niedrige P<sub>ges</sub>-Konzentration vorlag. Im Permeat zeigten sich über weite Strecken Werte an bzw.

unterhalb der Bestimmungsgrenze des eingesetzten Küvettentests im Labor. Diese Reduktion war maßgeblich auf die Separationsleistung der Ultrafiltrationsmembran zurückzuführen, da in diesen Zeitraum kaum Fällmittel dosiert wurden. Ab Oktober 2022 steigen die  $P_{ges}$ -Konzentrationen im Zulauf an, was schließlich zu mehreren Erhöhungen der Fällmitteldosierung an der Versuchsanlage geführt hatte. Es zeigte sich, dass nach einer dritten Anpassung der Dosierleistung im Permeat erneut dauerhaft Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze, bei gleichbleibend hohen Zulaufwerten, erreicht werden konnten.

Ergänzend zum Gesamtüberblick wird in Abbildung 31 der repräsentative Zeitraum mit den erhöhten P-Ablaufwerten und der angepassten Fällmitteldosierung dargestellt. In diesem Diagramm wurde zusätzlich auch der erzielte  $\beta$ -Wert bei den unterschiedlichen Dosiermengen abgebildet. Der  $\beta$ -Wert im Diagramm muss hierbei mit dem Faktor 10 multipliziert werden, da sonst eine Darstellung aller Werte in einem Diagramm nicht mehr möglich gewesen wäre.

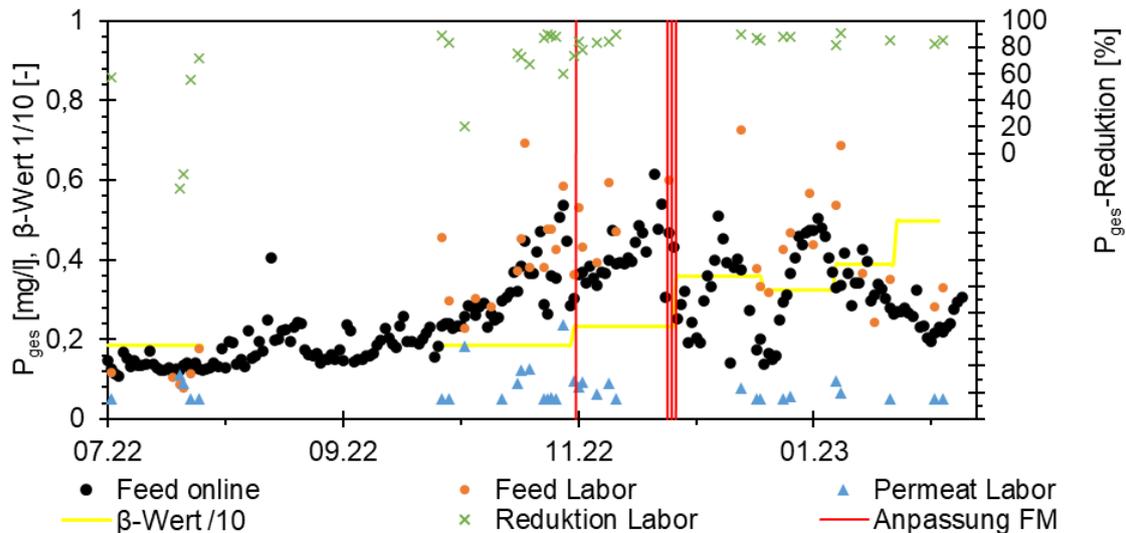


Abbildung 31:  $P_{ges}$ -Analytik Feed und Permeat mit angepasster Fällmitteldosierung

In dieser höher aufgelösten Grafik zeigt sich deutlicher, dass die hohen Messwerte im Feed, abhängig vom vorhandenen  $\beta$ -Wert, stark bis unterhalb der Bestimmungsgrenze reduziert werden können. Auch die prozentuale Reduktion bewegte sich nach den Anpassungen bei der Fällmitteldosierung auf einem konstant sehr hohen Niveau. Die folgende Tabelle 12 führt ergänzend die erzielten Messwerte des  $P_{ges}$ -Gehaltes in Zu- und Ablauf der Versuchsanlage, mit den entsprechenden eingestellten Fällmittel-Dosiermengen und den rückgerechneten  $\beta$ -Werten auf. Die Tabelle enthält lediglich Daten aus dem Zeitraum 25.07.22-01.03.23, da für den vorangegangenen Zeitraum der Fällmittelverbrauch, aufgrund der geringen  $P_{ges}$ -Gehalte im Abwasser, nicht detailliert ausgewertet wurde.

Tabelle 12: Ergebnisse  $P_{ges}$ -Analytik

| Phase   | Parameter                      | Minimum | Mittelwert | Median | Maximum | Anzahl |
|---|--------------------------------|---------|------------|--------|---------|--------|
| FM 2,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=1,86$                            | Feed $P_{ges}$ online [mg/l]   | 0,107   | 0,213      | 0,191  | 0,537   | 123    |
|   | Feed $P_{ges}$ Labor [mg/l]    | 0,079   | 0,327      | 0,364  | 0,694   | 21     |
|   | Permeat $P_{ges}$ Labor [mg/l] | 0,050   | 0,087      | 0,052  | 0,236   | 18     |
|   | Reduktion $P_{ges}$ Labor [%]  |         | 61,1%      | 72,7%  |         | 17     |
| FM 6,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=2,33$                            | Feed $P_{ges}$ online [mg/l]   | 0,305   | 0,415      | 0,397  | 0,614   | 25     |
|   | Feed $P_{ges}$ Labor [mg/l]    | 0,394   | 0,504      | 0,501  | 0,599   | 6      |
|   | Permeat $P_{ges}$ Labor [mg/l] | 0,050   | 0,076      | 0,082  | 0,094   | 5      |
|   | Reduktion $P_{ges}$ Labor [%]  |         | 84,1%      | 84,6%  |         | 5      |
| FM 9,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=3,25-4,98$<br>$\varnothing=3,80$ | Feed $P_{ges}$ online [mg/l]   | 0,138   | 0,314      | 0,312  | 0,509   | 69     |
|   | Feed $P_{ges}$ Labor [mg/l]    | 0,242   | 0,430      | 0,377  | 0,726   | 15     |
|   | Permeat $P_{ges}$ Labor [mg/l] | 0,050   | 0,060      | 0,051  | 0,097   | 10     |
|   | Reduktion $P_{ges}$ Labor [%]  |         | 86,2%      | 86,0%  |         | 10     |

In der ersten betrachteten Phase mit einem  $\beta$ -Wert von 1,86 wurde die  $P_{\text{ges}}$ -Konzentration im Mittel von 0,327 im Feed auf 0,087 mg/l im Permeat um 61,1% reduziert. Nach der ersten Erhöhung der Fällmitteldosierung ( $\beta$ -Wert = 2,33) stieg die Elimination auf 84,1% von durchschnittlich 0,504 auf 0,076 mg/l weiter stark an. Anschließend wurde an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen die Fällmittelmenge weiter gesteigert und dadurch in der dritten Phase ein durchschnittlicher  $\beta$ -Wert von 3,80 erreicht. In dieser Phase wurde die  $P_{\text{ges}}$ -Konzentration von 0,430 im Zulauf der Versuchsanlage auf 0,060 im Ablauf um 86,2% reduziert. Anhand dieser Daten zeigt sich, dass die Ultrafiltration selbst mit sehr geringen Fällmittelmengen  $P_{\text{ges}}$  reduzieren kann, indem der partikuläre Anteil im Abwasser zurückgehalten wurde. Bei höheren Zulaufkonzentrationen und gleichzeitig angepasster Fällmitteldosiermenge lassen sich zuverlässig niedrige Ablaufwerte bis unterhalb der Bestimmungsgrenze im Permeat erzielen. Hierbei liegen die rückgerechneten  $\beta$ -Werte in einem üblichen Bereich für eine Flockungsfiltration (Vgl. z.B. DWA-A 202).

### 3.3.1.5. PO<sub>4</sub>-P-Elimination

Die Analyse der 24h-Mischproben hinsichtlich PO<sub>4</sub>-P fand auch im Labor der Hochschule Darmstadt statt und wurde zudem mit einem Phosphax Sigma der Firma Hach Lange im Zulauf der Versuchsanlage und mit einem Phosphax SC low range im Ablauf der Versuchsanlage online aufgezeichnet. Die Ergebnisse der PO<sub>4</sub>-P-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der Versuchsanlage (Feed & Permeat) sind zusammen mit der erzielten prozentualen Reduktion durch die PAK/UF-Anlage in Abbildung 32 über den gesamten Versuchszeitraum mit den durchgeführten Anpassungen an der Fällmitteldosierung dargestellt.

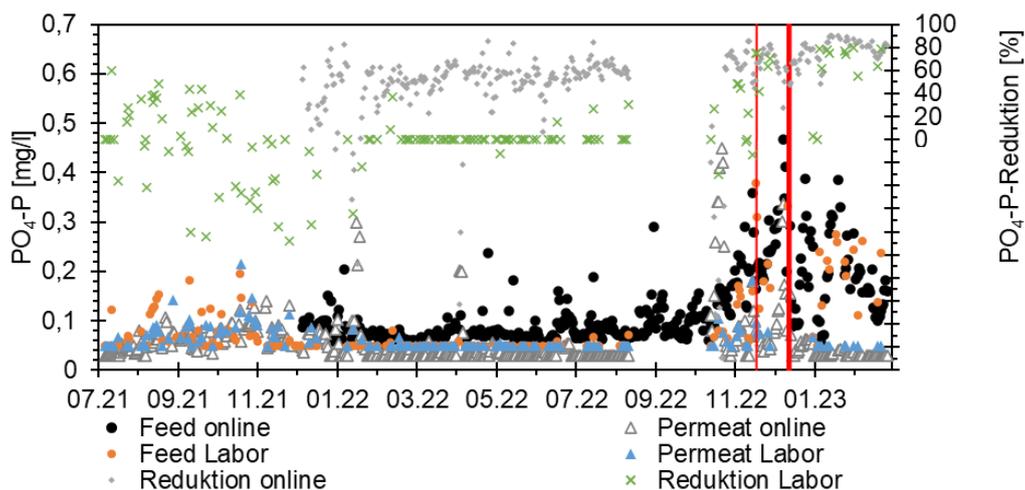


Abbildung 32: PO<sub>4</sub>-P-Analytik Feed und Permeat

Auch für die Labor- und online-Messwerte von PO<sub>4</sub>-P zeigt sich im Diagramm ein ähnliches Bild wie zuvor. Jedoch zeigte sich bei diesen Messwerten noch deutlicher die niedrige Zulaufkonzentration bis September 2022. Auffällig war, dass in der Laboranalytik über weite Strecken sowohl Zu- als auch Ablauf der Versuchsanlage unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen. Bei den online-Messwerten ab Dezember 2021 zeigte sich jedoch, dass der PO<sub>4</sub>-P-Gehalt im Zulauf doch etwas oberhalb des Permeats lag. Die hohen erzielten Reduktionen sind hierbei insbesondere auf die niedrigere Bestimmungsgrenze des eingesetzten Phosphax sc low range (0,03 mg/l) zurückzuführen. Ab Oktober 2022 zeigten sich auch hier steigende Konzentrationen im Zulauf zur Versuchsanlage, welchen mit Erhöhungen der dosierten Fällmittelmenge entgegengewirkt wurde. Ergänzend zu diesem Gesamtüberblick wird in Abbildung 33 der repräsentative Zeitraum mit den erhöhten P-Ablaufwerten und der angepassten Fällmitteldosierung dargestellt. In diesem Diagramm wurde zusätzlich auch der erzielte  $\beta$ -Wert bei den unterschiedlichen Dosiermengen abgebildet. Der  $\beta$ -Wert im Diagramm musste hierbei mit dem Faktor 10 multipliziert werden, da sonst eine Darstellung aller Werte in einem Diagramm nicht möglich gewesen wäre.

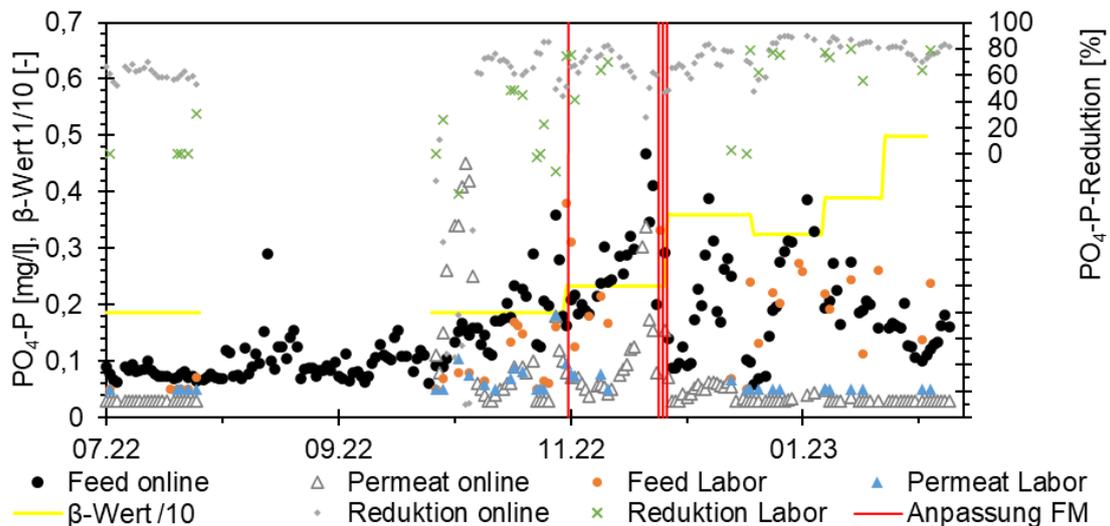


Abbildung 33: PO<sub>4</sub>-P-Analytik Feed und Permeat mit angepasster Fällmitteldosierung

Dieser detailliertere Ausschnitt der Messwerte stellt deutlich dar, dass die erhöhten Messwerte im Feed mit der geringen Fällmittelmenge nur unzureichend bis nicht reduziert werden konnten. In Abhängigkeit vom vorhandenen  $\beta$ -Wert nach der Erhöhung der Dosierung, konnten die PO<sub>4</sub>-P-Messwerte im Permeat allerdings wieder stark bis unterhalb der Bestimmungsgrenze reduziert werden. Auch die prozentuale Reduktion bewegte sich nach den Anpassungen an der Fällmitteldosierung, insbesondere bei der online-Messtechnik, auf einem sehr hohen Niveau. Die folgende Tabelle 13 führt ergänzend die erzielten Messwerte des PO<sub>4</sub>-P-Gehaltes in Zu- und Ablauf der Versuchsanlage, mit den entsprechenden eingestellten Fällmittel-Dosiermengen und den rückgerechneten  $\beta$ -Werten auf. Die Tabelle enthält lediglich Daten aus dem Zeitraum 25.07.22-01.03.23, da für den vorangegangenen Zeitraum der Fällmittelverbrauch, aufgrund der geringen PO<sub>4</sub>-P-Gehalte im Abwasser, nicht detailliert ausgewertet wurde.

Tabelle 13: Ergebnisse PO<sub>4</sub>-P-Analytik

| Phase   | Parameter                                | Minimum | Mittelwert | Median | Maximum | Anzahl |
|---|--|---------|------------|--------|---------|--------|
| FM 2,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=1,86$                            | Feed PO <sub>4</sub> -P online [mg/l]    | 0,061   | 0,115      | 0,097  | 0,358   | 115    |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P online [mg/l] | 0,030   | 0,090      | 0,030  | 0,450   | 55     |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P online [%]  |         | 32,6%      | 61,1%  |         | 55     |
|   | Feed PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]     | 0,050   | 0,097      | 0,065  | 0,379   | 21     |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]  | 0,050   | 0,069      | 0,050  | 0,181   | 19     |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P Labor [%]   |         | 15,7%      | 0,0%   |         | 16     |
| FM 6,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=2,33$                            | Feed PO <sub>4</sub> -P online [mg/l]    | 0,183   | 0,266      | 0,244  | 0,467   | 21     |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P online [mg/l] | 0,038   | 0,106      | 0,073  | 0,338   | 22     |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P online [%]  |         | 66,1%      | 67,6%  |         | 21     |
|   | Feed PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]     | 0,125   | 0,222      | 0,198  | 0,332   | 6      |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]  | 0,050   | 0,070      | 0,075  | 0,078   | 4      |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P Labor [%]   |         | 62,7%      | 67,0%  |         | 4      |
| FM 9,3 ml/m <sup>3</sup><br>$\beta=3,25-4,98$<br>$\varnothing=3,80$ | Feed PO <sub>4</sub> -P online [mg/l]    | 0,058   | 0,187      | 0,179  | 0,388   | 54     |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P online [mg/l] | 0,030   | 0,037      | 0,030  | 0,071   | 56     |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P online [%]  |         | 76,6%      | 79,2%  |         | 54     |
|   | Feed PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]     | 0,050   | 0,190      | 0,220  | 0,274   | 15     |
|   | Permeat PO <sub>4</sub> -P Labor [mg/l]  | 0,050   | 0,051      | 0,050  | 0,066   | 12     |
|   | Reduktion PO <sub>4</sub> -P Labor [%]   |         | 60,5%      | 74,6%  |         | 12     |

Mit einer spezifischen Fällmitteldosiermenge von 2,3 ml/m<sup>3</sup> oder einem rückgerechneten  $\beta$ -Wert von 1,86 konnte die PO<sub>4</sub>-P-Konzentration im Mittel von 0,115 mg/l um 32,6% auf 0,090 mg/l entsprechend der online Analytik reduziert werden.

Bei einem  $\beta$ -Wert von 2,33 und erhöhten Zulaufkonzentrationen wurde mit den Analysatoren vor Ort eine Reduktion von 0,266 mg/l um 66,1% auf 0,106 mg/l gemessen und mittels Laboranalytik eine Reduktion um 62,7%. Mit einem durchschnittlichen  $\beta$ -Wert von 3,80 wurde der  $\text{PO}_4\text{-P}$ -Gehalt im Permeat sowohl mit der online-Messtechnik als auch im Labor bis knapp über die Bestimmungsgrenze um 76,6% bzw. 60,5% reduziert. Mit der online Messtechnik lagen hierbei die mittleren Messwerte im Feed bei 0,187 mg/l und im Permeat bei 0,037 mg/l. In den 24h-Mischproben, die mittels Küvettentests analysiert wurden, lagen die Ergebnisse im Mittel für Feed bei 0,190 mg/l und für das Permeat bei 0,051 mg/l. Dementsprechend bekräftigen auch diese Ergebnisse, dass mit einer angepassten Fällmitteldosierung auch hohe  $\text{PO}_4\text{-P}$ -Zulaufkonzentrationen zuverlässig mit dem PAK/UF-Verfahren bis an die Bestimmungsgrenze reduziert werden können.

### 3.3.2. Spurenstoffentfernung

Nach Abschluss der Stuserhebung der Spurenstoffbelastung des Abwassers erfolgte die kontinuierliche Beprobung der Versuchsanlage zur Bestimmung der Entfernung der Spurenstoffe. Die Konzentration einer Auswahl von Spurenstoffen (Anhang 2) wurde dabei im Zulauf der Kläranlage sowie im Zulauf und Ablauf der Versuchsanlage bestimmt.

In Abbildung 34 (a) wird jeweils die Summe der untersuchten Spurenstoffe im Zulauf der Kläranlage sowie im Ablauf der Kläranlage für die einzelnen Probenahmen dargestellt. Bei diesen Angaben muss berücksichtigt werden, dass es sich dabei nur um eine Auswahl von Spurenstoffen handelt und nicht die gesamte Belastung des Abwassers mit Schadstoffen erfasst wurde. Bei Probenahme 1 erfolgte noch keine Analyse der Spurenstoffkonzentration im Zulauf der Kläranlage, daher ist dort nur die summierte Konzentration des Ablaufs der Kläranlage dargestellt. Es ist erkennbar, dass eine Reduktion der summierten Spurenstoffkonzentration zwischen 51 und 74 % durch die konventionelle biologische Behandlung erreicht wurde. Jedoch zeigt Abbildung 34 (b), dass die Spurenstoffauswahl nach der Schweizer Liste und der Liste nach dem Kompetenzzentrum Baden-Württemberg (KomS BW) nur geringfügig bis maximal 10 % entfernt wurden. Teilweise zeigte sich auch eine Erhöhung der Konzentrationen der Spurenstoffe im Ablauf der Kläranlage, was sich auf eine nicht korrespondierende Probennahme zurückführen lässt, da sich die Aufenthaltszeit innerhalb der konventionellen Belebungsanlage nur abschätzen ließ und durch Veränderungen des Zulaufvolumens beeinflusst wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass auf Grund der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Spurenstoffe, diese unterschiedlich effektiv mittels biologischen Abbaus und Sorption in die Belebtschlammflocke entfernt wurden. So wurde unter anderem Metformin immer über 99 % durch die konventionelle biologische Abwasserbehandlung entfernt, während Diclofenac nur um maximal 10 % entfernt wurde.

In Abbildung 34 und Abbildung 35 wird die berechnete Entfernung der Spurenstoffe für beide eingesetzte PAK nach KomS BW sowie nach der Schweizer Liste dargestellt. Dabei zeigt Abbildung 35 (a) die Entfernung in Abhängigkeit der eingesetzten PAK-Dosis in mg/L während Abbildung 35 (b) die Entfernung in Abhängigkeit der relativen PAK-Dosis in mg PAK/mg DOC darstellt. Im Vergleich zeigte sich, dass die Auswahl der Spurenstoffe nach KomS BW immer eine um etwa 6 % höhere Entfernung aufwies als die Entfernung der ausgewählten Spurenstoffe nach der Schweizer Liste, was sich darauf zurückführen lässt, dass die Schweizer Liste im Gegensatz zur Auswahl nach KomS BW auch Candestartan enthält. Candestartan zeigte eine nur mäßige Entfernbarkeit im Vergleich zu den weiteren Spurenstoffen der beiden Listen und dadurch fällt die Entfernung der Schweizer Liste geringer aus als die nach KomS BW.

Es ist erkennbar, dass die Entfernung von über 80 % der betrachteten Spurenstoffe durch die Versuchsanlage bei PAK 4 bei einer PAK-Konzentration von etwa 16 mg/l, während PAK 12 dafür nur eine PAK-Dosis von etwa 11 mg/l benötigte. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass für PAK 12 eine um 30 % geringere Aktivkohledosis ausreicht, um 80 % der betrachteten Spurenstoffe zu entfernen. Auch bei der Durchführung von Adsorptionsversuche zeigte sich, dass PAK 12 um eine bis zu 13 % höhere  $\text{SAK}_{254}$ -Entfernung geführt hatte, im Vergleich zur PAK 4 (Abbildung 5).

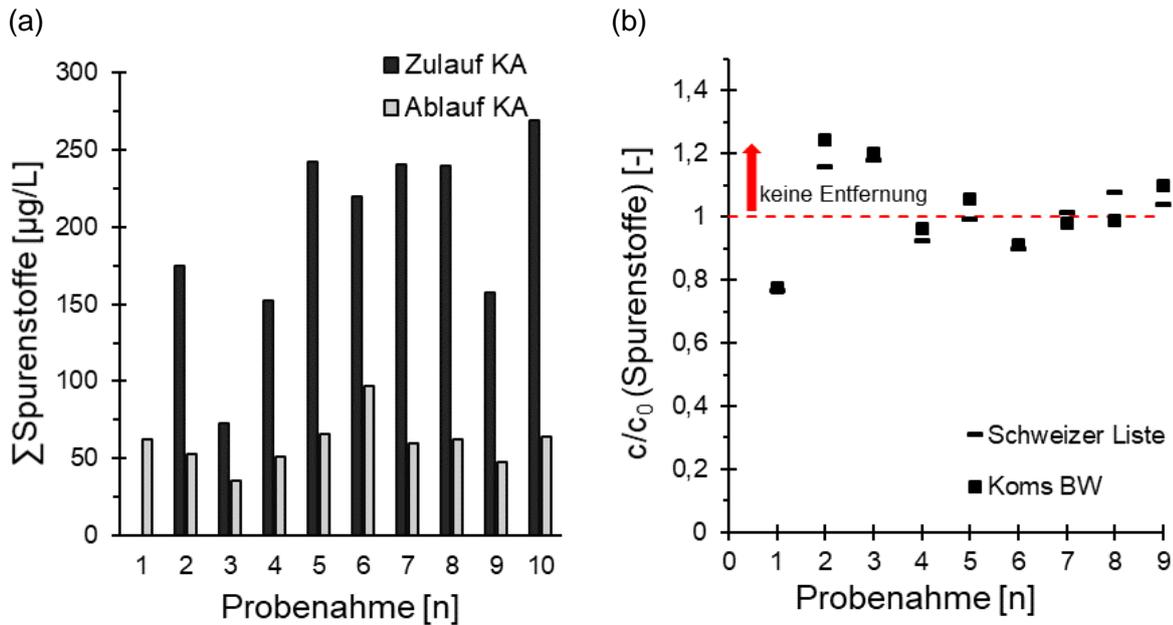


Abbildung 34: Summe der Konzentration der untersuchten Spurenstoffe im Zulauf sowie Ablauf der Kläranlage (KA) (a) und relative Entfernung einer Auswahl der Spurenstoffe nach der Schweizer Liste sowie nach der Auswahl des Kompetenzzentrums Baden-Württemberg durch die konventionelle Abwasserbehandlung (b)

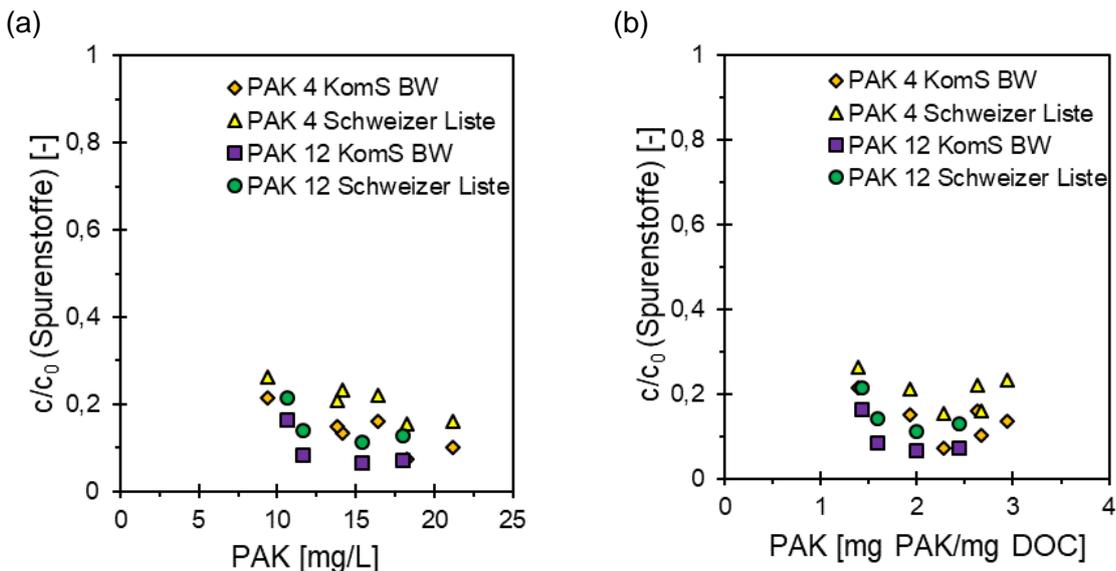


Abbildung 35: Relative Entfernung einer Auswahl von Spurenstoffe nach der Schweizer Liste und der Auswahl des Kompetenzzentrums Baden-Württembergs in Abhängigkeit der PAK-Dosis in  $\text{mg/L}$  (a) und in  $\text{mg PAK/mg DOC}$  (b) durch die Versuchsanlage mit zwei verschiedenen getesteten PAK

In Abbildung 36 ist die Entfernung der Spurenstoffe durch die Versuchsanlage für beide eingesetzte PAK dargestellt. Dabei wurden die Spurenstoffe der Spurenstoffliste nach KomS BW sowie nach der Schweizer Liste zugeordnet. Es wird deutlich, dass für eine Entfernung von 80 % der Spurenstoffe eine Entfernung des  $\text{SAK}_{254}$  um 30 % notwendig war. Bei der Betrachtung einzelner Spurenstoff wird jedoch deutlich, dass die Entfernung des  $\text{SAK}_{254}$  mit unterschiedlichen Entfernungen in Abhängigkeit des betrachteten Spurenstoffs korrelierte. So wurde Benzotriazol über 90 % entfernt bei einer Entfernung der  $\text{SAK}_{254}$  um 30 %, während das Röntgenkontrastmittel Amidotrizoesäure bei gleicher  $\text{SAK}_{254}$ -Entfernung nur maximal zu 30 % entfernt wurde. Diese Unterschiede lassen sich auf die chemisch-physikalischen Unterschiede der betrachteten Spurenstoffe zurückführen.

In Abbildung 37 wird die Entfernung der Spurenstoffe nach der Schweizer Liste in Abhängigkeit der spezifischen PAK-Dosis in  $\text{mg PAK/mg DOC}$  dargestellt sowie des Trockensubstanzgehalts (TS-

Gehalt) im Reaktor und des Schlammalters dargestellt. Dabei lag der TS-Gehalt im Reaktor zwischen 1,6 und 8,0 g/l und das Schlammalter zwischen 17 bis über 25 Tage. Es zeigte sich, dass für beide PAK keine Abhängigkeit der Spurenstoffentfernung vom TS-Gehalt oder Schlammalter während der Probenahmen erkennbar war. Jedoch umfassten die Analysen nur eine reduzierte Probenahmeanzahl sowie nur eine geringe Spannbreite des TS-Gehalts und Schlammalters, sodass keine abschließende Aussage zum Einfluss des Schlammalters und des TS-Gehalts auf die Spurenstoffentfernung getroffen werden kann.

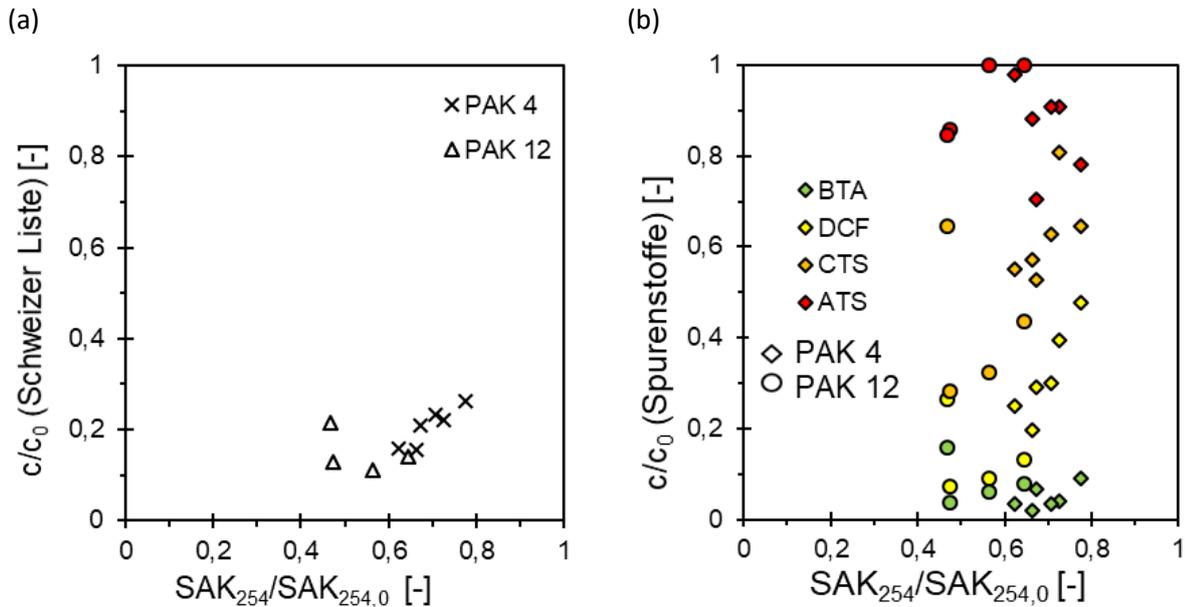


Abbildung 36: Verhältnis der relativen Entfernung des spektralen Absorptionskoeffizienten bei 245nm ( $SAK_{254}$ ) zur relativen Entfernung der Auswahl der Spurenstoffen nach der Schweizer Liste sowohl für PAK 4 als auch PAK 12 (a) sowie dem Verhältnis zwischen der relativen  $SAK_{254}$ -Entfernung sowie der relativen Entfernung einzelner Spurenstoffe (b)

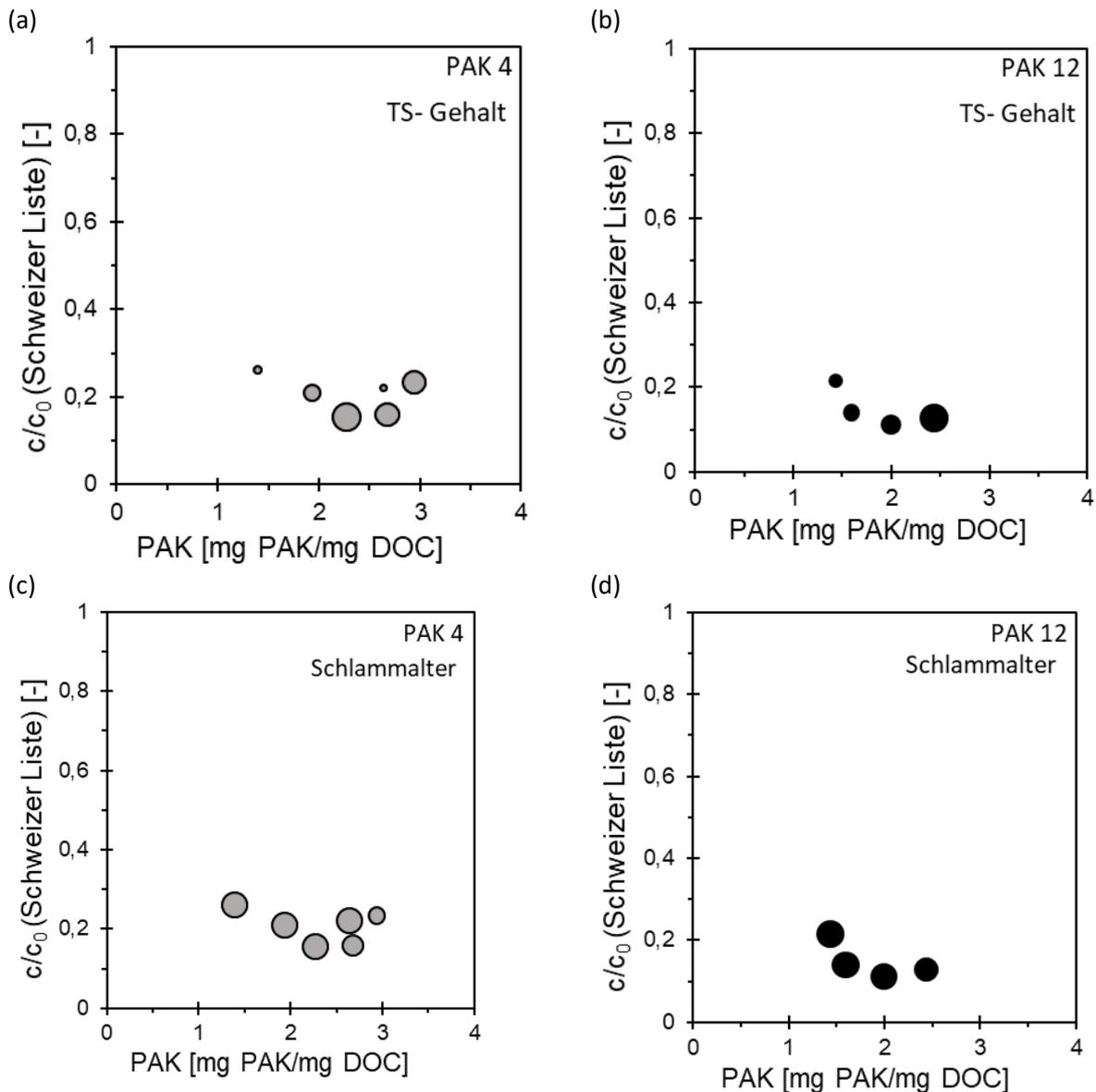


Abbildung 37: Abhängigkeit der Entfernung der Spurenstoffe nach der Schweizer Liste vom Trockensubstanzgehalt im Reaktor für PAK 4 (a) und PAK 12 (b) sowie Abhängigkeit der Spurenstoffentfernung vom Schlammalter im Reaktor für PAK 4 (c) und PAK 12 (d). Blasengröße: TS-Gehalt = 1,6 – 8,0 g/l; Schlammalter = 17 – 25 d

### 3.3.3. Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien und Resistenzgenen

Im Rahmen der Evaluierung des Rückhalts von ARG durch die Pilotanlage wurden mehrere Messkampagnen durchgeführt. Diese Kampagnen umfassten die Probenahme sowohl im Zulauf als auch im Ablauf der Kläranlage sowie im Permeat (Ablauf Pilotanlage). Der Untersuchungszeitraum dieser Messkampagnen erstreckte sich von Februar 2022 bis Februar 2023. Vor diesem Zeitraum waren aufgrund der Corona-bedingten Verzögerungen und der Sprengung der Salzachtalbrücke keine kontinuierlichen Probenahmen möglich.

Im Zuge dieser Untersuchungen wurden verschiedene Ansätze verfolgt. Zum einen wurden monatliche Probenahmen durchgeführt, die eine regelmäßige Erfassung über einen längeren Zeitraum ermöglichten. Des Weiteren wurde eine Intensivmesswoche über einen Zeitraum von fünf Tagen durchgeführt, um Veränderung in der ARG Zusammensetzung und Entfernung über eine Woche zu erhalten. Zudem wurden Tagesgänge augenommen, um tagesabhängige Schwankungen abschätzen zu können. Zusätzlich wurde der Einfluss der chemischen Reinigung der UF-Membran auf die Leistung bei der ARG-Entfernung untersucht. Es wurde auch analysiert, ob die Wahl der

Probenahmemethode einen Einfluss auf die Ergebnisse hat, indem 24 h Mischproben mit Stichproben verglichen wurden. Darüber hinaus wurde auch untersucht, ob bestimmte Gruppen von ARG schlechter entfernt werden können als andere.

### 3.3.3.1. Langzeit-Überwachung der Konzentrationen und in der Zusammensetzung der ARG

Für die Langzeitüberwachung wurden jeden Monat Proben an drei Probenahmestellen entnommen: (1) Kläranlagenzulauf; (2) Kläranlagenablauf; und (3) Ablauf der Pilotanlage (Permeat der UF-Membran). Es wurden 24-Stunden-Mischproben des Zulaufs der Kläranlage an 2 Tagen hintereinander genommen. Parallel dazu wurden 24-Stunden-Mischproben des Ablaufs der Kläranlage und des Permeats mit einem Zeitversatz von 4 Tagen entnommen. Dieses Verfahren wurde gewählt, dass die Ablaufproben die entsprechenden Zulaufproben enthalten. Diese zeitliche Anordnung der Probenahme sollte eine bessere Vergleichbarkeit der Proben in den verschiedenen Phasen der Kläranlage und der Pilotanlage ermöglichen.

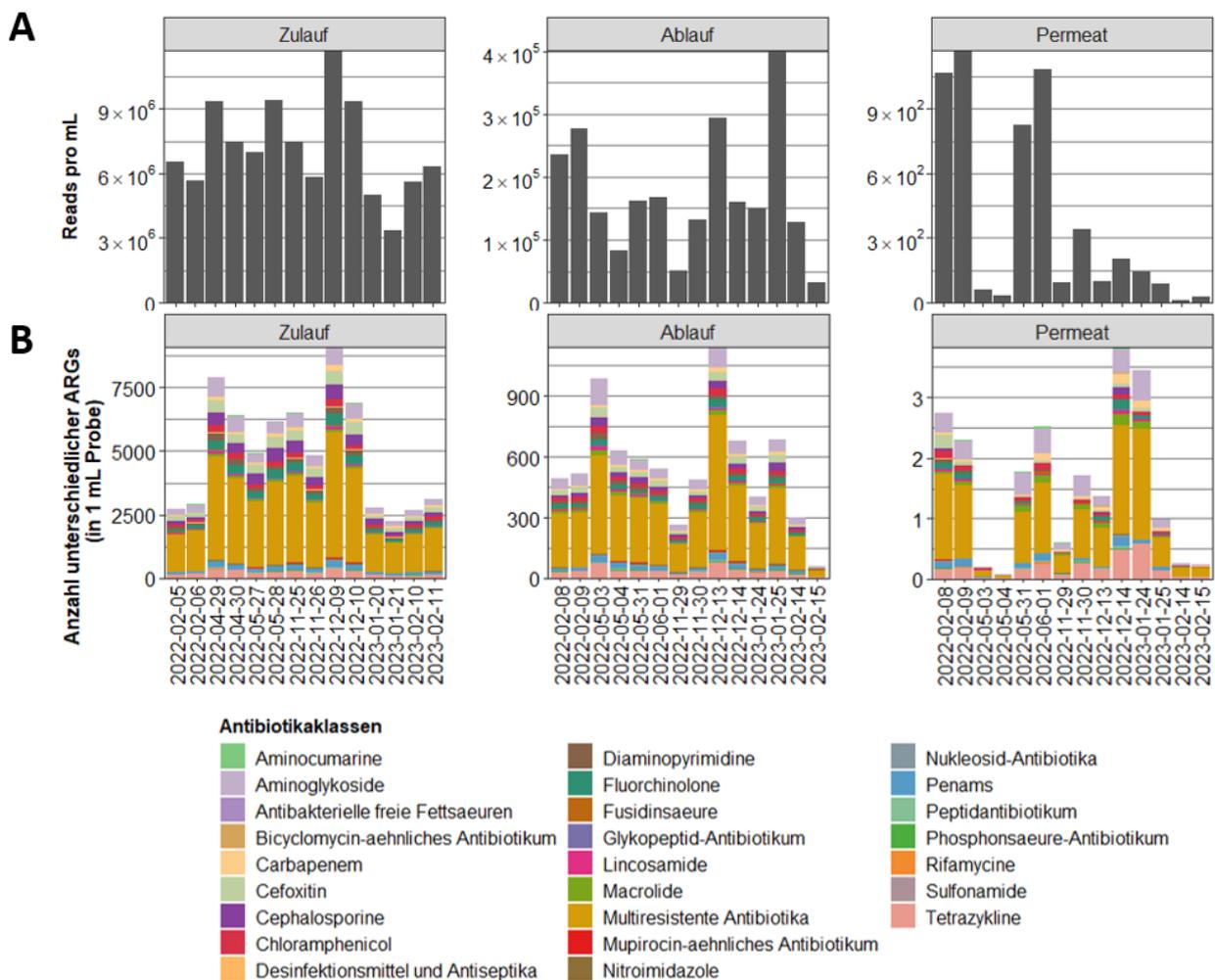


Abbildung 38: (A) ARG-Konzentration der 24-h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben. (B) Anzahl der Antibiotikaklassen der 24-h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die Anzahl der nachgewiesenen Antibiotikaklassen sind in Anzahl pro 1 mL angegeben.

Bei der Analyse der ARG-Konzentrationen an den verschiedenen Probenahmestellen waren Unterschiede in den ARG-Konzentrationen erkennbar (Abbildung 38 A). Die gemessenen ARG Konzentrationen im Zulauf schwankten von  $3 \times 10^6$  bis  $11 \times 10^6$  Reads/ml und im Ablauf zwischen  $3 \times 10^4$  bis  $4 \times 10^5$  Reads/ml. Im Permeat hingegen wurden ARG Konzentration von 12 bis

$1 \times 10^3$  Reads/ml nachgewiesen. Basierend auf den durchgeführten Messungen ist erkennbar, dass die Konzentrationen der ARG variierten, abhängig von der Probenahmestelle. Der Vergleich der ARG-Konzentrationen von Zu- und Ablauf deutete darauf hin, dass die Kläranlage 1-Log-Reduktion der ARG erreichte und einige der Resistenzgene aus dem Ablauf entfernt wurden. Dagegen wurde beim Vergleich von Kläranlagenablauf und Permeatproben eine signifikante Reduzierung der ARG-Konzentration festgestellt, d.h. eine Reduzierung von 3- bis 4-Log Stufen. Die höhere Log-Reduktion im Ablauf der Pilotanlage im Vergleich zur Kläranlage zeigt, dass die Filtration mit der UF-Membran effektiver war. Des Weiteren sind innerhalb des betrachteten Probenahmezeitraums auch Schwankungen in der Konzentration der ARG an den verschiedenen Probenahmestellen zu beobachten. Es konnte jedoch nicht eindeutig ermittelt werden, welche Faktoren diese Schwankungen beeinflusst haben. In anderen Untersuchungen wurde gezeigt (Caucci et al., 2016), dass es in den Wintermonaten zu einem Anstieg der untersuchten ARG Konzentrationen im Zu- und Ablauf kommen kann. In diesem Projekt wurden jedoch keine eindeutigen Trends beobachtet. Die gemessenen ARG-Konzentrationen zeigten zudem eine gewisse Variabilität, die möglicherweise auf unterschiedliche Einflüsse wie Veränderungen in der Zusammensetzung der Abwasserproben oder andere bisher unbekannte Faktoren zurückzuführen sein könnte. Unabhängig von den Schwankungen der ARG-Konzentration im Zulauf ist die Leistung der Pilotanlage bei der Entfernung der ARG über den betrachteten Zeitraum stabil.

Neben der Konzentration der ARG ist es auch wichtig, die Zusammensetzung der ARG zu überwachen, da es Unterschiede in ihrer klinischen Relevanz und ihrem Ausbreitungsrisiko gibt. Abbildung 40 B zeigt, dass die Anzahl der verschiedenen ARG, die in den Proben gefunden wurden, vom Kläranlagenzulauf im Vergleich zu den Permeat-Proben signifikant reduziert wurden. Die Anzahl der verschiedenen ARG, die in einem Milliliter Probe gefunden wurden, lag zwischen 2500 - 9000 bei den Zulaufproben, bei 300 - 1000 in den Ablaufproben und bei 1 - 4 in den Permeat-Proben. Allgemein reduzierte sich die Diversität der ARG zusammen mit der Reduktion der Konzentration der ARG. Darüber hinaus gab es jedoch auch Ausnahmen. So wurde z.B. beim Ablauf vom 03.05.22 eine ARG Konzentration von  $3 \times 10^5$  Reads/ml gemessen und 984 unterschiedlichen ARG pro 1 mL Probe erkannt. Am 25.01.23 hingegen wurde eine höhere ARG Konzentration von  $4 \times 10^5$  Reads/ml ermittelt, jedoch wurden hier nur 684 verschiedene ARGs pro 1 mL Probe gemessen. Dieser Wert war somit niedriger als am 03.05.22. Bei der Betrachtung der Permeat-Proben wurde z.B. am 31.05.22 eine ARG Konzentration von  $8 \times 10^2$  Reads/ml und 21 unterschiedliche ARG in 1 ml Probe erfasst. Bei der Analyse der Permeat-Probe vom 24.01.23 war die ARG Konzentration mit  $1 \times 10^2$  Reads/ml sehr viel niedriger Reads/ml, die Anzahl der verschiedenen ARG lag jedoch bei 3 in 1 mL Probe. Dies deutet darauf hin, dass eine Reduzierung der ARG-Konzentration nicht immer eine Reduzierung der ARG-Diversität bedeutet und umgekehrt. Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass einige ARG leichter zu reduzieren sind als andere. Des Weiteren ist deutlich erkennbar, dass die Antibiotikaklassen, denen die unterschiedlichen ARG zugeordnet werden können, an jeder Probenahmestelle von der Klasse der multiresistenten Antibiotika dominiert waren. Diese Ergebnisse decken sich auch mit anderen untersuchten Abwässern, bei denen die Klasse der multiresistenten Antibiotika dominierend war (Liu et al., 2019; Zhuang et al., 2021). Die Sequenzierdaten zeigten, dass unabhängig von der Probenahmestelle die Anwesenheit von Genen, die eine Resistenz gegen multiple Antibiotikaklassen vermitteln, weit verbreitet ist. Erkennbar war auch, dass über den betrachteten Probenahmezeitraum die Trends in der Zusammensetzung der Antibiotikaklassen in den verschiedenen Proben ähnlich waren.

Insgesamt wurden in den Zulauf-Proben im Mittel 793 verschiedene ARG detektiert. Im Ablauf waren es im Mittel 426 ARG und im Permeat waren es 134 ARG. Aufgrund der großen Diversität der ARG wurden die 10 dominanten ARG, die in jeder Probe von jeder Probenahmestelle nachgewiesen wurden, näher betrachtet. Die Anzahl dieser Top 10 ARG, die identifiziert wurden, nahm bei dieser Auswertung vom Zulauf zum Permeat zu. Im Zulauf wurden 21 ARG als dominante ARG identifiziert und im Ablauf waren es 25 ARG. Die meisten der dominanten ARG waren in den Zulauf- und Ablaufproben gleich. In den Permeatproben wurden insgesamt 29 dominante ARG nachgewiesen, von denen 15 ARG nicht zu den dominanten ARG in den Zulauf- und Ablaufproben gehören. So z.B. AIM-1, was in 11 Permeat Proben detektiert wurde, aber nicht in den Proben der Kläranlage. Dabei ist auch hier eine große Varianz in der relativen Abundanz von AIM-1 über den beprobten Zeitraum erfasst worden (2,4 % bis 31,8 %). Abbildung 39 zeigt auch, dass die Diversität bei den dominanten ARG in den Permeatproben größer war als in den Zulauf- und Ablaufproben. Ein Beispiel hierfür ist

APH(6)-Id. Im Zulauf bewegte sich der prozentuale Anteil dieses Gens in den untersuchten Proben zwischen 3,7 % und 8,2 %, während es im Ablauf der prozentuale Anteil zwischen 5,1 % und 14,4 % variierte. Im Permeat hingegen zeigte sich eine erhebliche Spannweite von 3,1 % bis 45,8 % in Bezug auf den prozentualen Anteil von APH(6)-Id.

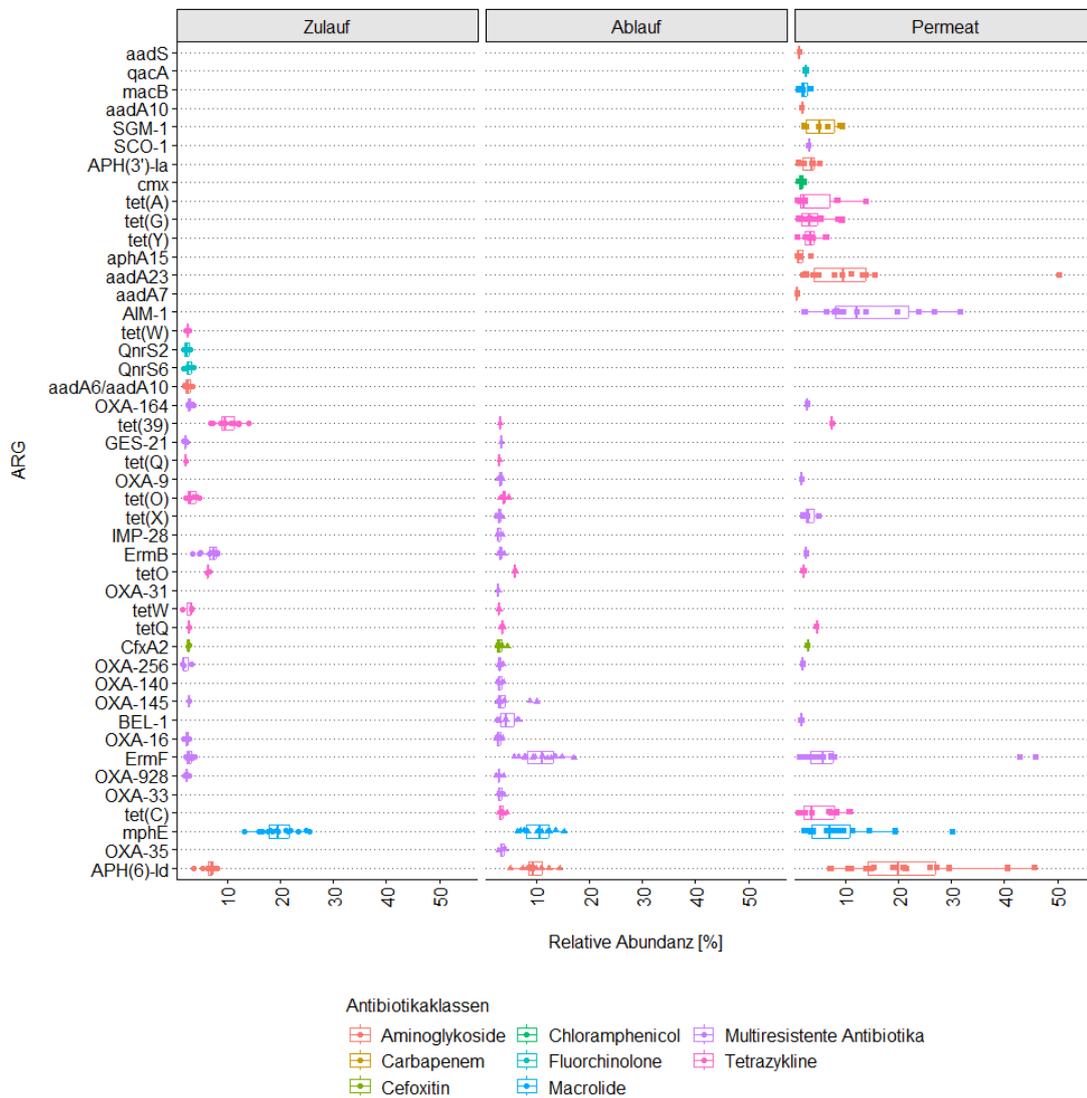


Abbildung 39: Boxplot der dominanten 10 ARGs jeder 24 h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Auf der x-Achse ist der prozentuale Anteil der dominanten ARGs pro Probe aufgetragen und auf der y-Achse die ARGs. Die Farbe entspricht der Antibiotikaklasse des Gens.

Bei der Untersuchung der entsprechenden Antibiotikaklassen der analysierten ARGs wurde festgestellt, dass alle dominierenden ARGs acht verschiedenen Antibiotikaklassen zugeordnet werden können (Abbildung 39). Es wird deutlich, dass die multiresistente Antibiotikaklasse die vorherrschende Klasse darstellte. Im Zulauf der Kläranlage gehörten die dominierenden ARG insgesamt 6 Antibiotikaklassen an (Abbildung 39). Etwa 38 % der dominanten ARG waren der multiresistenten Antibiotikaklassen zugehörig, während dieser Anteil im Ablauf auf 60 % anstieg. Im Ablauf wurden für alle dominierenden ARG 5 Antibiotikaklassen gezählt. Im Permeat hingegen wurden 8 Antibiotikaklassen gezählt, wobei nur noch 31 % der ARG der multiresistenten Antibiotikaklasse zugeordnet werden konnten. Im Zusammenhang mit Abbildung 40 B kann daraus geschlossen werden, dass die multiresistente Antibiotikaklasse den Hauptanteil an der ARG Konzentration in den untersuchten Proben ausmachte. Aus Abbildung 39 ist jedoch erkennbar, dass sich dies nicht unbedingt in der Betrachtung der dominanten ARG widerspiegeln muss. Gerade in den Permeat Proben gehörten nur noch 31 % der dominanten ARG der multiresistenten Antibiotikaklasse an, insgesamt macht die Klasse jedoch ca. 50 % der ARG Konzentration aus. Auf

dieser Grundlage ist es sinnvoll, sich nicht nur die dominanten ARG sondern auch die Gesamtheit der ARG zu betrachten. Darüber hinaus war die Klasse der Tetracycline stark vertreten (Zulauf: 33 %, Ablauf: 28 %, Permeat: 24 %). Dies deckt sich mit anderen Studien, dass Tetracyclin Resistenzgene zu den am häufigsten vorkommenden ARGs in Abwasseraufbereitungssystemen vieler Länder gehören (Uluseker, 2021; Zhang et al., 2009).

### 3.3.3.2. Bestimmung der wöchentlichen Schwankungen in der Zusammensetzung und Konzentration der ARG

Das Hauptziel dieser Untersuchung bestand darin, während einer Woche kontinuierlich Daten zu erheben, um die wöchentliche Variation der ARG-Konzentration zu bestimmen. Die Informationen über die ARG Variation innerhalb einer Woche könnten für die Entscheidung einer Probenahmestrategie zur besseren Bewertung der ARG-Reduktion relevant sein. Daher wurde vom 29.06.23 bis zum 04.07.23 täglich 24-Stunden-Mischproben von Zulauf, Ablauf und Permeat genommen. Bei der Untersuchung der ARG-Reduktion vom Zulauf zum Ablauf wurden Reduktionen im Bereich von 0,8 bis 2 Log-Stufen beobachtet (Abbildung 40), wobei über die betrachtete Woche hinweg eine stabile Reduktion festgestellt wurde, mit Ausnahme eines Ausreißers am 4. Tag. Die ARG-Reduktion vom Ablauf zum Permeat war ebenfalls relativ stabil (ca. 3,5 Log-Stufen) während der Probenahmewoche. Ein Ausfall der Pilotanlage führte zu einem vorzeitigen Abbruch der Beprobung und war sehr wahrscheinlich für die Abweichungen bei der ARG-Entfernung am vierten Tag verantwortlich.

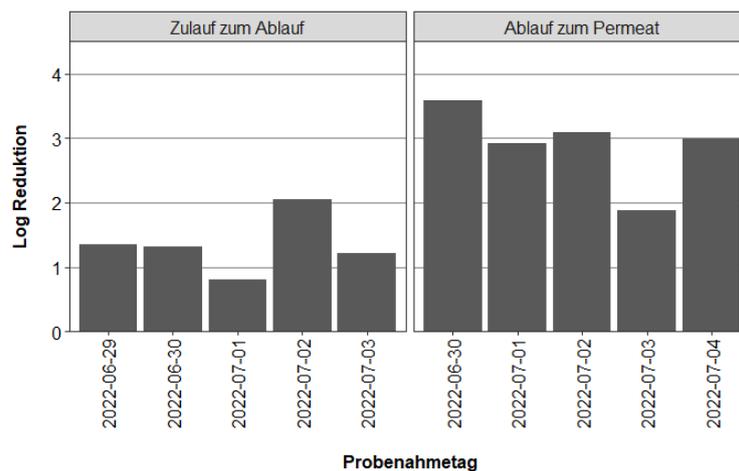


Abbildung 40: Log Reduktion der ARGs in 24 h Mischproben vom Zulauf zum Ablauf und vom Ablauf zum Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 30.06.2022 bis 04.07.2022. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet.

Abbildung 41 zeigt die Zusammensetzung der ARG im Verlauf einer Woche an allen Probenahmestellen dargestellt nach ihren dazugehörigen Antibiotikaklassen. Nach einer eingehenden Analyse der Zulaufproben wurde deutlich, dass der dominierende Anteil in jeder Probe durch die ARG der multiresistente Antibiotikaklasse mit einem Anteil von etwa 51 – 52 % gekennzeichnet war. Darauf folgten Resistenzgene gegen die Klassen der Aminoglykoside Antibiotika und Cephalosporine mit einem Anteil von etwa 8 – 9 % je Probe. Interessant dabei ist, dass die Anteile der verschiedenen Antibiotikaklassen im Verlauf der untersuchten Woche relativ stabil blieben. Die Ablaufproben zeigten ein ähnliches Bild wie die Zulaufproben. Auch hier blieb der dominante Anteil von etwa 52 - 54 % ARGs in jeder Probe den multiresistenten Antibiotikaklasse vorbehalten, während der Anteil der Aminoglykoside Antibiotikaresistenzen mit etwa 8 – 10 % vergleichbar zum Zulauf war. Der Anteil der Resistenzgene gegen Cephalosporine (4 – 6 %) war etwas geringer als im Zulauf, jedoch wiesen Tetracycline Antibiotika mit etwa 5 - 7 % pro Probe eine erhöhte Präsenz als in dem Proben vom Zulauf auf (3 – 4 %). Die prozentuale Verteilung der ARG der Antibiotikaklassen in den Ablaufproben blieb über die untersuchte Woche weitgehend konstant. Die Permeatproben zeigten im Vergleich zu den Zulauf- und Ablaufproben eine erhöhte

tagesabhängige Varianz in Bezug auf die Zusammensetzung der Antibiotikaklassen der ARG. Obwohl der Anteil der multiresistenten Antibiotikaklasse weiterhin in jeder Probe dominierend war, schwankte dieser Anteil zwischen 32 % und 44 %. Die Präsenz der ARG der Aminoglykoside-Antibiotikaklasse nahm auf 17 % bis 25 % im Vergleich zu den Zulauf und Ablauf Proben (8 – 10 %) zu. Der Anteil der Tetracyclin-ARGs stieg auf 8 – 12 % in den untersuchten Proben an. Es wurde auch eine Zunahme bei ARG von bestimmten Antibiotikaklassen wie den Penams (6 % bis 8 %) und Phenicolen (5 % bis 6 %) beobachtet. Diese schwankenden Anteile bestimmter Antibiotikaklassen lassen darauf schließen, dass die Pilotanlage Schwierigkeiten hatte, bestimmte ARGs aus dem Abwasser konstant zu entfernen. Auf der Grundlage der Ergebnisse schlagen wir vor, dass zur besseren Beurteilung der Entfernungseffizienz des PAK-UF-Membransystems tägliche Messungen für eine Woche in vierteljährlichen Abständen durchgeführt werden sollten. Dies könnte dazu beitragen, die Verzerrung durch die Wahl des Wochentags bei der Schätzung der ARG-Reduktionsleistung zu ermitteln.

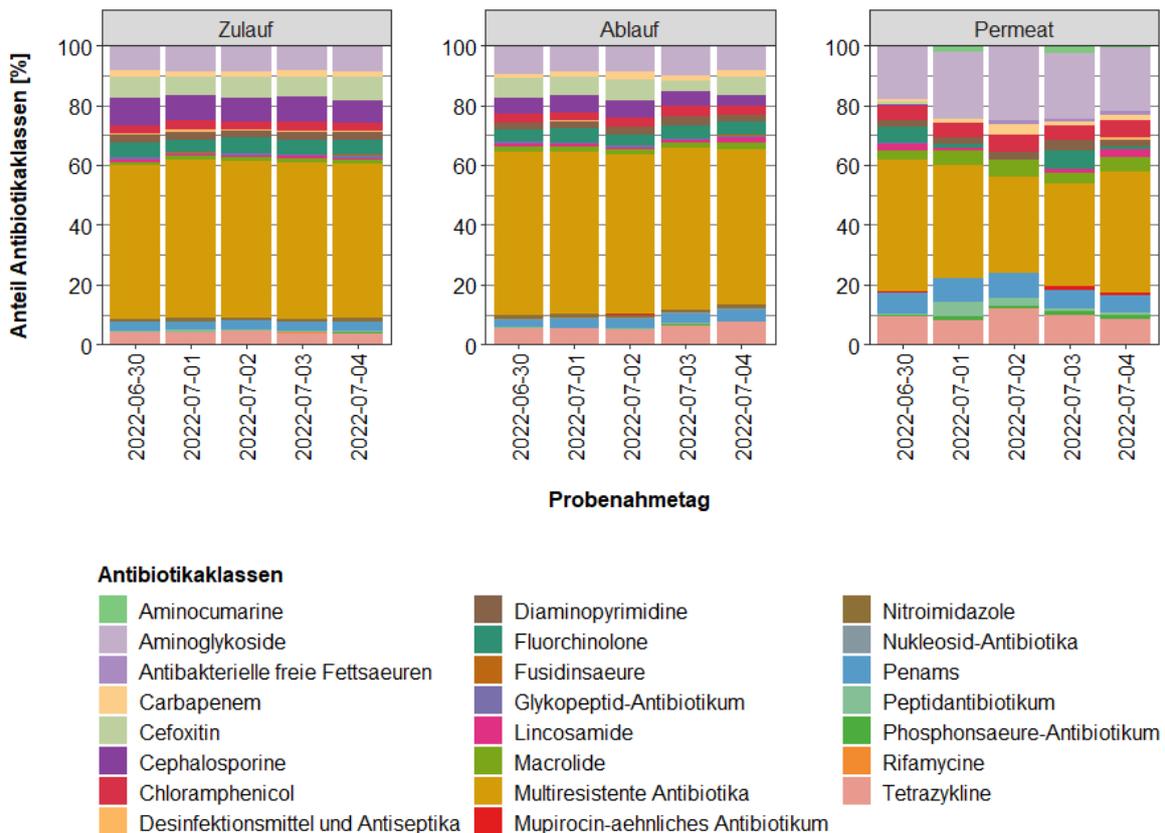


Abbildung 41: Prozentualer Anteil der ARG in den unterschiedlichen Antibiotikaklassen in den 24 h Mischproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 30.06.2022 bis 04.07.2022. Der prozentuale Anteil wurde auf Grundlage der gemessenen Gesamt-Reads pro Probe berechnet.

Bei der Analyse der Zulauf-Proben (Abbildung 41) fällt die signifikante Überschneidung von 577 ARG zwischen allen untersuchten Tagen auf. Dies verdeutlicht, dass die Zulauf-Proben in der betrachteten Woche einen bedeutenden Anteil gemeinsamer ARG aufwiesen. Darüber hinaus variierte die Anzahl individueller ARG zwischen 48 und 94. Bei den Ablauf-Proben (Abbildung 42 B) wurden in der betrachteten Woche 213 gemeinsame ARG festgestellt. Die Anzahl individueller ARG schwankte dabei zwischen 13 und 82. Die Permeat-Proben wiesen hingegen nur noch 31 gemeinsame ARG auf (Abbildung 42 C). Die Probe vom 30.06.22 enthielt 83 individuelle ARG, während die Proben vom 01.07. bis 04.07. zwischen 5 und 15 ARG aufwiesen. Bei der Betrachtung dieser wöchentlichen Beprobung wird deutlich, dass je nach Probenahmestelle der Zeitpunkt der Probenentnahme einen Einfluss auf die Bewertung bei dem Vorkommen von ARG macht und anhand dessen unterschiedliche Schlussfolgerungen daraus gezogen werden können. Beim Zulauf ist erkennbar, dass die untersuchten Proben im Durchschnitt 65 % gemeinsame ARG aufwiesen.

Beim Ablauf hingegen betrug der durchschnittliche Anteil gemeinsamer ARG in den untersuchten Proben nur noch 44 %. Im Permeat waren es sogar nur noch 32 %. Daraus lässt sich ableiten, dass bei der Untersuchung von Abwasserproben entlang des Reinigungsprozesses je nach Probenahmestelle unterschiedliche zeitliche Schwankungen bei der Zusammensetzung der ARG auftreten. Da der Zulauf die größte Anzahl an gemeinsamen ARG über den betrachteten Zeitraum aufwies, ist hier die Zusammensetzung wahrscheinlich stabiler als im Permeat, wo im zeitlichen Verlauf nur noch 32 % gemeinsame ARG in den Permeat Proben festgestellt wurden. Dies deutet darauf hin, dass die Pilotanlage stärkeren wöchentlichen Schwankungen unterliegt als der Zu- und Ablauf der Kläranlage. Ein Ausfall der Pilotanlage führte jedoch zu einem vorzeitigen Abbruch der Beprobung und war sehr wahrscheinlich auch für eventuelle vorherige Schwankungen bei der ARG-Entfernung verantwortlich.

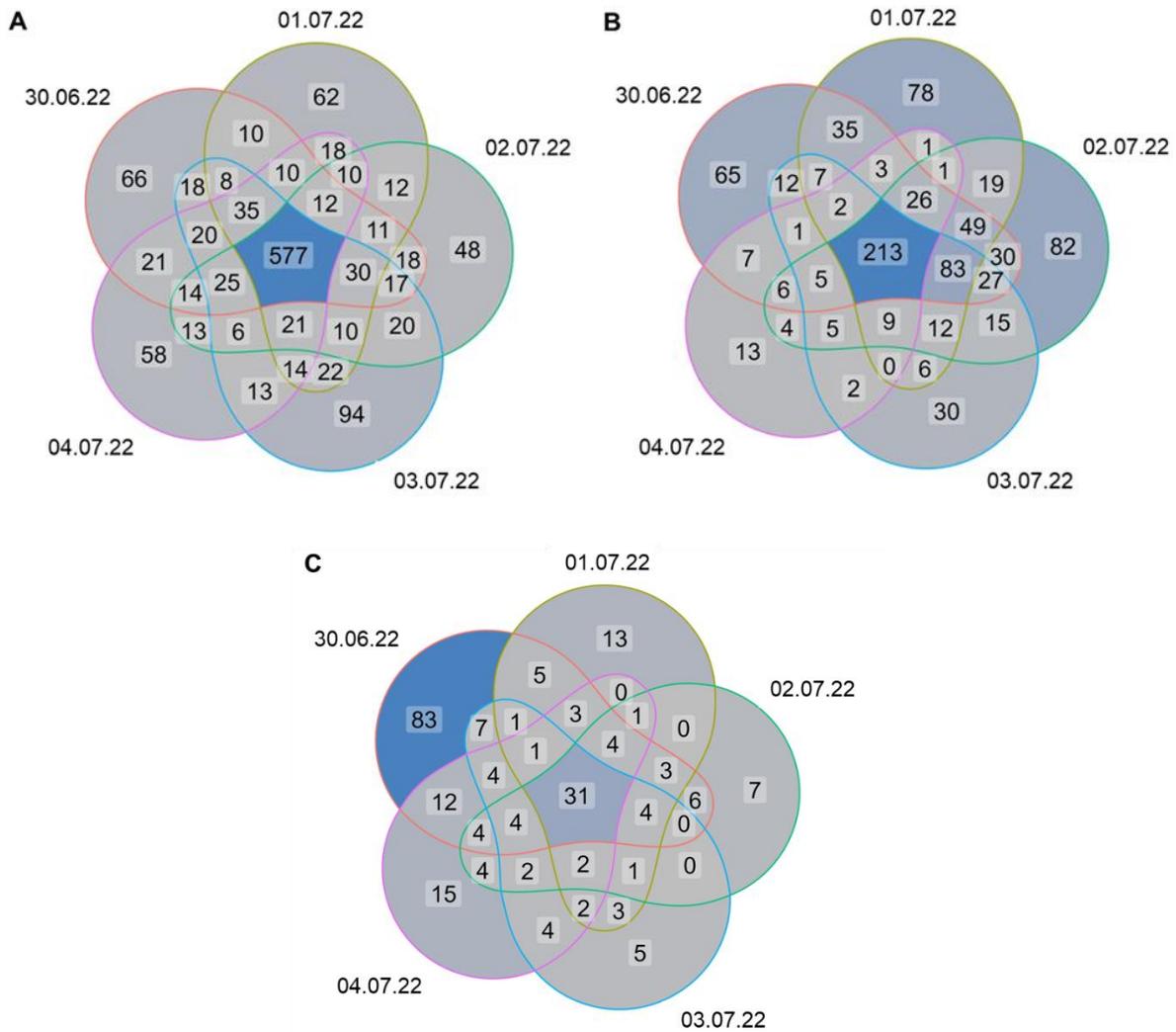


Abbildung 42: Venn-Diagramme der ARGs der Intensivmesswoche (30.06-04.07.22) nach Probenahmestelle dargestellt. (A) Zulauf-Proben, (B) Ablauf-Proben, (C) Permeat-Proben. Mit zunehmender Blaufärbung ist eine höhere Anzahl an ARGs dargestellt. Es wurden alle ARGs mit einer relativen Abundanz < 1 % dargestellt.

### 3.3.3.3. Bestimmung der Tagesschwankungen der Konzentration und der Zusammensetzung in den ARG

Im Rahmen dieses Projektes wurde im Weiteren eine Messkampagne durchgeführt, um den Tagesverlauf von Proben aus dem Zulauf und Ablauf der Kläranlage und dem Permeat der Pilotanlage zu untersuchen. Das Hauptziel der Untersuchung bestand darin, mögliche Variationen der analysierten ARG im Laufe eines Tages zu erfassen und spezifische Muster oder Trends in den

verschiedenen Probenahmestellen zu identifizieren. Zu diesem Zweck wurden in zwei Messkampagnen stündlich Proben von jeder Probenahmestelle genommen.

Bei der Betrachtung der Zulaufproben der ersten Probenahme zeigte sich eine Spannweite der ARG-Konzentrationen zwischen  $5 \times 10^6$  Reads/ml und  $2 \times 10^7$  Reads/ml (Abbildung 43 A). Eine deutliche Zunahme der ARG-Konzentration war zwischen den Zeitintervallen von 8-10 Uhr und 16-18 Uhr zu beobachten. Im Vergleich dazu zeigten die Zulaufproben vom zweiten Probenahmezeitpunkt Konzentrationen im Bereich von  $3 \times 10^6$  Reads/ml bis  $1 \times 10^7$  Reads/ml, wobei lediglich ein geringfügiger Anstieg der ARG-Konzentration zwischen 7-13 Uhr zu verzeichnen war. Die erhöhten ARG-Konzentrationen zwischen 8-10 Uhr und 16-18 Uhr bei der ersten Probenahme könnten durch die Ablaufspitzen im Abwasseranfall verursacht worden sein. Bei der zweiten Probenahme hingegen war keine ausgeprägte tageszeitliche Schwankung erkennbar und die gemessenen ARG-Konzentrationen waren insgesamt niedriger.

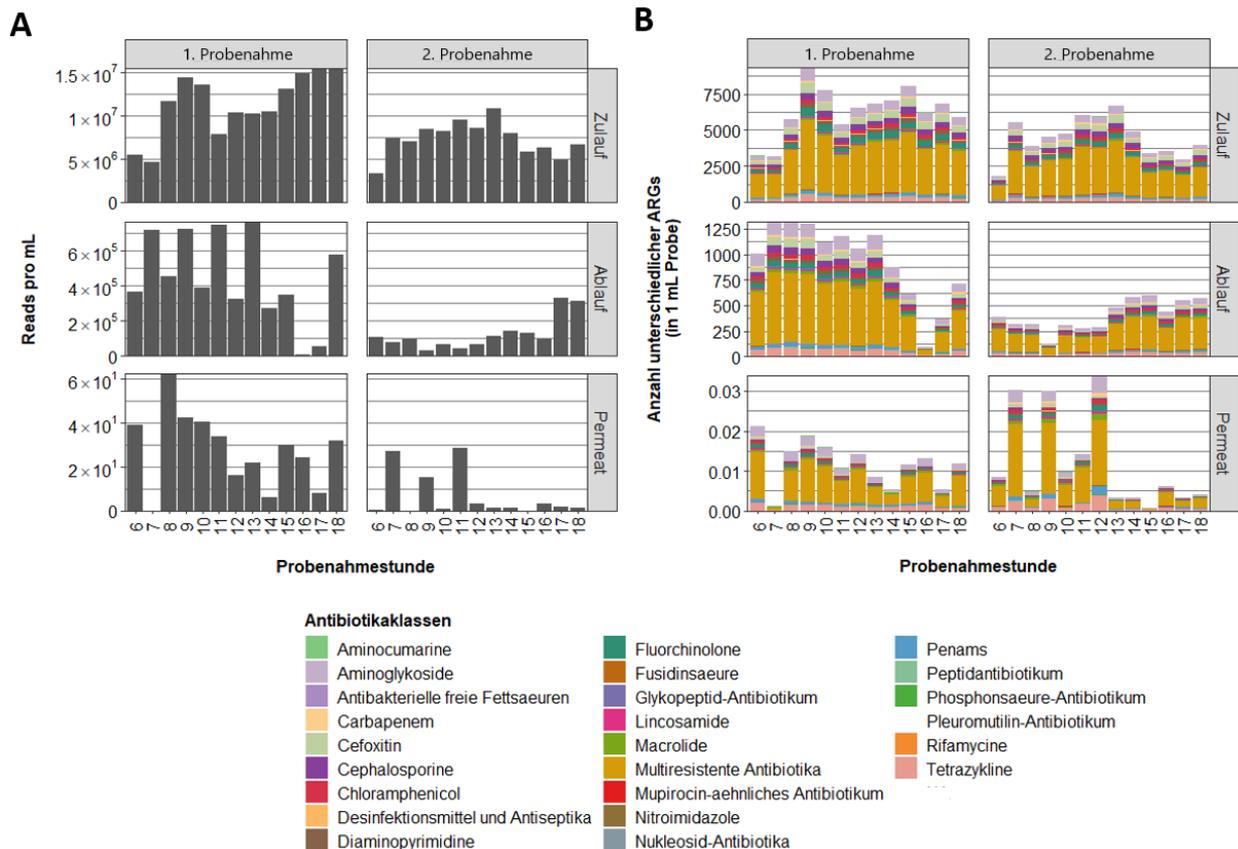


Abbildung 43:(A) ARG-Konzentration der genommenen Stichproben zwischen 6 und 18 Uhr vom Zulauf, Ablauf und Permeat zu der ersten und zweiten Probenahme. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben. (B) Anzahl der unterschiedlichen ARGs der Stichproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat zu der ersten und zweiten Probenahme. Die Anzahl der unterschiedlichen ARGs sind in Anzahl in 1 mL Probe angegeben.

In den Ablaufproben (Abbildung 43 A) zur ersten Probenahme zeigte sich eine deutliche Zunahme der ARG-Konzentration alle zwei Stunden. Die gemessenen ARG-Konzentrationen bewegten sich in dem untersuchten Zeitraum zwischen  $6 \times 10^4$  Reads/ml und  $8 \times 10^5$  Reads/ml. Im Gegensatz dazu waren bei der zweiten Probenahme keine solchen Spitzen festzustellen. Stattdessen gab es geringfügige Erhöhungen zwischen 6-8 Uhr und 12-14 Uhr, sowie einen weiteren starken Anstieg von 17-18 Uhr. Die ARG-Konzentrationen lagen zwischen  $3 \times 10^4$  Reads/ml und  $3 \times 10^5$  Reads/ml. Im Ablauf der Kläranlage wurde im Allgemeinen keine ausgeprägte tageszeitliche Schwankung in den ARG Konzentrationen beobachtet, wie es im Zulauf der Fall war. Bei den Permeatproben lag die ARG-Konzentration bei der ersten Messung im Bereich von 0-62 Reads/ml und bei der zweiten Messung zwischen 0 und 28 Reads/ml. Für die erste Messkampagne lag während des Zeitraums von 8-10 Uhr eine höhere ARG-Konzentration vor. Die ARG-Konzentration von 0 Reads um 7 Uhr ist auf eine unzureichende Sequenzierung zurückzuführen. Am zweiten Probenahmetag wurden drei deutliche Spitzen in der ARG-Konzentration um 7, 9 und 11 Uhr morgens beobachtet. Im

Allgemein sind die ARG-Konzentrationen in den Permeatproben jedoch sehr niedrig, so dass die Schwankungen bei den stündlich durchgeführten Proben nicht als signifikant angesehen werden können. Bei der Betrachtung der Zusammensetzung der ARG wurde keine tageszeitliche Abhängigkeit für die Probenahmestellen beobachtet (Abbildung 43 B). Die Anzahl der verschiedenen ARG der einzelnen Probenahmestellen war relativ stabil. Des Weiteren wurde festgestellt, dass in jeder untersuchten Probe die Klasse der multiresistenten Antibiotika dominierend ist.

### 3.3.3.4. Einfluss der chemischen Reinigung der UF-Membran auf die ARG-Reduktion

UF-Membranen werden auch beim Einsatz in der weitergehenden Abwasserreinigung, bei Bedarf einer chemischen Reinigung unterzogen, um Biofouling und Scaling entgegenzuwirken. Durch die chemische Reinigung können so Ablagerungen, Partikel und organische Substanzen entfernt werden, die sich im Laufe der Zeit auf der Membran angesammelt haben und die Membranleistung beeinträchtigen. Um den Einfluss dieser chemischen Reinigung auf den Rückhalt der ARG zu untersuchen, wurden zwei verschiedenen Messungen (10-11.01.2023 und 07-08.2023) durchgeführt, wobei Proben vom Zulauf und Ablauf der Pilotanlage genommen wurden. Hierfür wurden 24 h Mischproben vor und direkt nach der chemischen Reinigung analysiert (Abbildung 44). Bei der Analyse der Log-Reduktion ist erkennbar, dass bei der Probenmessung am 10. bis 11.01.2023 eine Steigerung der Log-Reduktion um etwa 1 Log-Stufe von 3,5 auf 4,5 nach der chemischen Reinigung der Membran erreicht wurde (Abbildung 44 A). Im Gegensatz dazu konnte dieser Effekt bei der Analyse am 07. bis 08.02.2023 nicht beobachtet werden (Abbildung 44 B). In diesem Fall lag sowohl vor als auch nach der chemischen Reinigung die Log-Reduktion der ARG durch die Membran bei etwa 4 Log-Stufen. Dies deutet darauf hin, dass die chemische Reinigung einen positiven Einfluss auf die ARG-Reduktionseffizienz der Pilotanlage hat.

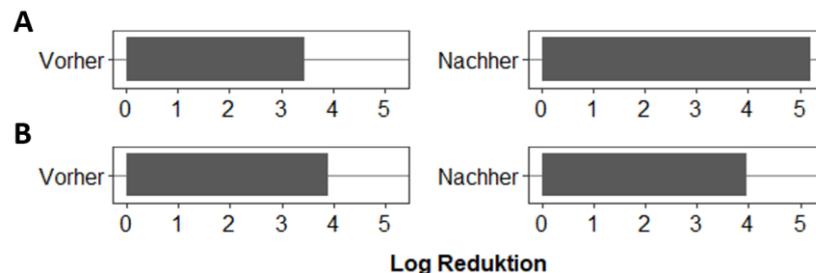


Abbildung 44: Log Reduktion der ARG in 24 h Mischproben vor und nach der chemischen Reinigung an den Probenahmestellen vom Ablauf. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet. In (A) ist der untersuchte Zeitpunkt vom 10-11.01.2023 dargestellt und in (B) der vom 07-08.02.2023.

### 3.3.3.5. Vergleich von 24-Stunden-Mischproben und Stichproben

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde neben 24h Mischproben auch Stichproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat bei jeder monatlichen Probenahme gezogen. Das Ziel dieser Vorgehensweise bestand darin, zu untersuchen, ob durch Stichproben die gleichen Informationen gewonnen werden können wie durch 24 h Mischproben. Bei der Analyse der Log-Reduktion der ARG vom Zulauf zum Ablauf der Kläranlage wurden Reduktionen im Bereich von 0,8 bis 2 Log-Stufen beobachtet. Ein Vergleich der 24 h Mischproben mit den entsprechenden Stichproben desselben Probenahmetages zeigten nur geringfügige Abweichungen in den berechneten Log-Reduktionswerten der ARG (Abbildung 45). Die Untersuchung der Log-Reduktion der ARG vom Ablauf der Kläranlage zur Pilotanlage ergab Werte zwischen 2 und 8 Log-Stufen. Beim Vergleich der 24 h Mischproben mit den Stichproben wurden teilweise starke Unterschiede in der Log-Reduktion festgestellt. Bei der Probenahme im Mai 2022 wurde beispielsweise eine Log-Reduktion von 2 für die 24 h Mischproben und 4 für die Stichproben berechnet. Es traten jedoch auch zwei Ausreißer auf, bei denen für die Stichproben eine Log-Reduktion von 7-8 berechnet wurde. Dies legt nahe, dass die Sequenzierung der ARG in diesen Fällen unzuverlässig war. Die unzureichende Sequenzierung dieser Proben führte zu einer niedrigen Read Zahl, wodurch die Berechnung der Log-Reduktion nach oben

korrigiert wurde. Im Allgemeinen wird angenommen, dass es zu einer Biomasseanreicherung im Probennehmer (vor allem in den Schläuchen) kommt, was zu höheren DNA Konzentrationen und somit höheren ARG Konzentrationen führt.

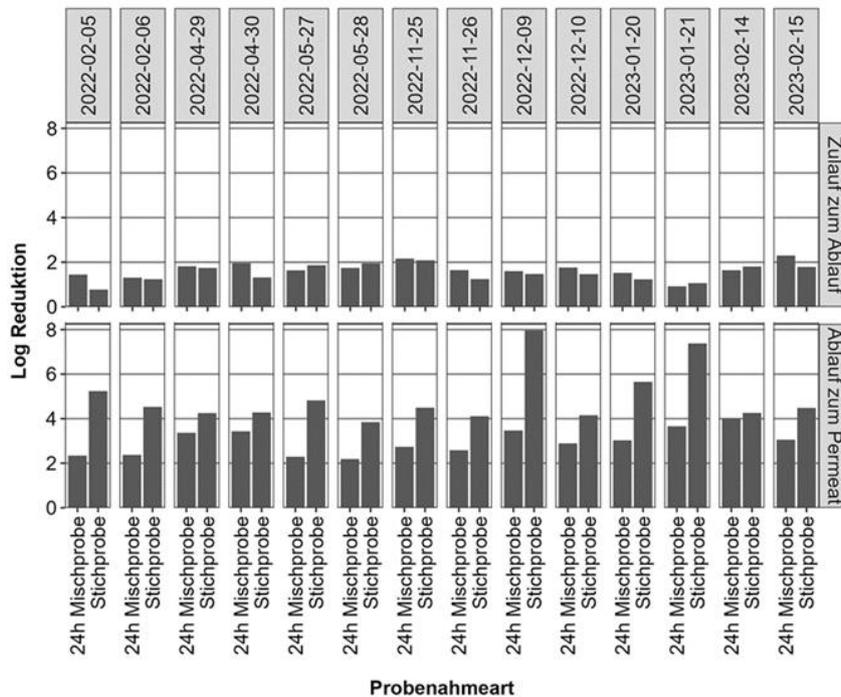


Abbildung 45: Log Reduktion der ARGs in 24 h Mischproben und Stichproben vom Zulauf zum Ablauf und vom Ablauf zum Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Die Reduktion wurde auf Grundlage der gemessenen Reads berechnet.

Die relative Abundanz dominanter ARG in den Zu- und Ablaufproben der Stichproben und 24 h Mischproben zeigte eine insgesamt niedrige prozentuale Verteilung der ARG (Abbildung 46). Es wurde beobachtet, dass die Anzahl der identifizierten Top 10 ARG vom Zulauf bis zum Permeat sowohl in den 24 h Mischproben als auch in den Stichproben zunahm (Abbildung 46). Im Zu- und Ablauf wurden jeweils 21 bzw. 25 verschiedene ARG in den 24 h Mischproben nachgewiesen. Die relative Abundanz der ARG im Zulauf bewegte sich zwischen 2 und 26 %, während sie im Ablauf zwischen 2 und 17 % lag. In den Stichproben wurden hingegen 28 dominante ARG im Zulauf und 27 dominante ARG im Ablauf identifiziert. Die relative Abundanz der dominierenden ARG in den Zulaufproben war nahezu identisch mit den Werten in den 24 h Mischproben, ebenso wie die relative Abundanz der dominierenden ARG in den Ablaufproben. In den Permeatproben wurden insgesamt 29 dominante ARG in den 24 h Mischproben und 44 dominante ARG in den Stichproben nachgewiesen. Dies zeigt bereits eine deutliche Unterscheidung der Anzahl dominanter ARG zwischen den Probenahmearten im Vergleich zu den Zu- und Ablaufproben. Darüber hinaus bewegte sich die relative Abundanz der ARG in den 24 h Mischproben zwischen 1 und 57 %, während sie in den Stichproben zwischen 0,5 und 48 % lag. Im Falle der Permeatproben waren einige der dominanten ARG, die in den Stichproben gefunden wurden, nicht unter den dominanten ARG in den 24-h-Mischproben. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Wahl der Probenahmemethode bei den Permeat Proben einen signifikanten Einfluss auf die ermittelten der Konzentrationen und die Zusammensetzung der ARG hat. Dieser deutliche Einfluss ist bei den Zulauf-Proben nicht erkennbar. Diese Ergebnisse sind konträr zu anderen Untersuchungen, bei denen festgestellt wurde, dass ein wesentlich genaueres Bild vom Gehalt an ARG im Abwasser durch 24 h Mischproben erhalten wird (Lou et al., 2022).

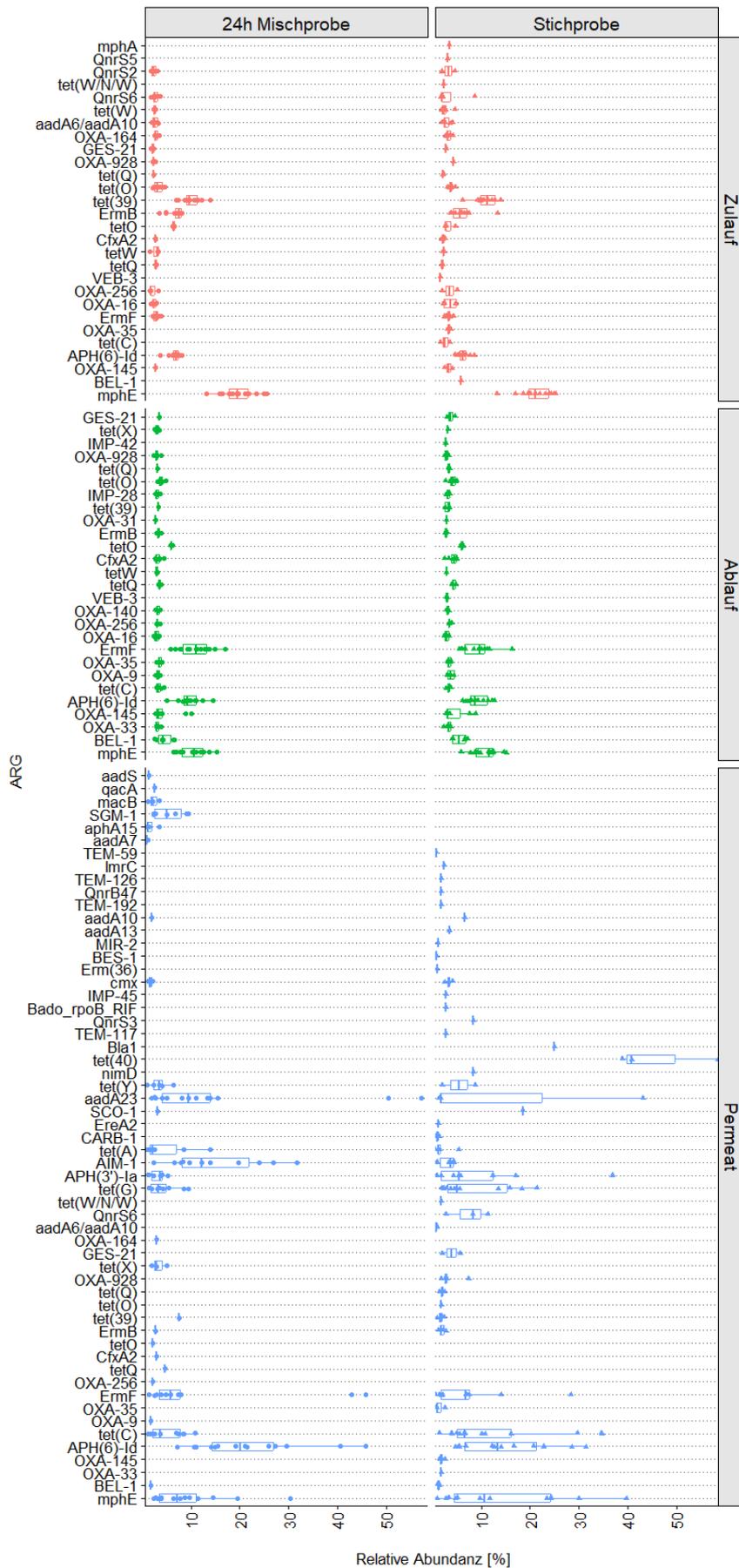


Abbildung 46: Boxplot der dominanten 10 ARGs der 24 h Mischproben und Stichproben vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. Auf der x-Achse ist die relative Abundanz in % aufgetragen und auf der y-Achse die dominanten ARGs.

### 3.3.3.6. Untersuchung von Plasmid-basierten und nicht Plasmid-basierten ARG

Im Rahmen dieser Studie wurde zusätzlich untersucht, ob bestimmte ARG in geringerem Maße durch die durchgeführten Reinigungsprozesse eher entfernt werden als andere. Um die Auswirkungen eines unterschiedlichen Verhaltens verschiedener ARG auf die Verfahrensbewertung zu untersuchen wurde bei der Auswertung zwischen Plasmid-basierte und nicht Plasmid-basierte ARG unterschieden. ARG können entweder im Chromosom oder auf Plasmiden kodiert sein (Bennett, 2008; Rajer und Sandegren, 2022). Plasmide besitzen die Eigenschaft, dass sie verschiedene Formen annehmen können, wie linear, verdreht oder zirkulär (Millan, 2022). Es wird angenommen, dass lineare Plasmide aufgrund ihrer kleineren Größe besser durch eine UF-Membran gelangen können als zirkuläre Formen. Daher wird vermutet, dass ARG, die auf Plasmiden kodiert sind, möglicherweise weniger effektiv von einer UF-Membran zurückgehalten werden können. Darüber hinaus ist es möglich, dass Plasmide sowohl in der Bakterien-Zelle, also intrazellulär, als auch außerhalb der Zelle, also extrazellulär bestehen können (Millan, 2022). Bei der Analyse der prozentualen Verteilung von Plasmid-basierten und nicht Plasmid-basierten ARG ist eine Variabilität der Anteile in den verschiedenen Probenahmestellen zu erkennen (Abbildung 47). Im Zulauf der Kläranlage bewegte sich der Anteil der Plasmid-basierten ARG zwischen 26 % und 31 %, während im Ablauf ein etwas geringerer Anteil von 22 % bis 25 % gemessen wurde. In den Permeatproben hingegen wurde eine größere Varianz festgestellt, wobei der Anteil Plasmid-basierter ARG zwischen 15 % und 43 % variierte.

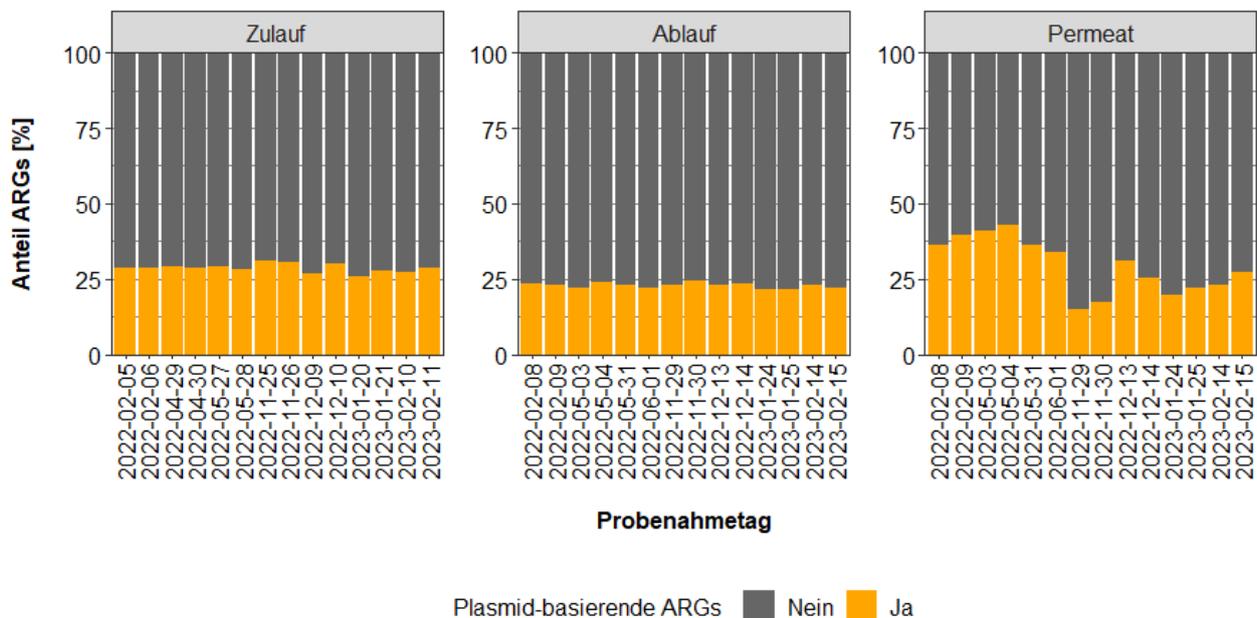


Abbildung 47: Anteil der Plasmid-basierten und nicht Plasmid-basierten ARG in % pro Probe vom Zulauf, Ablauf und Permeat im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023. In Rot sind die nicht Plasmid-basierten ARG und in Türkis die Plasmid-basierten ARG dargestellt.

Beim Vergleich der Diversität der Plasmid-basierten ARG zwischen verschiedenen Probenahmestellen wurde festgestellt, dass die Diversität in der folgenden Reihenfolge abnahm: Zulauf > Abfluss > Permeat (Abbildung 48). Die Analyse der Zulaufproben zeigte, dass es 27 ARG gab, die nur um Zulauf nachgewiesen werden konnten, während 32 ARG mit den Ablaufproben gemeinsam auftraten. Bei den Ablaufproben wurden lediglich 2 Plasmid-basierte ARG detektiert, die in den anderen Probenahmestellen nicht vorkamen. In den Permeatproben wurden keine ARG nachgewiesen, die individuelle für den Probenahmeort war. Es wurden jedoch 3 ARG identifiziert, die auch in den Zulaufproben vorhanden waren. Insgesamt wurden 45 der gemessenen ARG an allen drei Probenahmestellen detektiert. Zu beachten ist hier, dass diese 45 ARG durch keine der Reinigungsstufen entfernt wurden. Es wird deutlich, dass es bestimmte ARG gibt, die eine geringere Entfernbarekeit aufweisen. Daher ist es sinnvoll, nicht nur die Gesamtkonzentration der ARG zu betrachten, sondern auch spezifische ARG zu identifizieren und zu überwachen.

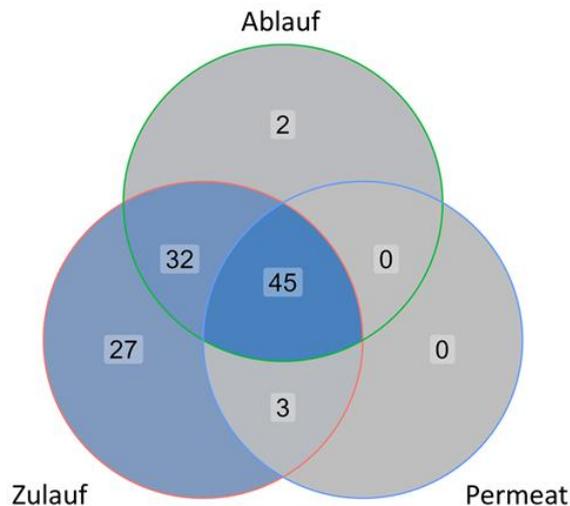


Abbildung 48: Venn-Diagramm der Plasmid-basierten ARG, aufgeschlüsselt nach Zulauf, Ablauf und Permeat, Untersucht wurden dabei die 24h Mischproben der monatlichen Messkampagne im betrachteten Probenahmezeitraum vom 05.02.2022 bis 15.02.2023.

### 3.3.3.7. Bestimmung der Konzentration der ARG im Retentat der UF-Membran

Um die Auswirkungen der im Retentat der UF-Membran vorhandenen ARG zu bestimmen, wurden die ARG-Konzentrationen in den Proben des Zulaufs, des Ablaufs, des Retentats und des Permeats, vom gleichen Tag anhand von stündlich gesammelten Stichproben bestimmt (Abbildung 49).

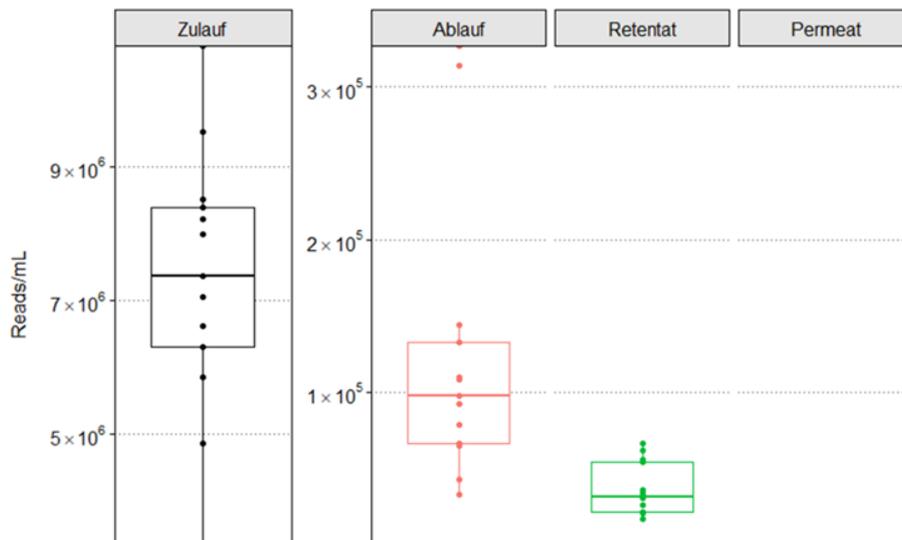


Abbildung 49: Boxplot der ARG Konzentration in Reads/ml der Stichproben vom Tagesgang (01.03.2023) nach den Probenahmestellen. Für eine bessere Darstellung wurden die Proben vom Zulauf mit einer separaten Achsenskalierung aufgeführt.

Die Analyse der ARG-Konzentrationen zeigte eine kontinuierliche Abnahme vom Zulauf zum Permeat. Im Median wurden im Zulauf eine Konzentration von  $7,4 \times 10^6$  Reads/ml ARG gemessen, während es im Ablauf nur noch  $1 \times 10^5$  Reads/ml vorhanden waren. Im Retentat wurden lediglich  $4 \times 10^4$  Reads/ml und im Permeat maximal 30 Reads/ml festgestellt. In Bezug auf eine potenzielle Umweltgefährdung durch das Retentat, da hier ARG angereichert werden und anschließend in die Kläranlage zurückgeführt werden, ist zu erkennen, dass die ARG-Konzentration bereits niedriger ist als im Ablauf. Darüber hinaus macht das Volumen des Retentats auch perspektivisch nur einen geringen Anteil am Zulauf zur Belegung aus (max. 5 – 10 %) aus und stellt damit keine zusätzliche Belastung dar.

### 3.4. Beprobung der Kläranlage und Laborversuche (AP 3)

Um eine umfassende Einschätzung der ARG Belastung in einer Kläranlage zu erhalten, wurden Proben entlang des Prozesspfads genommen, einschließlich des Zulaufs, der verschiedenen Stufen der Belebung (Denitrifikation, Nitrifikation, Hauptverteilerbauwerk, Rücklaufschlamm) und des Ablaufs. Diese Probenahmen erfolgten in zwei zeitlichen Intervallen, einmal vom 26. bis 30. November 2022 und vom 9. bis 14. Dezember 2022. Dabei wurden während der beiden Probenahmezeiträume an den ersten beiden Tagen Proben vom Zulauf entnommen, gefolgt von der fortlaufenden Probenahme der verschiedenen Belebungsstufen vom zweiten bis zum fünften Tag. Abschließend wurden am fünften und sechsten Tag Proben vom Ablauf genommen. Eine besondere Betonung lag auf der Beprobung der verschiedenen Zonen der Belebungsstufe über einen Zeitraum von vier Tagen, um temporäre Veränderungen in der Zusammensetzung der ARG besser erfassen zu können. Dies ermöglichte eine umfassende Charakterisierung der ARG entlang des Klärprozesses und erlaubte eine detaillierte Untersuchung potenzieller Veränderungen in Bezug auf die Prävalenz und Verteilung der ARG während der biologischen Behandlung. Durch die zeitliche Abfolge der Probenahmen konnten systematisch Informationen über die räumliche und zeitliche Verteilung der ARG innerhalb der Kläranlage gewonnen werden.

Bei dieser Probenahme wurden im Zulauf der Kläranlage ARG-Konzentrationen von  $0,8 \times 10^7$  Reads/ml und  $0,9 \times 10^7$  Reads/ml ermittelt (Abbildung 50). Die ARG-Konzentrationen der Belebungsproben lagen im Median etwas unter den Werten des Zulaufs und bewegten sich im Bereich von  $0,4 \times 10^7$  Reads/ml bis  $1 \times 10^7$  Reads/ml. Die ARG-Konzentrationen im Ablauf der Kläranlage waren im Vergleich dazu niedriger, mit einer Konzentration von  $5 \times 10^4$  -  $13 \times 10^4$  Reads/ml. Erkennbar war, dass die Belebungsproben im Vergleich zum Zulauf stärkeren Schwankungen in der ARG Konzentration unterworfen waren (Abbildung 50).

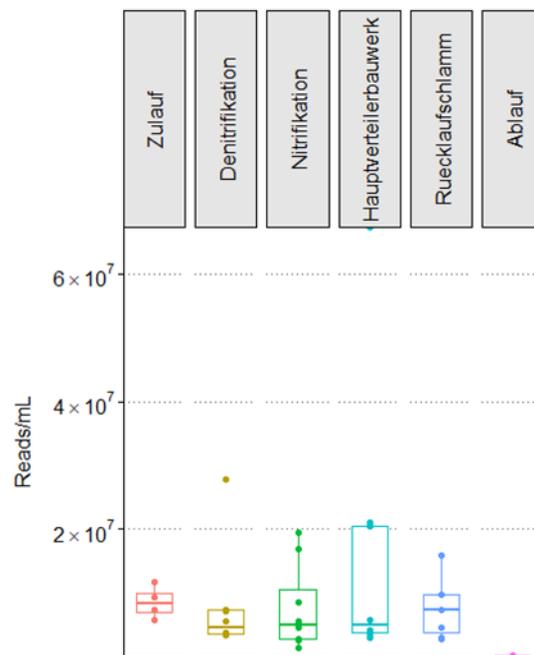


Abbildung 50: ARG-Konzentration der genommenen Proben vom Zulauf der Kläranlage, Denitrifikation-Zone aus der Belebung, Nitrifikation-Zone aus der Belebung, Hauptverteilerbauwerk, Rücklaufschlamm und Ablauf der Kläranlage zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Die ARG-Konzentration ist in Reads pro 1 mL Probenvolumen angegeben.

Bei der Analyse der verschiedenen Probenahmestellen war eine deutliche Dominanz der ARG der multiresistenten Antibiotikaklasse erkennbar, unabhängig von der Probenahmestelle (Abbildung 51). Der Anteil der ARG dieser Klasse bewegt sich in einem Bereich von 51 bis 58 %. Zudem zeigte sich eine deutliche Präsenz von Resistenzgenen der Klasse der Aminoglykosid-Antibiotika, deren Anteil in allen Proben zwischen 7 % und 14 % lag. Die relativen Abundanzen der ARG in den anderen

Antibiotikaklassen lagen alle unter 10 %. Betrachtet man die einzelnen Probenahmestellen, so bewegte sich die Anzahl der detektierten Antibiotikaklassen zwischen 20 und 24. Interessanterweise gibt es einen Kernbestand von 21 nachgewiesenen Antibiotikaklassen, der unabhängig von der Probenahmestelle besteht. Im Vergleich zum Zulauf und Ablauf wiesen die Proben aus der Belebung eine erhöhte Anzahl und eine unterschiedliche Zusammensetzung nachgewiesener Antibiotikaklassen auf. In den Proben aus der Probenahmestelle der Denitrifikation-Zone und dem Hauptverteilerbauwerk wurden 24 Antibiotikaklassen identifiziert. Bei den Proben aus der Probenahmestelle der Nitrifikation-Zone und dem Rücklaufschlamm waren es jeweils 22 Antibiotikaklassen. Bei genauer Betrachtung der Belebungsproben war eine ähnliche Diversität der Antibiotikaklassen festzustellen, unabhängig der Probenahmestelle (d.h. Nitrifikation-Zone und Denitrifikation-Zone). Dieses Ergebnis lässt auf eine breite Verbreitung von ARG schließen, die gegen verschiedene Klassen von Antibiotika wirksam sind. Interessanterweise zeigte sich trotz der unterschiedlichen bakteriellen Zusammensetzung, die durch die variablen Bedingungen entlang der Belebung bedingt ist, eine ähnliche Vielfalt in den detektierten Antibiotikaklassen. Dies legt nahe, dass die gemessenen ARG eventuell unabhängig von der spezifischen bakteriellen Gemeinschaft vorhanden sind und nicht wesentlich von den Umgebungsbedingungen beeinflusst werden.

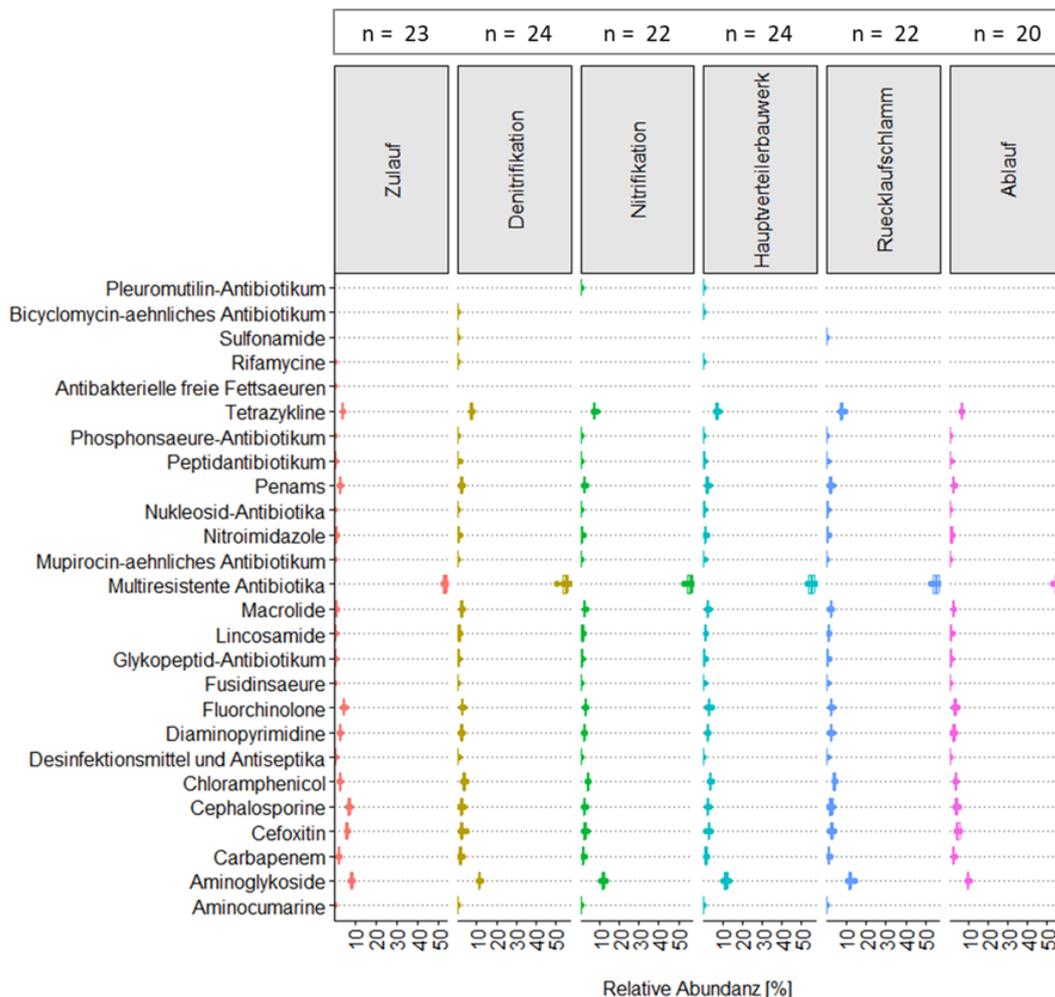


Abbildung 51: Prozentualer Anteil der Antibiotikaklassen der genommenen Proben vom Zulauf der Kläranlage, Denitrifikation-Zone aus der Belebung, Nitrifikation-Zone aus der Belebung, Hauptverteilerbauwerk, Rücklaufschlamm und Ablauf der Kläranlage zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Die relative Abundanz ist anhand der gemessenen Gesamt Reads pro Probe berechnet worden.

### 3.4.1. Expositionswahrscheinlichkeit gegenüber klinisch relevanten ARG der Kläranlage

Im nächsten Schritt wurde eine Analyse der Expositionswahrscheinlichkeit gegenüber klinisch relevanten ARG an ausgewählten Proben aus der Belebungsanlage (im Folgenden als Rücklaufschlamm betitelt) durchgeführt. Hierbei wurden die Proben des Rücklaufschlammes gewählt, da Personen, die direkt mit der Belebungsanlage arbeiten, am wahrscheinlichsten mit dem Belebtschlamm in Kontakt kommen. Für die erweiterte Analyse wurden zudem die Permeat Proben hinzugefügt, um den Einfluss der Pilotanlage bei der Entfernung dieser ARG aus dem Abwasser bewerten zu können. Für die Analyse der Expositionswahrscheinlichkeit wurden spezifische ARG identifiziert und untersucht. Im Februar 2017 veröffentlichte die Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine Liste von Pathogenen, für die dringend neue Antibiotika entwickelt werden müssen. Anhand dieser Liste wurden insgesamt 37 relevante ARGs identifiziert, die mit den ARBs auf dieser Liste korrelieren.

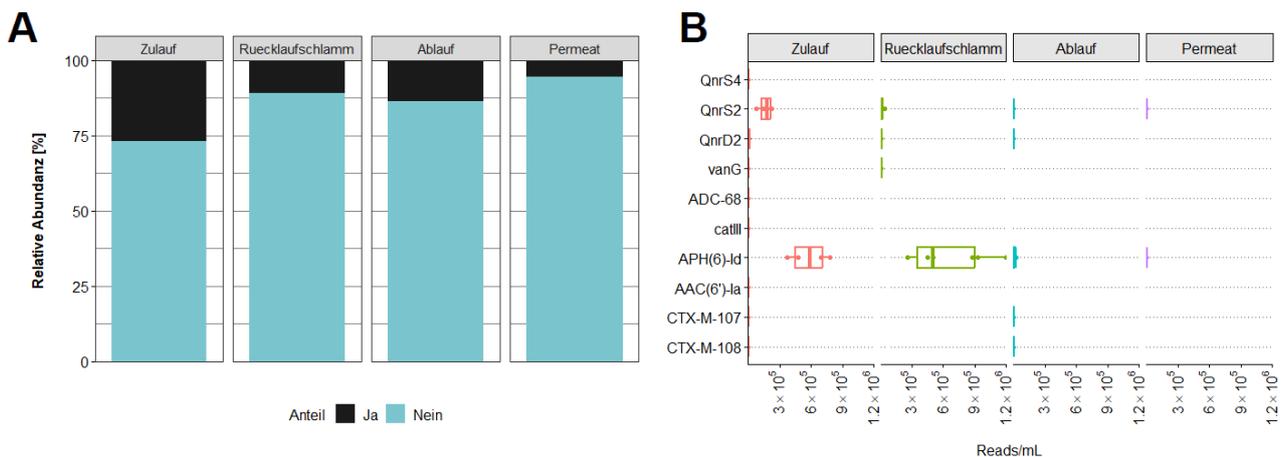


Abbildung 52: (A) Prozentualer Anteil der nachgewiesenen risikobehafteten ARG in den genommenen Proben vom Zulauf, Rücklaufschlamm, Ablauf und Permeat zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Ja (schwarz) zeigt an, dass die ARG nachgewiesen wurden, Nein (Blau), dass sie nicht in den Proben detektiert wurden. (B) Boxplot der ARG für die Risikoanalysen der genommenen Proben vom Zulauf, Rücklaufschlamm, Ablauf und Permeat zu den Probenahmezeiten vom 26-30.11.2022 und vom 9-14.12.2022. Auf der x-Achse ist die Konzentrationen der ARG in Reads/ml angegeben und auf der y-Achse die ARG.

In der dargestellten Abbildung 52 A lässt sich erkennen, dass im Zulauf der Kläranlage 27 % der relevanten ARG nachgewiesen wurden, während im Rücklaufschlamm nur noch 11 % und im Ablauf 14 % detektiert wurden. Im Permeat waren es anschließend nur noch 5 %. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Abnahme des Vorkommens risikobehafteter ARG entlang des Klärprozesses. In Abbildung 52 B sind die einzelnen nachgewiesenen ARG in den Proben aufgeführt. Es wurden maximal 10 ARG der 37 relevanten ARG in allen untersuchten Proben detektiert. Die meisten ARG wiesen dabei Konzentrationen unter  $3 \times 10^5$  Reads/ml auf. Es ist jedoch anzumerken, dass APH(6)-Id eine Ausnahme bildete und hier höhere Konzentrationen gemessen wurden. APH(6)-Id ist eine Aminoglykosid-Phosphotransferase, ein Enzym, das Aminoglykosid-Antibiotika phosphoryliert, wodurch das Antibiotikum seine Wirksamkeit verliert (Daly et al., 2005). QnrS2 ist ein Chinolon-Resistenzprotein (Gay et al., 2006) und wurde mit etwas geringeren Konzentrationen von maximal  $3 \times 10^5$  Reads/ml detektiert. In den für die Analyse des Expositionsrisikos relevanten Proben des Rücklaufschlammes wurden neben APH(6)-Id und QnrS2 nur vereinzelt andere ARG wie QnrD2 und vanG nachgewiesen. Auch die Konzentrationen dieser Gene waren niedriger und erreichten maximal  $3 \times 10^5$  Reads/ml. Interessanterweise wurden im Ablauf mehr ARG nachgewiesen als im Rücklaufschlamm, darunter CTX-M-107 und CTX-M-108. Die beobachtete Abnahme der nachgewiesenen ARG und ihre geringen Konzentrationen im Rücklaufschlamm und Ablauf verdeutlichen den Rückgang des Risikos im Zusammenhang mit der weitergehenden Abwasserreinigung. Im Permeat wurde abschließend nur noch APH(6)-Id und QnrS2 in geringen Konzentrationen nachgewiesen. Für die Analyse muss angemerkt werden, dass es sich hierbei nur um den Nachweis der Gene handelt und nicht um ARB oder Pathogene. Anhand dessen kann also nur eine grobe Analyse getätigt werden, für eine umfassendere Analyse des Expositionsrisikos in

der Kläranlage müssen jedoch noch weitere Messungen getätigt werden, wie z.B. die Bestimmung des Vorhandenseins von ARG in den entdeckten Krankheitserregern oder ob die ARG in den Krankheitserregern aktiv sind.

### 3.5. Wirtschaftlichkeit und Upscaling (AP 4)

#### 3.5.1. Herausforderungen beim Betrieb der Versuchsanlage

Beim Betrieb der Versuchsanlage haben sich Herausforderungen ergeben, die das Abfahren der geplanten Versuche erschwerten. Zunächst stellte sich heraus, dass die Dosierung der Pulveraktivkohle mittels einer Mietanlage „MOPAK“ der Fa. Schaub unzuverlässig lief. Daher wurde diese durch ein alternatives PAK-Dosiersystem ersetzt und eine PAK-Suspension mit einem TS-Gehalt von 50 g/l in einem IBC hergestellt und mit einer Pumpe dem Reaktor zugegeben.

Des Weiteren fiel das Gebläse zur Membranüberströmung im Juli 2022 aus und konnte (aufgrund von Lieferengpässen) erst im Oktober 2022 ersetzt werden.

#### 3.5.2. Leistungsfähigkeit der Membranfiltration

Während des Betriebes der Versuchsanlage stellte sich heraus, dass die erwarteten Flussleistungen der Anlage nicht mit den geringen Transmembrandrücken (TMP) erreicht werden konnten. Dies führte zu der Vermutung, dass sich die abwasserspezifische Zusammensetzung des Zuflusses von der anderer, zuvor betriebener, Versuchsanlagen unterscheidet. In die Ursachenforschung gingen neben der eingesetzten PAK, hohe Salzgehalte des Abwassers und Polymereinsatz auf der Kläranlage auch ein industrieller Einfluss durch die Anlieferung von Fremdschlämmen ein. Darauf aufbauend wurden zahlreiche Filtrationsversuche, sowohl an Flachmembran-Stanzlingen als auch an laminierten Membrantaschen in einem Filtrationsreaktor im Labormaßstab, durchgeführt. Die Versuchsaufbauten sowie die erzielten Ergebnisse sind in Kapitel 3. zusammengefasst.

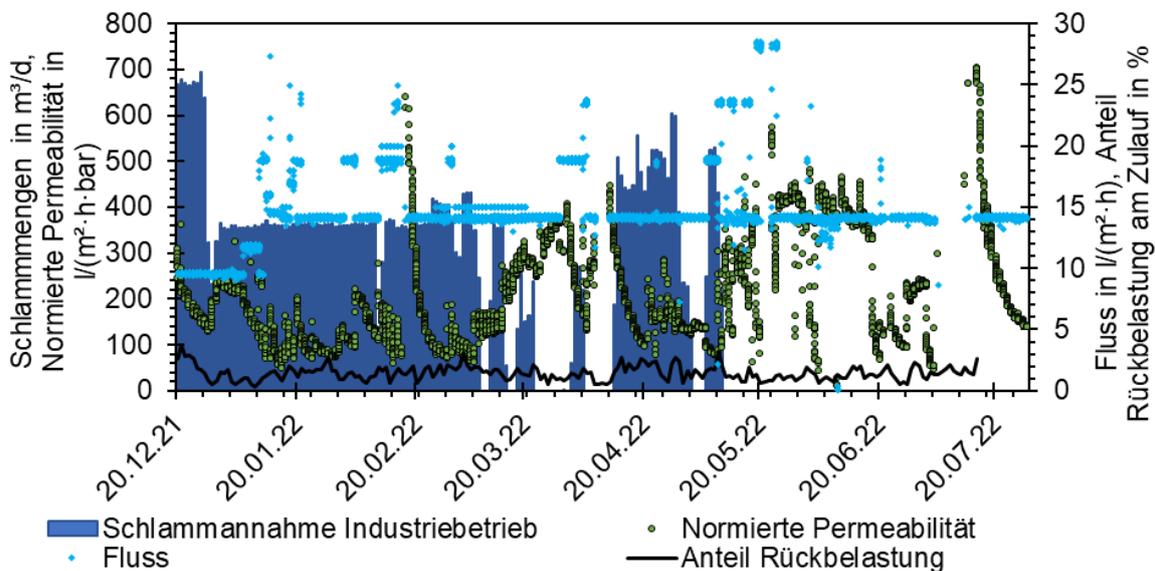


Abbildung 53: Einfluss der angenommenen Industrie-Fremdschlämme auf die Permeabilität der Membranen (normiert auf 20°C). Durch die Entwässerung der Schlämme gelangt das Schlammwasser über die Rückbelastung in die biologische Stufe der Kläranlage.

Abbildung 53 zeigt die Betriebsphase zwischen Dezember 2021 und Juli 2022. Dargestellt sind neben dem Fluss und der auf 20° normierten Permeabilität der Versuchsanlage, auch der Schlammvolumenstrom des industriellen Einflusses (blaue Balken). Das Schlammwasser gelangt durch die Rückbelastung in die biologische Stufe der Kläranlage und damit in den Wasserkreislauf. Die Vermutung ist, dass dieser Teilstrom Verbindungen enthalten kann, welche die Membranfiltration beeinflussen. Es ist erkennbar, dass die temperaturnormierte Permeabilität der

Anlage bei gleichem Fluss in der Phase mit industriellem Einfluss (ca. 10.01.-05.03.22) auf einem wesentlich niedrigeren Niveau von durchschnittlich ca. 100 LMH/bar als in der Phase ohne industriellen Einfluss (ca. 20.05.-20.06.22) mit ca. 400 LMH/bar im Durchschnitt lag. Ab Juni 2022 war bis Oktober 2022 kein Regelbetrieb möglich, da das Gebläse den Durchfluss nicht konstant aufrechterhalten konnte und schlussendlich für einen längeren Zeitraum defekt war und völlig ausfiel. Aufgrund dessen konnte der positive Effekt auf die Permeabilität durch das Ausbleiben der industriellen Schlämme nicht weiter untersucht werden.

### 3.5.3. Bemessung

#### 3.5.3.1. Bemessungsgrundlagen

Das Pulveraktivkohlekontaktverfahren mit Membranfiltration wurde in 2 Varianten wirtschaftlich untersucht (Tabelle 14).

In Variante 1 wird das Verfahren für einem Teilstrom des Abwassers nach den Vorgaben des Kompetenzzentrums für Spurenstoffe KomS-BW dimensioniert. Die maximale Trockenwettermenge  $Q_{T,max,85}$  beträgt etwa 2.150 m<sup>3</sup>/h, es ergibt sich damit eine Auslegungsmenge von  $Q_{Spur} = 2.573$  m<sup>3</sup>/h (715 l/s). Mit dieser Auslegungsmenge können etwa 15.830.000 m<sup>3</sup>/a behandelt werden, dies entspricht etwa 85 % der Jahresabwassermenge.

In Variante 2 wird die Behandlung des gesamten, dem Hauptklärwerk Wiesbaden zugeführten Schmutz- und Niederschlagwassers (Vollstrombehandlung) dimensioniert. Die vom Hauptklärwerk Wiesbaden aufzunehmende Mischwassermenge ( $Q_M$ ) beträgt 7.200 m<sup>3</sup>/h (= 2.000 l/s); es wurde eine Jahresabwassermenge (JAM) in Höhe von 18.600.000 m<sup>3</sup> (JAM des Jahres 2020) angewandt.

Tabelle 14: untersuchte Varianten

|                            | Variante 1                          | Variante 2                     |
|----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
|                            | Teilstrom                           | Vollstrom                      |
| $Q_{Bemessung}$            | $Q_{Spur} = 2573$ m <sup>3</sup> /h | $Q_M = 7200$ m <sup>3</sup> /h |
| behandelbare Abwassermenge | 15.830.000 m <sup>3</sup> /a        | 18.600.000 m <sup>3</sup> /a   |
|                            | 85 %                                | 100 %                          |

Aus den Betriebsergebnissen der Versuchsanlage wurden folgende Bemessungswerte ermittelt:

Tabelle 15: Bemessungswerte für eine großtechnische Auslegung

| Parameter                        | Wert  |
|----------------------------------|---|
| Brutto-Fluss                     | 30 l/(m <sup>2</sup> ·h)  |
| Netto-Fluss (= Betriebsfluss)    | 23,1 l/(m <sup>2</sup> ·h)  |
| Membranfläche je Modul           | 480 m <sup>2</sup>  |
| Luftvolumenstrom je Modul        | 90 m <sup>3</sup> /h im Betrieb, 40 m <sup>3</sup> /h im Stand-by |
| Flächenbedarf je Modul im Becken | 3,56 m <sup>2</sup>   |

#### 3.5.3.2. Bemessungsergebnisse

Auf Grundlage der oben ermittelten Bemessungsgrundlagen wurde eine Membranfläche in Höhe von 112.000 m<sup>2</sup> (Variante 1) bzw. 312.000 m<sup>2</sup> (Variante 2) ermittelt (Tabelle 16). Auf Basis des BIO-CEL® L-2-Modules der Fa. Mann+Hummel mit 480 m<sup>2</sup> Membranfläche je Membranmodul sowie Informationen zur Gestaltung der Becken wurde eine erforderliche Beckenfläche in Höhe von etwa 855 m<sup>2</sup> bzw. 2.314 m<sup>2</sup> bestimmt. Das Beckenvolumen kann bei einer Tiefe von 3,10 m mit 2.650 m<sup>3</sup> bzw. 7.174 m<sup>3</sup> angegeben werden. Zur Gewährleistung der Crossflow wurde ein Luftvolumenstrom in Höhe von 21.600 m<sup>3</sup>/h (Variante 1) bzw. 58.500 m<sup>3</sup>/h (Variante 2) berechnet. Für die

Gebälsestation mit Betriebsgebäude wurde ein Bauvolumen von rd. 1.600 m<sup>3</sup> (Variante 1) bzw. 3.200 m<sup>3</sup> (Variante 2) anhand hausinterner Ansätze ermittelt.

Tabelle 16: Bemessungsergebnisse für die großtechnische Anwendung

| Parameter                             | Variante #1 Q <sub>Spur</sub>                 | Variante #2 Vollstrom Q <sub>M</sub>            |
|---------------------------------------|---|---|
| Erf. Membranfläche                    | 111.500 m <sup>2</sup>                        | 312.000 m <sup>2</sup>                          |
| Mindestanzahl Module (ohne Redundanz) | 232   | 650   |
| Anzahl Membranstraßen                 | 24 x 10 Module (240 Module)                   | 65 x 10 Module (650 Module)                     |
| Installierte Membranfläche            | 115.200 m <sup>2</sup>                        | 312.000 m <sup>2</sup>                          |
| Beckenfläche                          | 24 x 35,6 m <sup>2</sup> = 855 m <sup>2</sup> | 65 x 35,6 m <sup>2</sup> = 2.314 m <sup>2</sup> |
| Beckenvolumen                         | 2.650 m <sup>3</sup>                          | 7.174 m <sup>3</sup>                            |
| Betriebszeit                          | 5.956 h/a                                     | 2.583 h/a                                       |
| Luftvolumen Betrieb                   | 21.600 m <sup>3</sup> /h                      | 58.500 m <sup>3</sup> /h                        |
| Energie Belüftung                     | 6.250 kWh/d<br>0,14 kWh/m <sup>3</sup>        | 8.115 kWh/d<br>0,16 kWh/m <sup>3</sup>          |
| Permeatbehälter (2 l/m <sup>2</sup> ) | 230 m <sup>3</sup>                            | 624 m <sup>3</sup>                              |
| Permeatpumpen                         | 24 x 110 m <sup>3</sup> /h                    | 65 x 110 m <sup>3</sup> /h                      |
| Energie Permeatpumpe (2 m Förderhöhe) | 390 kWh/d<br>0,01 kWh/m <sup>3</sup>          | 460 kWh/d<br>0,01 kWh/m <sup>3</sup>            |

Während der Versuchszeit wurden 2 unterschiedliche Aktivkohlen eingesetzt. Für Produkt 1 wurde eine erforderliche Dosis in Höhe von 16 mg/l und für Produkt 2 in Höhe von 11 mg/l ermittelt. Damit ergeben sich Jahresmengen von 174.000 kg/a bis 298.000 kg/a je nach Variante und Aktivkohleprodukt (Tabelle 17).

Tabelle 17: Pulverativkohledosierung

| Parameter                               | Variante #1 Q <sub>Spur</sub> | Variante #2 Vollstrom Q <sub>M</sub> |
|---|-------------------------------|--------------------------------------|
| Produkt 1                               | 16 mg/l*                      | 16 mg/l*                             |
| Jahresbedarf PAK1                       | 253.000 kg/a                  | 298.000 kg/a                         |
| Schlammmenge (2kg/kg PAK nach Metzger)  | 506.000 kg/a ÜS               | 596.000 kg/a ÜS                      |
|   |                               |                                      |
| Produkt 2                               | 11 mg/l*                      | 11 mg/l*                             |
| Jahresbedarf PAK2                       | 174.000 kg/a                  | 205.000 kg/a                         |
| Schlammmenge (2 kg/kg PAK nach Metzger) | 348.000 kg/a ÜS               | 410.000 kg/a ÜS                      |

\*80 % Spurenstoffreduktion Schweizer Liste, Bezug: Ablauf Nachklärung

### 3.5.4. Kosten

#### 3.5.4.1. Befreiung von der Abwasserabgabe

Aus den Versuchsergebnissen kann eine CSB-Konzentration < 20 mg/l und eine P-Ablaufkonzentration < 0,1 mg/l abgeleitet werden, sodass eine mögliche Befreiung von der Abwasserabgabe möglich erscheint. Es konnten keine P-Rücklösungen oder negativen Effekte auf

die P-Elimination beobachtet werden. Eine Befreiung von der Abwasserabgabe wäre jedoch nur in der Variante 2 (Vollstrombehandlung mit  $Q_M$ ) möglich.

#### 3.5.4.2. Investitionskosten

Die Angabe von Kosten ist in Abhängigkeit der Bearbeitungstiefe mit Unsicherheiten behaftet. Aufgrund aktueller globaler gesellschaftlicher Ereignisse haben diese Unsicherheiten in den letzten Monaten zugenommen. Vor diesem Hintergrund ist die Angabe der nachfolgenden Kosten eine Momentaufnahme, welche bei weiterer ingenieurtechnischer Planung fortgeschrieben werden müssen.

Für Variante 1 ( $Q_{Spur}$ ) und Variante 2 ( $Q_M$ ) wurden auf Basis der vorgenannten Bemessungsergebnisse Investitionskosten für die Bau-, Maschinen- und EMSR-Technik überschlägig ermittelt. Für Variante 1 liegen demnach Nettointerinvestitionskosten inkl. Baunebenkosten in Höhe von rd. 16,9 Mio. € (20,1 Mio. €, brutto), für Variante 2 in Höhe von rd. 34,5 Mio. € (41 Mio. €, brutto) vor. Variante 2 ( $Q_M$ ) bedarf im Vergleich zu Variante 1 ( $Q_{Spur}$ ) folglich rd. die doppelten Investitionskosten.

#### 3.5.4.3. Betriebskosten

Die Betriebskosten beinhalten Aufwendungen für Betriebsmittel (Pulveraktivkohle, Fällmittel, etc.), elektrische Energie, Entsorgung (Pulveraktivkohleschlamm), Personal und Wartung. Für Variante 1 ( $Q_{Spur}$ ) wurden beim Einsatz von PAK 1 Nettobetriebskosten in Höhe von rd. 1,2 Mio. €/a (0,08 €/m<sup>3</sup>), bei Einsatz von PAK 2 rd. 1,1 Mio. €/a (0,07 €/m<sup>3</sup>) überschlägig berechnet; dementsprechend liegen Bruttobetriebskosten in Höhe von 1,3–1,5 Mio. €/a (0,08–0,09 €/m<sup>3</sup>) beim Einsatz von PAK 2 resp. PAK 1 vor. Variante 2 ( $Q_M$ ) weist Nettobetriebskosten bei Einsatz von PAK 1 in Höhe von rd. 1,6 Mio. €/a (0,09 €/m<sup>3</sup>), bei Einsatz von PAK 2 in Höhe von rd. 1,4 Mio. €/a (0,08 €/m<sup>3</sup>) auf. Die Bruttobetriebskosten liegen im Bereich von rd. 1,7–1,9 Mio. € (0,09–0,10 €/m<sup>3</sup>) beim Einsatz von PAK 2 resp. PAK 1.

#### 3.5.5. Umweltbelastungen

- Ablaufqualität: bei konkurrierenden, am Markt befindlichen Verfahren zur zielgerichteten Elimination von Spurenstoffen wurde in Abhängigkeit der Betriebsparameter (Dosis, Kontaktzeit etc.) die Konzentration sogenannter Leitsubstanzen um 80 % gesenkt. Das untersuchte PAK/UF-Verfahren bietet jedoch zusätzlich eine Elimination von Keimen und damit antibiotikaresistenten Bakterien. Selbst die antibiotikaresistenten Gene wurden zu etwa 3 Log-Stufen reduziert. Zudem wurden durch die Ultrafiltration alle Feststoffe inklusive der Pulveraktivkohle zurückgehalten. Bei Aktivkohleverfahren kommt es bei am Markt befindlichen Verfahren zu einem geringen Aktivkohleaustrag in den Vorfluter dem sog. Aktivkohleschlupf. Bei einem angenommenen Aktivkohleschlupf von 0,5 mg/l ergeben sich für die Varianten etwa 8 t/a (Variante 1) bzw. 9,3 t/a (Variante 2), die ausgetragen werden und sich im Sediment des Vorfluters absetzen. Daher ist die Ablaufqualität des untersuchten PAK/UF-Verfahrens als deutlich höher einzuordnen als gängige Verfahren.
- Platzbedarf: Der Platzbedarf des PAK/UF-Verfahrens ist im Vergleich zu anderen konkurrierenden Verfahren geringer. Beim Ozonverfahren wird neben dem recht kompakten Ozonreaktor noch eine Nachbehandlungsstufe erforderlich. Das GAK-Verfahren erfordert je nach Randbedingungen eine Vorbehandlungsstufe z.B. durch eine Tuchfiltration. Das PAK-Verfahren mit einer Sedimentation ist das Verfahren mit dem größten Platzbedarf.
- Chemikalieneinsatz: Bei Membranverfahren werden Reinigungschemikalien zur Reinigung der Membranen erforderlich. Dabei werden derzeit i.d.R. Zitronensäure und Natriumhypochlorit verwendet. Der Einsatz der Zitronensäure ist als unkritisch anzusehen, da dieses in der Anlage anschließend biologisch abgebaut wird. Beim Einsatz von Natriumhypochlorit besteht die Gefahr der Bildung von AOX (Adsorbierbare organisch gebundene Halogene), welche in der Umwelt nicht natürlich abgebaut werden. Als Alternative wurde daher in diesem Projekt der

Einsatz von Wasserstoffperoxid untersucht, diese Untersuchungen müssen allerdings noch fortgeführt werden. Ein Einsatz von weiteren Chemikalien (z.B. Flockungsmitteln) ist nicht erforderlich.

- Energiebedarf: Bei am Markt befindlichen Verfahren weist die Ozonung aufgrund der energieintensiven Ozonherstellung einen hohen Strombedarf auf. Bei der GAK-Filtration ist eine hohe Pumpenergie zu verzeichnen, da die Filter i.d.R. eine Pumphöhe von über 5 m aufweisen. Das untersuchte PAK/UF-Verfahren hat aufgrund der Membranbelüftung einen hohen Strombedarf, der zu etwa mehr als 0,1 kWh/m<sup>3</sup> ermittelt wurde (siehe Tabelle 16) und damit in einem recht hohen Bereich anzusiedeln ist. Weitere Optimierungen könnten hier durchgeführt werden.
- CO<sub>2</sub>-Fußabdruck: Nach DWA-M 285-2 beträgt der CO<sub>2</sub>-Fußabdruck von Pulveraktivkohlen zwischen 1 und 18 kg CO<sub>2,eq</sub> je kg PAK. Aufgrund dieser großen Spannweite ist eine konkrete Aussage zum CO<sub>2,eq</sub>-Fußabdruck kaum möglich, da die Hersteller der PAK keine konkreten Zahlen ihrer Produkte herausgeben. Produkt 1 wird aus Lignin-Abfallstoffen der Papierindustrie in den USA hergestellt und hat einen deutlich geringeren Primärenergiebedarf als Produkt 2. Es wird eine Spannweite von 3 bis 6 kg CO<sub>2,eq</sub> je kg PAK abgeschätzt. Produkt 2 besteht hauptsächlich aus Steinkohle und wird in Asien hergestellt, der CO<sub>2,eq</sub>-Fußabdruck wird zu 10 bis 13 kg CO<sub>2,eq</sub> je kg PAK abgeschätzt. Bei einer solchen Abschätzung wäre Produkt 1 trotz eines höheren PAK-Dosierbedarfs hinsichtlich des CO<sub>2</sub>-Fußabdrucks günstiger einzustufen.

---

## 4. Fazit

---

In diesem Projekt wurde eine Verfahrenskombination aus Pulveraktivkohledosierung und Ultrafiltration zur weitergehenden Abwasserbehandlung im technischen Maßstab mit einem Serienmembranmodul mit 480 m<sup>2</sup> Membranfläche über einen Zeitraum von mehr als 2 Jahren erprobt und verfahrenstechnisch optimiert.

Um eine möglichst hohe Eliminationsleistung an Spurenstoffen zu erzielen, wurden vorab Adsorptionsversuche im Labormaßstab durchgeführt, um die optimale Pulveraktivkohle für das Abwasser in Wiesbaden auswählen zu können. Neben der Adsorptionsleistung wurden weitere Kriterien zur Auswahl entwickelt und herangezogen (Verfügbarkeit, Preis, Material und insbesondere Kriterien zur Reduktion des CO<sub>2</sub>-Fußabdrucks). Außerdem konnte sowohl im Labormaßstab als auch im 2-jährigen Betrieb gezeigt werden, dass die Pulveraktivkohle keinen negativen Einfluss auf die Membranintegrität durch Abrasion hatte - die Eliminationsleistungen waren unverändert.

Es konnte gezeigt werden, dass der TS-Gehalt im Kontaktreaktor keinen Einfluss auf die Filtrationsleistung des Membranmoduls hatte, der TS-Gehalt wurde zwischen 2 und 8 g/l untersucht. Somit ergibt sich perspektivisch für den Betrieb ein sehr großer verfahrenstechnischer Spielraum zur Steuerung der Anlage und ein diskontinuierlicher Kohleabzug ist ebenso möglich wie ein mehr oder weniger kontinuierlicher Abzug aus dem System. Zudem konnte gezeigt werden, dass in dieser Anwendung das Membranmodul mit einer geringeren Crossflowströmung betrieben werden kann als im MBR-Betrieb. Für das eingesetzte Serienmodul beträgt der Luftvolumenstrom zur Erzeugung des Crossflow im Standard MBR-Betrieb 90 bis 115 m<sup>3</sup>/h, dieser konnte im Projekt auf 30 bis 60 m<sup>3</sup>/h bei geringeren Flüssen und 60 bis 90 m<sup>3</sup>/h bei hohen Durchflüssen reduziert werden. Weitere Optimierungen sind hier jedoch möglich und erforderlich, um insbesondere den Energiebedarf weiter zu reduzieren. Flüsse bis zu 30 l/(m<sup>2</sup>h) konnten in der Versuchsanlage realisiert werden. Im Vergleich mit anderen Standorten, an denen 40 l/(m<sup>2</sup>h) realisiert wurden, ist dies ein geringer Fluss und zeigt die Abhängigkeit der Filtrationsleistung vom jeweiligen Abwasser. Welche Inhaltsstoffe für die Leistung verantwortlich waren, konnte auch durch intensive Filtrationsversuche nicht eingegrenzt werden. Der Einfluss von der Annahme von Industrieschlämmen auf dieser Kläranlage scheint einen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit gehabt zu haben.

Um die Membranen zu reinigen wurde eine wöchentliche Rückspülung mit 500 ppm Natriumhypochlorit (NaOCl) eingesetzt, zudem wurden unregelmäßige Rückspülungen mit 3200 ppm Zitronensäure durchgeführt, um die anorganischen Membranablagerungen zu entfernen. Diese Maßnahmen waren für den Normalbetrieb ausreichend, um die Leistung aufrecht zu erhalten. Durch eine Intensivreinigung mit 7500 ppm NaOCl und anschließend 5000 ppm Zitronensäure konnte die Ausgangspermeabilität wiederhergestellt werden. Es wurden zudem weitere Versuche im Labormaßstab mit Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) anstatt NaOCl durchgeführt, um der Bildung von AOX entgegenzuwirken. Diese Methode ist jedoch deutlich kostenintensiver als die Standardmethode mit NaOCl.

Im Betrieb der Anlage konnte eine konstant hohe Ablaufqualität erzielt werden. CSB- und Phosphate-Konzentrationen konnten weitgehend reduziert werden, sodass eine Befreiung von der Abwasserabgabe möglich erscheint. Die Reduktion des SAK<sub>254</sub> deutete auf eine konstant hohe Elimination von Spurenstoffen hin. Im Permeat der Ultrafiltration konnten zudem nur vereinzelt Gesamtkoliforme Bakterien nachgewiesen werden. *E-Coli* wurden nicht mehr nachgewiesen.

Neben den klassischen Abwasserparametern zur Bewertung des Membranrückhalts der UF und der PAK Dosis zeigte das Projekt, dass die Implementierung eines solchen weitergehenden Verfahrens dazu beiträgt, die Konzentrationen von ARG deutlich zu verringern und gleichzeitig die Spurenstoffe zu reduzieren. Mit der ausgewählten und im Pilotmaßstab untersuchten PAK war eine 80 %-ige Reduktion der Spurenstoffe erreichbar; allerdings wirkten sich unterschiedliche PAK-Materialien auch auf die Effizienz der Pilotanlage aus. Der Einfluss der PAK auf die ARG-Reduktion war kaum spürbar. Die monatliche Beprobung der Pilotanlage zeigte, dass sowohl die Kläranlage als auch die Pilotanlage einen Einfluss auf die Reduktion der ARG im Abwasser hatten. Die zusätzlichen Reinigungsschritte der Pilotanlage führten zu einer höheren Reduktion der ARG im Vergleich zur Kläranlage. Insgesamt wurde eine Reduktion der ARG-Konzentration um 3-Log beobachtet. Eine signifikante Verringerung der WHO ARG-Liste wurde in den Permeatproben beobachtet, in denen nur noch 2 der 37 gelisteten ARG nachgewiesen wurden. Außerdem wurde die Entfernbarekeit von verschiedenen ARG Gruppen untersucht. Besonderes Augenmerk wurde auf

den Vergleich von Plasmid-basierten und nicht Plasmid-basierten ARG gelegt. Die Untersuchungen zeigten, dass Plasmid-basierte ARG in der Kläranlage weniger effizient entfernt wurde als nicht Plasmid-basierte ARG. Die Implementierung der Pilotanlage hat jedoch dazu beigetragen, die ARG-Konzentration deutlich zu senken und damit auch die Plasmid-basierten ARG im Abwasser zu reduzieren. Die spezifischen Eigenschaften von Plasmid-basierten ARG, wie ihre Fähigkeit zur horizontalen Genübertragung und ihre Plasmidstrukturen, könnten ihre Entfernbarkeit beeinflussen. Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit einer differenzierten Analyse der verschiedenen ARG. Außerdem ist es wichtig, eine geeignete Probenahme-strategie zu entwickeln, um weitergehende Verfahren besser bewerten zu können. Die im Rahmen des Projektes durchgeführte Intensivmesswoche lieferte wichtige Erkenntnisse über die wöchentlichen Schwankungen von ARG in der Kläranlage und in der Pilotanlage. Es wurde dargelegt, dass die nachgewiesenen ARG, insbesondere im Permeat, eine größere Varianz in ihrer Zusammensetzung zeigten. Dies deutet darauf hin, dass weitere Maßnahmen erforderlich sind, um die Effizienz der ARG-Entfernung zu verbessern.

## 5. Literatur

- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A. R., Wlodarski, M. A., Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S. A., Tsang, K. K., Baker, S. J. C., Dave, M., McCarthy, M. C., Mukiri, K. M., Nasir, J. A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., ... McArthur, A. G. (2023). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D690–D699. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC920>
- Albertsen, M., Karst, S. M., Ziegler, A. S., Kirkegaard, R. H., & Nielsen, P. H. (2015). Back to Basics – The Influence of DNA Extraction and Primer Choice on Phylogenetic Analysis of Activated Sludge Communities. *PLOS ONE*, 10(7), e0132783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132783>
- Alexander, J., Knopp, G., Dötsch, A., Wieland, A. and Schwartz, T. (2016) Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts. *Science of The Total Environment* 559, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.154>
- Baquero, F., Martínez, J.-L. and Cantón, R. (2008) Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology* 19(3), 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, 153:S347–S357. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0707607>
- Berendonk, T.U., Manaia, C.M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., Bürgmann, H., Sørum, H., Norström, M., Pons, M.-N., Kreuzinger, N., Huovinen, P., Stefani, S., Schwartz, T., Kisand, V., Baquero, F. and Martinez, J.L. (2015) Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Reviews Microbiology* 13, 310. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
- Bitterwolf, S. B., Marc; Siegrist, Hansruedi; Joss, Adriano; (2017). "Elimination von Spurenstoffen durch granuliert Aktivkohle (GAK) Filtration: Grosstechnische Untersuchungen auf der ARA Furt-Bülach."
- Bürgmann, H. (2014) Eintrag von Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in Wassersysteme der Schweiz. *Prävention und Gesundheitsförderung* 9(3), 185-190. <https://doi.org/10.1007/s11553-014-0444-3>
- Cauci, S., Karkman, A., Cacace, D., Rybicki, M., Timpel, P., Voolaid, V., Gurke, R., Virta, M., & Berendonk, T. U. (2016). Seasonality of antibiotic prescriptions for outpatients and resistance genes in sewers and wastewater treatment plant outflow. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(5). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw060>
- Cruaud, P., Vigneron, A., Lucchetti-Miganeh, C., Ciron, P. E., Godfroy, A., & Cambon-Bonavita, M.-A. (2014). Influence of DNA Extraction Method, 16S rRNA Targeted Hypervariable Regions, and Sample Origin on Microbial Diversity Detected by 454 Pyrosequencing in Marine Chemosynthetic Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(15), 4626–4639. <https://doi.org/10.1128/AEM.00592-14>
- Czekalski, N., Imminger, S., Salhi, E., Veljkovic, M., Kleffel, K., Drissner, D., Hammes, F., Burgmann, H. and von Gunten, U. (2016) Inactivation of Antibiotic Resistant Bacteria and Resistance Genes by Ozone: From Laboratory Experiments to Full-Scale Wastewater Treatment. *Environmental Science & Technology* 50(21), 11862-11871. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02640>
- Daly, M., Villa, L., Pezzella, C., Fanning, S., & Carattoli, A. (2005). Comparison of multidrug resistance gene regions between two geographically unrelated *Salmonella* serotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55(4), 558–561. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKI015>
- Dodd, M.C. (2012) Potential impacts of disinfection processes on elimination and deactivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment. *Journal of Environmental Monitoring* 14(7), 1754-1771. <https://doi.org/10.1039/C2EM00006G>
- DWA, -F.K.-. (2018) Antibiotika und antibiotikaresistente Bakterien und Gene im Wasserkreislauf. KA Korrespondenz Abwasser, Abfall 65(6), 545-550. <https://doi.org/10.3242/kae2018.06.005>
- Fundneider, T. (2020). Filtration und AktivkohleadSORPTION zur weitergehenden Aufbereitung von kommunalem Abwasser – Phosphor- und Spurenstoffentfernung – (Dissertation). Darmstadt, Technische Universität Darmstadt. <https://doi.org/10.25534/tuprints-00012020>
- Gay, K., Robicsek, A., Strahilevitz, J., Park, C. H., Jacoby, G., Barrett, T. J., Medalla, F., Chiller, T. M., & Hooper, D. C. (2006). Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(3), 297–304. <https://doi.org/10.1086/505397>
- Guo, F., & Zhang, T. (2013). Biases during DNA extraction of activated sludge samples revealed by high throughput sequencing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(10), 4607–4616. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4244-4>
- Hembach, N., Schmid, F., Alexander, J., Hiller, C., Rogall, E.T. and Schwartz, T. (2017) Occurrence of the mcr-1 Colistin Resistance Gene and other Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Microbial Populations at Different Municipal Wastewater Treatment Plants in Germany. *Frontiers in Microbiology* 8(1282). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01282>
- Karaolia, P., Michael-Kordatou, I., Hapeshi, E., Alexander, J., Schwartz, T. and Fatta-Kassinos, D. (2017) Investigation of the potential of a Membrane BioReactor followed by solar Fenton oxidation to remove

- antibiotic-related microcontaminants. *Chemical Engineering Journal* 310, 491-502. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.113>
- Klümper, U., Gionchetta, G., Catão, E., Bellanger, X., Dielacher, I., Fang, P., Galazka, S., Goryluk-Salmonowicz, A., Kneis, D., Okafor, U., Elena, R., Szadziul, M., Szekeres, E., Teban, A., Coman, C., Kreuzinger, N., Popowska, M., Vierheilg, J., Walsh, F., & Berendonk, T. (2023). Microbiome diversity: A barrier to the environmental spread of antimicrobial resistance? <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2023.03.30.534382> (2023) doi:10.1101/2023.03.30.534382.
- Kompetenzzentrum BW, (2018): Untersuchungen mit Pulveraktivkohlen der Firma Carbon Activated zur Überprüfung deren Eignung für die Spurenstoffelimination aus kommunalem Abwasser (Stand: 10/2018), Untersuchungsbericht, Kompetenzzentrum Spurenstoffe Baden-Württemberg, Stuttgart (2018)
- Lamba, M. and Ahammad, S.Z. (2017) Performance comparison of secondary and tertiary treatment systems for treating antibiotic resistance. *Water Research* 127, 172-182. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.025>
- LaPara, T.M., Burch, T.R., McNamara, P.J., Tan, D.T., Yan, M. and Eichmiller, J.J. (2011) Tertiary-Treated Municipal Wastewater is a Significant Point Source of Antibiotic Resistance Genes into Duluth-Superior Harbor. *Environmental Science & Technology* 45(22), 9543-9549. <https://doi.org/10.1021/es202775r>
- Leonard, A.F.C., Zhang, L., Balfour, A.J., Garside, R. and Gaze, W.H. (2015) Human recreational exposure to antibiotic resistant bacteria in coastal bathing waters. *Environment International* 82, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.02.013>
- Liu, Z., Klümper, U., Liu, Y., Yang, Y., Wei, Q., Lin, J. G., Gu, J. D., & Li, M. (2019). Metagenomic and metatranscriptomic analyses reveal activity and hosts of antibiotic resistance genes in activated sludge. *Environment International*, 129, 208–220. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.036>
- Lou, E. G., Ali, P., Lu, K., Kalvapalle, P., & Stadler, L. B. (2023). Snapshot ARG Removal Rates across Wastewater Treatment Plants Are Not Representative Due to Diurnal Variations. *ACS ES and T Water*, 3(1), 166–175. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.2c00467>
- Marti, E., Beattie, R. E., Uluseker, C., Michelle Kaster, K., Thorsen, K., Basiry, D., Shobana, S., Jain, M., Kumar, G., Kommedal, R., & Pala-Ozkok, I. (2021). Citation: Pala-Ozkok I (2021) A Review on Occurrence and Spread of Antibiotic Resistance in Wastewaters and in Wastewater Treatment Plants: Mechanisms and Perspectives A Review on Occurrence and Spread of Antibiotic Resistance in Wastewaters and in Wastewater Treatment Plants: Mechanisms and Perspectives. *Front. Microbiol*, 12, 717809. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.717809>
- McKinney, C.W. and Pruden, A. (2012) Ultraviolet Disinfection of Antibiotic Resistant Bacteria and Their Antibiotic Resistance Genes in Water and Wastewater. *Environmental Science & Technology* 46(24), 13393-13400. <https://doi.org/10.1021/es303652q>
- Munir, M., Wong, K. and Xagorarakis, I. (2011) Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water Research* 45(2), 681-693. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.033>
- MULNV, (2017): „Optimierter Einsatz von Pulveraktivkohle und Ultrafiltration als 4. Reinigungsstufe“ UF/PAK 4.0 - Untersuchungen im Labor- und Pilotmaßstab, Abschlussbericht, AZ.: 17-04.02.01-9a/2016, Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Recklinghausen (2017)
- Novo, A., André, S., Viana, P., Nunes, O.C. and Manaia, C.M. (2013) Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater. *Water Research* 47(5), 1875-1887. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.010>
- Novo, A. and Manaia, C.M. (2010) Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87(3), 1157-1166. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2583-6>
- ÖkoTox (2020). "Qualitätskriterienvorschläge Ökotoxzentrum." Retrieved 26.05.2020, from <https://www.oekotoxzentrum.ch/expertenservice/qualitaetskriterien/qualitaetskriterienvorschlaege-oekotoxzentrum/>.
- Rajer, F., & Sandegren, L. (2022). The Role of Antibiotic Resistance Genes in the Fitness Cost of Multiresistance Plasmids. *MBio*, 13(1). <https://doi.org/10.1128/MBIO.03552-21>
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M.C., Michael, I. and Fatta-Kassinos, D. (2013) Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Science of The Total Environment* 447, 345-360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
- San Millan, A. (2018). Evolution of Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance in the Clinical Context. *Trends in Microbiology* 26, 978–985 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.007>

- Selway, C. A., Eisenhofer, R., & Weyrich, L. S. (2020). Microbiome applications for pathology: Challenges of low microbial biomass samples during diagnostic testing. *The Journal of Pathology: Clinical Research*, 6(2), 97–106. <https://doi.org/10.1002/cjp2.151>
- Sharma, V.K., Johnson, N., Cizmas, L., McDonald, T.J. and Kim, H. (2016) A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere* 150, 702-714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.084>
- UN 2016. High-level Meeting on Antimicrobial Resistance. Abgerufen am 29. März 2017 von <http://www.un.org/pga/71/event-latest/high-level-meeting-on-antimicrobial-resistance/>
- von Wintersdorff, C.J.H., Penders, J., van Niekerk, J.M., Mills, N.D., Majumder, S., van Alphen, L.B., Savelkoul, P.H.M. and Wolfs, P.F.G. (2016) Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology* 7(173). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- WHO 2015. Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization. ISBN 978 92 4 150976 3; [http://www.who.int/iris/bitstream/10665/193736/1/9789241509763\\_eng.pdf?ua=1](http://www.who.int/iris/bitstream/10665/193736/1/9789241509763_eng.pdf?ua=1)
- WHO 2017. WHO priority pathogens list for R&D of new antibiotics; abgerufen am 16. Juli 2018 <http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Wilcox, T. M., McKelvey, K. S., Young, M. K., Sepulveda, A. J., Shepard, B. B., Jane, S. F., Whiteley, A. R., Lowe, W. H., & Schwartz, M. K. (2016). Understanding environmental DNA detection probabilities: A case study using a stream-dwelling char *Salvelinus fontinalis*. *Biological Conservation*, 194, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.023>
- Yuan, Q.B., Guo, M.T. and Yang, J. (2015) Fate of Antibiotic Resistant Bacteria and Genes during Wastewater Chlorination: Implication for Antibiotic Resistance Control. *Plos One* 10(3), 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119403>
- Yuan, Q.-B., Huang, Y.-M., Wu, W.-B., Zuo, P., Hu, N., Zhou, Y.-Z., & Alvarez, P. J. J. (2019). Redistribution of intracellular and extracellular free & adsorbed antibiotic resistance genes through a wastewater treatment plant by an enhanced extracellular DNA extraction method with magnetic beads. *Environment International*, 131, 104986. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104986>
- Zhang, X. X., Zhang, T., & Fang, H. H. P. (2009). Antibiotic resistance genes in water environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(3), 397–414. <https://doi.org/10.1007/S00253-008-1829-Z>
- Zhang, Y., Li, A.L., Dai, T.J., Li, F.F., Xie, H., Chen, L.J. and Wen, D.H. (2018) Cell-free DNA: A Neglected Source for Antibiotic Resistance Genes Spreading from WWTPs. *Environmental Science & Technology* 52(1), 248-257. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04283>
- Zhuang, M., Achmon, Y., Cao, Y., Liang, X., Chen, L., Wang, H., Siame, B. A., & Leung, K. Y. (2021). Distribution of antibiotic resistance genes in the environment. *Environmental Pollution*, 285, 117402. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117402>

## 6. Anhang

### Anhang 1: Spurenstoffscreening-Liste

|   |                           |   |
|---|---------------------------|---|
| 4-Acetamidoantipyrin                      | Olmesartan                | Triclosan                                 |
| 4-Aminoantipyrin                          | Oxipurinol                | Benzotriazol                              |
| 4-Formylaminoantipyrin                    | Oxytetracyclin            | 4- und 5-Methylbenzotriazol               |
| 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin | Paracetamol               | Tri-iso-butylphosphat (TiBP)              |
| Amisulprid                                | Phenazon                  | Tris-(butoxyethyl)-phosphat (TBEP)        |
| Azithromycin                              | Primidon                  | Tris-(2-chlorethyl)-phosphat (TCEP)       |
| Bezafibrat                                | Roxithromycin             | Tris-(2-chlorpropyl)-phosphat (TCPP)      |
| Bisoprolol                                | Sitagliptin               | Tris(1,3-dichlor-2-propyl)phosphat (TDCP) |
| Candesartan                               | Sulfadiazin               | DTPA (Diethylentriaminpentaacetat)        |
| Carbamazepin                              | Sulfadimidin              | EDTA (Ethylendinitrilotetraacetat)        |
| Ceterizin                                 | Sulfamethoxazol           | NTA (Nitrilotriacetat)                    |
| Chloramphenicol                           | Sulfapyridin              | Melamin                                   |
| Chlortetracyclin                          | Tetracyclin               | Perfluorbutanoat                          |
| Clarithromycin                            | Trimethoprim              | Perfluorpentanoat                         |
| Clindamycin                               | Tylosin                   | Perfluorhexanoat                          |
| Clofibrinsäure                            | Valsartan                 | Perfluorheptanoat                         |
| Ciprofloxacin                             | Valsartansäure            | Perfluoroctanoat                          |
| Citalopram                                | Venlafaxin                | Perfluornonanoat                          |
| Dehydrato-Erythromycin A                  | Amidotriezoessäure        | Perfluordecanoat                          |
| Diclofenac                                | Iohexol                   | Perfluordodecanoat                        |
| Doxycyclin                                | Iomeprol                  | Perfluorbutansulfonat                     |
| Enrofloxacin                              | Iopamidol                 | Perfluorhexansulfonat                     |
| Erythromycin A                            | Iopromid                  | Perfluoroctansulfonat                     |
| Fluoxetin                                 | 17-alpha-Ethinylestradiol | Perfluordecansulfonat                     |
| Gapapentin                                | 17-beta-Estradiol         | 1H,1H,2H,2H-Perfluoroctansulfonat         |
| Guanylharnstoff                           | Estron                    | AHTN                                      |
| Hydrochlorothiazid                        | Carbendazim               | HHCB                                      |
| Ibuprofen                                 | DEET                      | Acesulfam                                 |
| Irbesartan                                | Icaridinsäure             | Cyclamat                                  |
| Lincomycin                                | Mecoprop                  | Sucralose                                 |
| Metformin                                 | Tebuconazol               | Decabromdiphenylether (BDE-209)           |
| Metoprolol                                | Terbutryn                 |   |
| Norfloxacin                               | Thiacloprid               |   |

Anhang 2: Liste der analysierten Parameter inklusive der entsprechenden Bestimmungsgrenzen für den Zulauf der Kläranlage (Zulauf KA) und den Ablauf der Kläranlage (Ablauf KA) sowie dem Ablauf der Pulveraktiv-/Ultrafiltrationsanlage (Ablauf PAK/UF)

| Parameter            | Bestimmungsgrenze   |                                       | Schweizer Liste | KomS Baden-Württemberg |
|----------------------|---------------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------|
|                      | Zulauf KA<br>[µg/L] | Ablauf KA,<br>Ablauf PAK/UF<br>[µg/L] |                 |                        |
| Benzotriazol         | 0,10                | 0,050                                 | X               | X                      |
| 4-Methylbenzotriazol | 0,10                | 0,025                                 | X               | X                      |
| 5-Methylbenzotriazol | 0,10                | 0,025                                 | X               | X                      |
| Amidotrizoensäure    | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Amisulprid           | 0,10                | 0,050                                 | X               |                        |
| Azithromycin         | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Candesartan          | 0,10                | 0,050                                 | X               |                        |
| Carbamazepin         | 0,10                | 0,025                                 | X               | X                      |
| Ciprofloxacin        | 0,20                | 0,050                                 |                 |                        |
| Citalopram           | 0,10                | 0,050                                 | X               |                        |
| Clarithromycin       | 0,10                | 0,050                                 | X               |                        |
| Diclofenac           | 0,10                | 0,025                                 | X               | X                      |
| Hydrochlorothiazid   | 0,10                | 0,050                                 | X               | X                      |
| Ibuprofen            | 0,10                | 0,025                                 |                 |                        |
| Iohexol              | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Iomeprol             | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Iopamidol            | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Iopromid             | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Irbesartan           | 0,10                | 0,050                                 |                 | X                      |
| Metformin            | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Metoprolol           | 0,10                | 0,025                                 | X               | X                      |
| Oxipurinol           | 0,25                | 0,13                                  |                 |                        |
| Sulfamethoxazol      | 0,10                | 0,025                                 |                 |                        |
| Sulfapyridin         | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Trimethoprim         | 0,050               | 0,025                                 |                 |                        |
| Valsartan            | 0,10                | 0,050                                 |                 |                        |
| Venlafaxin           | 0,10                | 0,050                                 | X               |                        |