

Martin Schwarz

**Mikrobielle Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenkörpern:
Nucleinsäuren zum Nachweis von Biomasse und Bioaktivität**

Dissertation, genehmigt von der Fakultät für
Bauingenieur-, Geo- und Umweltwissenschaften
der Universität Fridericiana zu Karlsruhe (TH) 2003

Hauptreferent: Prof. Dr.-Ing. E.h. H.H. Hahn, Ph.D., Karlsruhe
Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. habil. U. Obst, Karlsruhe

Schwarz, Martin

Mikrobielle Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenkörpern:

Nucleinsäuren zum Nachweis von Biomasse und Bioaktivität

Karlsruhe: Universität Karlsruhe – Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft, 2004

(Schriftenreihe des ISWW Karlsruhe – Band 116)

Zugl.: Karlsruhe, Univ., Diss., 2003

ISBN 3-9807882-9-6

ISBN 3-9807882-9-6

Alle Rechte vorbehalten

Satz: Institut für Siedlungswasserwirtschaft

Universität Karlsruhe (TH)

Druck: Ernst Grässer, Humboldtstr. 1, D-76131 Karlsruhe

Printed in Germany

Diese Arbeit wurde mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen des Graduiertenkollegs 366 „Grenzflächenphänomene in aquatischen Systemen und wässrigen Phasen“ gefördert.

Vorwort

Die Problematik der Kolmation hat viele Forschergenerationen bewegt. Die Literatur, die in dieser Arbeit zitiert wird, ist umfangreich und geht auch zeitlich weit zurück. Dies belegt die intensive Befassung der Fachwelt mit diesem Thema.

Es handelt sich hier um eine experimentelle Arbeit, die aus der Mikrobiologie und der Molekularbiologie (der Autor ist Biologe) gespeist wird und damit Grundlegendes für siedlungswasserwirtschaftliche Fragen beisteuern will und kann. Die experimentelle Arbeit ruht auf drei Säulen: Erstens, die Entwicklung einer robusten und reproduzierbaren Methode zur Biomassenbestimmung (durch DNA Bestimmung) und einer ebenso effizienten Verfahrensweise zur quantitativen Bestimmung der RNA (zur Beschreibung der Biomassenaktivität). Herr Schwarz modifiziert die in der Literatur beschriebene Verfahrensweise zur RNA und DNA Messung (mittels HPLC Aufschluss) insbesondere zum Einsatz in sog. Umweltproben, also dergestalt, dass vor allem der unbeabsichtigte RNA Abbau während der Analyse unterbunden wird. – Zweitens beinhaltet sie die Anwendung und „Demonstration“ der analytischen Verfahrensweise in kontrollierten Laborbodenkörpern (filterartige Reaktoren, die intermittierend beschickt werden und zur Analyse im Inneren zugänglich sind) – und drittens findet sich dort die orientierende Untersuchung eines (kolmatierten und später dekolmatierenden) Retentionsbodenfilters im Hinblick auf die Biomassengehalte und deren Aktivitäten in bestimmten Orten und zu bestimmten Zeiten.

Die vom Autoren geschickt konzipierten Bodenkörper (Filtersäulen) werden in zwei Versuchsreihen mit jeweils drei verschiedenen Abwassertypen intermittierend beschickt. Es werden zwei Versuchsreihen durchgeführt, da aus der ersten Reihe für nachfolgende Experimente „zu lernen“ war. Und es sind drei Abwassertypen untersucht worden um einmal mit einem sog. OECD Abwasser, das vielfach verwendet wird, zu arbeiten, einmal mit künstlich hergestelltem sog. Mischwasser (MW) und schließlich mit einem realen MW. Es ist also eine Vielzahl von Versuchsreihen durchgeführt worden, die alle sorgfältigst dokumentiert sind und für die alle Zu- und Ablaufkonzentrationswerte, sowie die Filterbelegung mit Biomasse (und deren Aktivität) genau gemessen sind.

Die Ergebnisse lassen sich aus einem mehr praktischen Blickwinkel wie folgt knapp zusammenfassen: Die entwickelte Methode ist reproduzierbar und auch für Siedlungswasserwirt-

schaftsingenieure anwendbar. - Was Herr Schwarz mikrobielle Kolmation nennt ist biochemisch (Stoffumsatz) und biologisch (Biomassenzuwachs) bedingt und klar von physikalischer und chemischer Kolmation zu trennen. Bei höheren Zulaufkonzentrationen gelöster und auch ungelöster Stoffe wird die Kolmation schneller einsetzen. Sie ist über einen virtuellen kf-Wert und dessen Veränderung gemessen - virtuell deshalb, da man es hier nicht mit gesättigtem GW Fluss zu tun hat. Bei längeren Trockenperioden wird die Biomasse mineralisiert und damit Dekolmation eintreten (Dies ist allerdings nicht quantitativ bewiesen, sondern durch indirekte Messungen illustriert worden). Die Analyse eines Retentionsbodenfilters in Langenalb zeigt zur Zeit der Kolmation tatsächlich höhere Biomassegehalte als in den nicht kolmatierten Bodensäulen und zur Zeit der Dekolmation (nach längeren Trockenzeiten – in Übereinstimmung mit Laborbeobachtungen) Verfrachtung von Biomasse in tiefere Bodenschichten. Die Ergebnisse sind von großer Bedeutung für das Verständnis der wie eingangs dargestellt wichtigen Aufgabenkomplexe in der Siedlungswasserwirtschaft. Die Darstellung ist als sehr gelungen zu bezeichnen, da es dem Biologen Schwarz gelingt, die neue Arbeitsmethode und die damit erzielbaren Ergebnisse für den Ingenieur nicht nur verständlich, sondern auch in weiten Teilen fesselnd darzustellen.

Karlsruhe, im Januar 2004

H. H. Hahn

Abstract

Soil clogging is caused by physical, chemical or biological processes. All these processes are decreasing the hydraulic conductivity by plugging the pores in the soil. The effect of clogging is an ambivalent phenomenon: In the environs of leaky sewers the clogging is advantageous for the protection of groundwater. The subsequent decrease in hydraulic conductivity is disadvantageous in soil filters constructed for wastewater purification. In this study, the importance of microorganisms on the clogging process was investigated in laboratory-scale columns and in a soil filter in the field (Langenalb, Baden-Württemberg).

Twelve sand columns in two sets were fed intermittently with different wastewaters in the laboratory under controlled conditions during a period of three months. The microorganisms as a clogging agent were quantified by nucleic acid extraction. A high-pressure liquid chromatography (HPLC) method based on anion-exchange chromatography was adapted for direct and simultaneous extraction of the deoxyribonucleic acid (DNA) and the ribosomal and transfer ribonucleic acid (rRNA, tRNA). The DNA served as a parameter for the microbial biomass and the RNA served as a parameter for the microbial activity. This nucleic acid extraction method was successfully applied to all sand filters.

The depth distributions of the microbial biomass (DNA) and the activity (RNA) were very similar in all investigated sand filters. The RNA/DNA ratio as a parameter for the growth rate of the microorganisms in all samples was $0,60 \pm 0,10$. This RNA/DNA-ratio indicates a very similar metabolic status of the microorganisms over the whole column depth. The biomass and activity distributions in the sand columns obtained by the HPLC method were similar to those obtained from microbiological standard methods (colony forming units, CFU; dehydrogenase activity, ETS). For the nucleic acid determination very few sample amounts were necessary which allows very detailed depth distributions of the nucleic acid concentrations.

In all sand columns the removal efficiencies of the chemical oxygen demand reached 76-90 % after the microorganisms adapted to the wastewater. A strong correlation of the accumulated load of the biochemical oxygen demand and the microbial biomass in the sand filters was found. Microbial biomass strongly affected the hydraulic conductivity, indicated by a correlation coefficient of 0,85. At DNA concentrations exceeding 100 µg/g dry weight the risk of total clogging of the sand filter by microorganisms is very high. The microbial

clogging process heavily reduced the hydraulic conductivity, whereas the hydraulic conductivity influenced by swelling of soil particles was very low.

The concentration and the composition (organic/inorganic) of the wastewater, especially the content of particulate organic matter, strongly influenced the amount and vertical distribution of the microbial biomass (DNA) and activity (RNA). Sand columns fed with wastewater containing particulate organic matter showed a steep exponential biomass decrease within the first surface layer (0-2 cm), described as „external microbial clogging“. In contrast the completely dissolved synthetic wastewater revealed a low exponential biomass decrease down to 60 cm filter depth, described as „internal microbial clogging“.

Only small differences in the depth distributions of the microbial biomass (DNA) and the microbial activity (RNA) were observed. When the filters were not fed for a longer period and dried up, the nucleic acid concentrations diminished extremely. When the filters were re-fed after the recovery period a transport of microbial biomass into deeper filter layers was observed under laboratory and field conditions. This resulted in a depth maximum of the DNA concentration. The different biomass distributions in the filters resulted in a clogging model that explains the plugging and the unplugging of the sand filters caused by microbial biomass.

The analysis from light and scanning electron microscopy (SEM) showed that coccoidal bacteria colonized the sand heterogeneously and very poorly. The biofilm thickness on a sand grain determined by SEM was 30-60 μm . During the microbiological clogging process the detachment of microorganisms, determined as CFU in the effluent, decreased by 78-97 % in comparison to the beginning of the experiments.

The clogging of sand filters by microorganisms is a reversible process. Environmental conditions that influence the microorganisms negatively (e.g. non-feeding, high toxic nitrite concentrations during the nitrification process) revealed significantly higher hydraulic conductivity rates.

It could be shown that the microbial biomass is able to clog sand filters effectively and reversibly, indicating a strong impact of microorganisms on the clogging of soil filters. The described HPLC method is a powerful tool for determining the microbial clogging in technical systems such as soil filters and in the environ of leaky sewers.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Kenntnisstand	3
2.1	Definition von Kolmation	3
2.2	Biologische Kolmation	8
2.2.1	Praxisrelevanz	8
2.2.2	Beteiligte Organismen	10
2.2.3	Zeitlicher Verlauf	12
2.3	Nachweis von Biomasse und Bioaktivität	14
2.3.1	Methodenübersicht und Definitionen	14
2.3.2	Molekularbiologische Grundlagen	16
2.3.3	Nucleinsäurebestimmung	18
3	Ziele der vorliegenden Arbeit	22
4	Material und Methoden	24
4.1	Die Untersuchungen im Überblick	24
4.2	Nucleinsäurebestimmung	25
4.2.1	Ribonuclease-freies Arbeiten	25
4.2.2	Probenahme und Probenaufarbeitung	26
4.2.3	HPLC-Messung	29
4.2.4	Kalibrierung und Wiederfindungsraten	31
4.3	Säulenversuche	33
4.3.1	Filtermaterial und Abwässer	33
4.3.2	Durchführung von Säulenversuch 1 und 2	38
4.3.3	Hydraulische Leitfähigkeit und Standardanalytik	40
4.3.4	Koloniebildende Einheiten (KBE) und Partikelmessung	41
4.3.5	Dehydrogenaseaktivität	43
4.3.6	Mikroskopische Untersuchungen	45
4.4	Anwendungsbeispiel: Retentionsbodenfilter Langenalb	46
5	Ergebnisse	48
5.1	Nucleinsäurebestimmung	48
5.1.1	HPLC-Chromatogramme	48

5.1.2	Kalibrierung und Wiederfindungsraten.....	50
5.2	Säulenversuch 1.....	51
5.2.1	Nitrifikation.....	52
5.2.2	CSB-Reinigungsleistung.....	53
5.2.3	Hydraulische Leitfähigkeit.....	56
5.2.4	KBE und mikrobielle Sukzession in den Eluaten.....	57
5.2.5	KBE und Dehydrogenaseaktivität in den Filtern.....	60
5.2.6	Vertikale Nucleinsäureverteilung.....	62
5.3	Säulenversuch 2.....	65
5.3.1	Nitrifikation.....	65
5.3.2	CSB-Reinigungsleistung.....	67
5.3.3	Hydraulische Leitfähigkeit.....	69
5.3.4	Partikelmessung.....	70
5.3.5	Vertikale Nucleinsäureverteilung.....	72
5.4	Anwendungsbeispiel: Retentionsbodenfilter Langenalb.....	75
5.4.1	Vertikale Nucleinsäureverteilung.....	75
5.4.2	Horizontale Nucleinsäureverteilung.....	78
6	Auswertung der Ergebnisse.....	81
6.1	Einfluss der DNA-Konzentration auf die hydraulische Leitfähigkeit.....	81
6.2	Einfluss des Abwassers auf die DNA-Verteilung.....	82
6.3	BSB₅-Reinigungsleistung und akkumulierte Biomasse.....	83
6.4	Mikroskopische Untersuchungen.....	85
6.5	Parametervergleich durch Regressionsanalyse.....	89
6.6	RNA/DNA-Verhältnis.....	89
6.7	Sauerstoffbilanzierung.....	90
6.7.1	Physikalischer Sauerstoffeintrag.....	90
6.7.2	Sauerstoffbedarf für den spezifischen Stoffumsatz.....	91
6.7.3	Mikrobielle Sauerstoffkonsumtion.....	92
7	Diskussion.....	94
7.1	Nucleinsäurebestimmung.....	94
7.1.1	HPLC-Chromatogramme.....	94
7.1.2	Kalibrierung und Wiederfindungsraten.....	95
7.1.3	Anwendungsbereich der HPLC-Methode.....	97

7.2	Reinigungsleistung und mikrobielle Prozesse	98
7.2.1	Nitrifikation	98
7.2.2	CSB-Reinigungsleistung	100
7.2.3	Sauerstoffbilanzierung.....	101
7.2.4	Austrag von KBE und mikrobielle Sukzession.....	102
7.3	Biomasse und Bioaktivität	104
7.3.1	Biomasseverteilung in den Filtern.....	104
7.3.2	Bioaktivitätsverteilung in den Filtern.....	107
7.3.3	Besiedlung des Filtermaterials	108
7.4	Mikrobielle Kolmation und Dekolmation	110
7.4.1	Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit	111
7.4.2	Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit.....	114
7.5	Modell zur mikrobiellen Kolmation	116
7.6	Praktische Bedeutung der Ergebnisse	120
7.6.1	Labor- und Freilandversuche.....	120
7.6.2	Empfehlungen für den Betrieb von Bodenfiltern	121
8	Ausblick	124
9	Schlussfolgerungen	126
10	Zusammenfassung	128
11	Literaturverzeichnis	130
Anhang	141

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Verlauf der hydraulischen Leitfähigkeit im zeitlichen Kolmationsverlauf in der oberen Bodenschicht von 0-4 cm.....	12
Abb. 2: Methoden für den Nachweis von Biomasse und Bioaktivität.....	15
Abb. 3: Schema der Proteinbiosynthese und Funktion von mRNA, rRNA, tRNA und DNA	17
Abb. 4: Die methodische Vorgehensweise bei den Untersuchungen im Überblick.	24
Abb. 5: Flussdiagramm für die Probenaufarbeitung bei der Nucleinsäurebestimmung.	27
Abb. 6: Schematischer Aufbau der HPLC-Apparatur zur Nucleinsäurebestimmung.	29
Abb. 7: Sandsäulen in der Klimakammer	34
Abb. 8: Kornzusammensetzung des verwendeten Filtermaterials.	35
Abb. 9: Typisches HPLC-Chromatogramm einer Probe aus einer Sandsäule bei einer Wellenlänge von 260 nm	49
Abb. 10: Mit Nucleinsäurestandards von <i>E. coli</i> untersuchte Linearitätsbereiche für tRNA, rRNA und DNA.	50
Abb. 11: Nitrifikation in den Filtern: Konzentrationsverlauf von $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ und pH-Wert	52
Abb. 12: Prozentuale CSB-Reinigungsleistung der verschiedenen Abwässer im zeitlichen Verlauf.	54
Abb. 13: Unterschiedlicher Rückgang der relativen hydraulischen Leitfähigkeit bei verschiedenen Abwässern im zeitlichen Verlauf.	57
Abb. 14: Koloniebildende Einheiten (KBE) in den Eluaten der verschiedenen Filter im zeitlichen Verlauf.	58
Abb. 15: Präferenz der ausgespülten Mikroorganismen (KBE) für drei unterschiedliche Abwasser-Nährböden im zeitlichen Verlauf.....	60
Abb. 16: Verteilung von KBE („Heterotrophe aktive Biomasse“) und Dehydrogenaseaktivität (Bioaktivität) in den verschiedenen Filtern.....	61
Abb. 17: Verteilung von DNA (Biomasse) und RNA (Bioaktivität) in den verschiedenen Filtern.	63
Abb. 18: Nitrifikation in den Filtern: Konzentrationsverlauf von $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ und pH-Wert	66
Abb. 19: Prozentuale CSB-Reinigungsleistung bei den mit OECD- und RMW-Abwasser beaufschlagten Filtern	67
Abb. 20: Verlauf der relativen hydraulischen Leitfähigkeit bei den OECD- und RMW-Filtern im zeitlichen Verlauf.....	69

Abb. 21: Partikelkonzentrationen in den Eluaten der OECD- und RMW-Filter im zeitlichen Verlauf	71
Abb. 22: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den OECD-Filtern (Mittelwerte aus zwei Filtern zusammengefasst). Links: Jeweils 36 Beaufschlagungen ohne Trockenfallen der Filter. Rechts: 27 bzw. 28 Beaufschlagungen und anschließendes Trockenfallen der Filter.	72
Abb. 23: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den RMW-Filtern (Mittelwerte aus zwei Filtern zusammengefasst). Links: Jeweils 36 Beaufschlagungen ohne Trockenfallen der Filter. Rechts: 27 bzw. 28 Beaufschlagungen und anschließendes Trockenfallen der Filter.	74
Abb. 24: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität im Retentionsbodenfilter Langenalb während einer Totalkolmation (links) und nach drei Monaten (rechts).....	76
Abb. 25: Horizontale Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung in unterschiedlichen Filter-tiefen des RBFs	78
Abb. 26: Exponentielle Abnahme der relativen hydraulischen Leitfähigkeit ($k_{(t)unges.}/k_{(0)unges.}$) bei zunehmender Biomasse.....	81
Abb. 27: Einfluss von partikelhaltigem und partikelfreiem Abwasser auf die vertikale Biomasseverteilung (DNA) in den Filtern	82
Abb. 28: Korrelation zwischen der akkumulierten BSB ₅ -Fracht und der mittleren DNA-Konzentration als Parameter für die akkumulierte Biomasse in allen Filtern von Säulenversuch 1 und 2	84
Abb. 29: REM-Aufnahme eines unbewachsenen Sandkorns (links oben) und eines mit einem gleichmäßigen Biofilm überwachsenen Sandkorns (Bildmitte).....	87
Abb. 30: REM-Aufnahme einer bakteriellen Haufenstruktur auf dem Filtermaterial.....	87
Abb. 31: REM-Aufnahme einer kolmatierten Bodenpore.	88
Abb. 32: Einfluss der Biomasse auf die hydraulische Leitfähigkeit bei verschiedenen Untersuchungen.	112
Abb. 33: Graphisches Modell, das den Verlauf der äußeren mikrobiellen (Total-) Kolmation und Dekolmation darstellt.....	117
Abb. 34: Graphisches Modell, das den Verlauf der inneren mikrobiellen (Total-) Kolmation und Dekolmation darstellt.....	118

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Einflussgrößen auf die Kolmation	4
Tab. 2: Beispiele von biologischer Kolmation mit Praxisrelevanz.....	9
Tab. 3: Beteiligte Organismen und Ursachen von biologischer Kolmation.....	11
Tab. 4: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse von Proben unterschiedlicher Herkunft.....	19
Tab. 5: HPLC-Gradienten für die Probenanalyse.	31
Tab. 6: Zusammensetzung der Spurenelementelösung	36
Tab. 7: Zusammensetzung des künstlichen Mischwassers	37
Tab. 8: Zusammensetzung des OECD-Abwassers.....	37
Tab. 9: Merkmale der verwendeten Abwässer.....	38
Tab. 10: Verwendete Abwasserart und Beaufschlagungsmodus bei den Sandsäulen im Überblick.....	39
Tab. 11: Technische Daten und stoffliche Kenngrößen des RBFs Langenalb.....	46
Tab. 12: Wiederfindung von zudotierten Nucleinsäuren aus geblühtem und ungeblühtem Filtersand unterschiedlicher Filtertiefen.	51
Tab. 13: CSB-Konzentrationen der Eluate mit langer (3 Tage) und kurzer (< 45 Minuten) Verweildauer in den Filtern nach 24 Versuchstagen (9. Beaufschlagung).....	55
Tab. 14: Korrelationen der Biomasse- und Bioaktivitätsparameter.....	89
Tab. 15: Theoretischer Zeitbedarf der Mikroorganismen zur Oxidation der BSB ₅ -Fracht am Ende des Säulenversuchs 1.	92

Abkürzungsverzeichnis

AFS	Abfiltrierbare Stoffe
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
BSB ₅	Biochemischer Sauerstoffbedarf in fünf Tagen
CSB _{ges}	Chemischer Sauerstoffbedarf einer homogenisierten Probe
CSB _{gel}	Chemischer Sauerstoffbedarf des gelösten Anteils einer Probe
CSB _{part}	Chemischer Sauerstoffbedarf des partikulären Anteils einer Probe
DEAE	Diethylaminoethanol
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DEPC-H ₂ O	Mit DEPC behandeltes Milli-Q-Wasser (molekularbiologisch reines Wasser)
DEV	Deutsches Einheitsverfahren
DIN	Deutsche Industrie-Norm(en)
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DNase	Desoxyribonuclease
E _{260, 280}	Extinktion bei einer Wellenlänge von 260 nm bzw. 280 nm
EDTA	Etyhlendiamintetraacetat
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
ETS	Elektronentransportsystem
FG	Feuchtgewicht
H ₂ O _{demin.}	Demineralisiertes Wasser
HPLC	Hochauflösende Flüssigkeitschromatographie
INF	Iodnitrotetrazoliumviolett-Formazan
INT	Iodnitrotetrazoliumchlorid
KBE	Koloniebildende Einheit(en)
KMW(+/-)-Filter	Mit künstlichem Mischwasser beaufschlagter Filter (mit/ohne Inokulation)
Milli-Q-Wasser	Demineralisiertes Wasser wird nochmals demineralisiert und über Aktivkohle gereinigt
mRNA	messenger RNA, Boten-RNA
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinucleotid
NADH	Reduzierte Form des Nicotinamidadenindinucleotids
NADP ⁺	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NADPH	Reduzierte Form des Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
n. b.	nicht bestimmt
n. n.	nicht nachweisbar
OECD-Filter	Mit künstlichem OECD-Standardabwasser beaufschlagter Filter
RBF	Retentionsbodenfilter
REM	Rasterelektronenmikroskopie

RMW-Filter	Mit realem Mischwasser beaufschlagter Filter
RNA	Ribonucleinsäure
RNase	Ribonuclease
rRNA	ribosomale RNA
SDS	Natriumdodecylsulfat
TG	Trockengewicht
TKN	Kjeldahl-Stickstoff (Total Kjeldahl Nitrogen)
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
tRNA	transfer-RNA, Transport-RNA

1 Einleitung

Bei der dezentralen Behandlung von häuslichem Schmutzwasser und bei der Regenwasserbehandlung spielen Bodenfilter eine wichtige Rolle (ATV 1998a,b; ATV 1999; ATV-DVWK 2002; LFU 2002). In diesen Filteranlagen werden die jeweiligen Wässer durch die Abtrennung von partikulären Stoffen und durch den biologischen Abbau von gelösten Stoffen mechanisch-biologisch gereinigt. Besonders die Verwendung von Pflanzenkläranlagen und Retentionsbodenfiltern, zur Behandlung von Mischwasser, finden eine immer breitere Anwendung. Diese Bodenfilter bieten zahlreiche Vorteile wie beispielsweise den Abbau von sauerstoffzehrenden Abwasserinhaltsstoffen und die Verringerung des hydraulischen Stresses durch Mischwassereinleitungen auf die Gewässer. Beim Betrieb dieser in der Regel sehr sicheren Anlagen treten jedoch auch Probleme auf, welche die Leistungsfähigkeit solcher Bodenfilter herabsetzen. Dabei ist ein Phänomen besonders unerwünscht: Die Kolmation. Dabei handelt es sich um eine Porenraumverstopfung, die einen Wasser- und Stofftransport einschränkt oder unmöglich macht (BAVEYE et al. 1998). Kolmationen können in vielen siedlungswasserwirtschaftlich relevanten Bereichen auftreten. Als Beispiele sind die Brunnenkolmation bei der Trinkwasserentnahme (KUNTZE 1982), die Kolmation von Langsamsandfiltern zur Trinkwasseraufbereitung (GROMBACH et al. 2000), die Kolmation im Umfeld von undichten Kanälen (DOHMANN 1999) und die Kolmation von Fließgewässer- sohlen (SCHÄLCHLI 1993) zu nennen.

Obwohl Bodenfiltersysteme seit über 100 Jahren eingesetzt werden, ist die Kolmation bis heute nur wenig untersucht worden (LFU 2002). Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Kolmation meist sporadisch auftritt. Die Ursachen, welche die Kolmation auslösen, sind bislang nur ansatzweise aufgeklärt (PLATZER & MAUCH 1997). Bei der Kolmation in Bodenfiltern wird fast immer von einer physikalischen Kolmation ausgegangen, bei der organische und/oder anorganische Feststoffe vom Filter zurückgehalten werden. Dies zeigt sich bei den wenigen Untersuchungen, bei denen die Kolmation nicht wie meist am Rande, sondern im Mittelpunkt der Untersuchungen stand. Mikrobielle Ursachen wurden nur vermutet (WINTER & GOETZ 2001).

Bei der Dimensionierung von Bodenfiltern werden lediglich die hydraulische Belastung und die Feststofffracht berücksichtigt (LFU 2002). Dabei kann die Kolmation nicht nur physikalische, sondern auch chemische oder biologische Ursachen haben (BAVEYE et al. 1998). Untersuchungen des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft am Retentionsbodenfilter Langenalb (FUCHS & SCHNABEL 2002) haben gezeigt, dass die Feststofffracht nicht alleine für

die Kolmation verantwortlich gemacht werden kann, sondern dass auch Mikroorganismen als Ursache berücksichtigt werden müssen.

Das Ziel der hier vorgestellten Forschungstätigkeit ist es, ein Werkzeug zu entwickeln, mit dem die Mikroorganismen in heterogen strukturierten Bodenkörpern zuverlässig quantifiziert werden können. Damit soll die Frage beantwortet werden, ob die Mikroorganismen für eine Kolmation in abwasserdurchsickerten Bodenkörpern verantwortlich sind.

2 Kenntnisstand

2.1 Definition von Kolmation

Die Kolmation wird auch Kolmatation (ALBIKER 1972) oder Selbst(ab-)dichtung (BANSCHER 1975) genannt. In der englischsprachigen Literatur sind die Begriffe clogging, soil-clogging, plugging oder sluicing (ALBIKER 1972) gebräuchlich. Bei der Kolmation handelt es sich aus bodenmechanischer Sicht, ebenso wie bei der Erosion und der Suffosion, um eine hydrodynamische Bodendeformation (BUSCH & LUCKNER 1974; WITTMANN 1980). Nach BANSCHER (1975) und SCHÄLCHLI (1993) kennzeichnen die folgenden grundlegenden Merkmale den Kolmationsprozess:

- Vorhandensein eines porösen Mediums (Matrix).
- Vorhandensein eines Dichtungsstoffes (beladenes Fluid).
- Vorhandensein einer Kraft, die mit dem Dichtungsstoff eine Veränderung der Durchlässigkeit des porösen Mediums hervorruft (hydraulische Prozesse).

Die Kolmation bezeichnet den Vorgang einer Porenraumverringerung im Boden, hervorgerufen durch kleinste Partikel, die sich im Porenraum des Bodenkörpers anlagern (BUSCH & LUCKNER 1974). Aufgrund der vielen Einflussgrößen bei den Parametern Matrix, Fluid und hydraulische Prozesse handelt es sich bei der Kolmation um Vorgänge mit hoher Komplexität. Die zahlreichen Einflussgrößen (siehe Tab. 1) ermöglichen in der Praxis auf der einen Seite eine Optimierung des Gesamtprozesses, beispielsweise durch die Wahl der Korngrößenverteilung, erschweren auf der anderen Seite aber einen Vergleich der Verfahren.

Bei der Kolmation lässt sich generell zwischen dem **Ort der Kolmation**: äußere oder innere Kolmation und zwischen den **der Kolmation zugrundeliegenden Mechanismen** unterscheiden: physikalische bzw. mechanische Kolmation, chemische Kolmation und biologische Kolmation (BAVEYE et al. 1998). Oftmals ist nicht nur ein Mechanismus an der Kolmation beteiligt, sondern mehrere, was die Komplexität des Kolmationsprozesses zusätzlich erhöht (RINCK-PFEIFFER et al. 2000).

Bei jeder Kolmation kommt es zu einer Verringerung der Porosität des Porenraumes und der hydraulischen Leitfähigkeit und zu einer Erhöhung der Lagerungsdichte (BUSCH & LUCKNER 1974). Somit ist strenggenommen jede Kolmation ein physikalisches Phänomen, auch wenn die Kolmation beispielsweise chemisch oder biologisch verursacht wurde.

Tab. 1: Einflussgrößen auf die Kolmation (verändert, nach SCHÄLCHLI 1993).

Parameter	Einflussgrößen
Matrix (Filter, Bodenkörper)	<ul style="list-style-type: none"> - Korngrößenverteilung - Porosität - Durchlässigkeit - Kornoberfläche - Morphologie - Biologie: Mikroorganismen - Temperatur, Lichtverhältnisse
Beladenes Fluid (Flüssigkeit, Abwasser)	<ul style="list-style-type: none"> - Partikelgrößenverteilung - Konzentration der Wasserinhaltsstoffe - Kohäsions- und Adhäsionsfähigkeit - Oberflächenchemische Kräfte - Biologie: Mikroorganismen - Temperatur
Hydraulische Prozesse (Beaufschlagung, Perkolation)	<ul style="list-style-type: none"> - Wassersättigung - Beaufschlagungsmodus - Filtergeschwindigkeit - Druckverhältnisse (eingeschlossene Gase)

Der zeitliche Verlauf der Kolmation wird über die Veränderung der hydraulischen Leitfähigkeit bestimmt. Dies hängt damit zusammen, dass für den Kolmationsprozess ein Wasser- und Stofftransport unerlässlich ist. Die durch einen Filterquerschnitt je Zeiteinheit laminar durchströmende Wassermenge lässt sich mit dem **Gesetz von Darcy** beschreiben:

$$Q = q \cdot A = -k \frac{dH}{dz} \quad (\text{Glg. 1})$$

Q Durchfluss (je Zeiteinheit perkolierte Flüssigkeitsmenge)

q Flussdichte, Filtergeschwindigkeit

A Fließquerschnitt

k Hydraulische Leitfähigkeit

$\frac{dH}{dz}$ Gradient des totalen Wasserpotenzials H in senkrechter Fließrichtung z

Dabei wird die hydraulische Leitfähigkeit wesentlich von der Anzahl, Größe und Form der Poren bestimmt, durch die das Wasser fließt (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL 1998). Die **Hagen-Poiseuillesche Gleichung** beschreibt diesen Zusammenhang (OKUBO & MATSUMOTO 1979; GISI et al. 1997):

$$q = \frac{Q}{A} = -\frac{r^2 \rho g}{8\eta} \frac{dH}{dz} = -\frac{fr^2}{8} \frac{dH}{dz} \quad (\text{Glg. 2})$$

r	Porenkanalradius
ρ	Dichte der Flüssigkeit
g	Gravitationsbeschleunigung
η	Viskosität der Flüssigkeit
f	Fluidität ($f = \rho g / \eta$)

Daraus ergibt sich für die hydraulische Leitfähigkeit k:

$$k = \frac{fr^2}{8} \quad (\text{Glg. 3})$$

Die Glg. 3 zeigt, dass die hydraulische Leitfähigkeit von der Durchlässigkeit (Permeabilität) des Bodens und der Fluidität der Bodenlösung abhängig ist. Wegen der Abhängigkeit der hydraulischen Leitfähigkeit vom Quadrat des Porenkanalradius wirkt sich dieser besonders stark auf die hydraulische Leitfähigkeit aus. Dabei ist zu beachten, dass der Porenkanalradius keine feste, sondern eine äußerst variable Größe ist. Dies gilt insbesondere für die biologische Kolmation.

Die **Dekolmation** stellt die Umkehrung der Kolmation dar. Unter Dekolmation werden „alle Prozesse verstanden, die zu einer Zunahme der Sohlerdurchlässigkeit und einer Auflockerung des Korngefüges führen“ (SCHÄLCHLI 1993). Überwiegen dabei mechanische Prozesse, so wird dies als Suffosion bezeichnet (BUSCH & LUCKNER 1974). Für die Dekolmation spielt die Art der Kolmation eine wesentliche Rolle. Die verschiedenen Kolmationsarten werden im Folgenden beschrieben.

Äußere Kolmation

Bei der äußeren Kolmation werden die Partikel beim Eindringen des Wassers in die oberen Schichten des Bodenkörpers zurückgehalten (BUSCH & LUCKNER 1974). Dies geschieht beispielsweise bei der Oberflächen- und Kuchenfiltration. Dabei kann es auch zur Ausbildung einer den Filterkörper bedeckenden, mehr oder weniger wasserundurchlässigen Schmutzdecke kommen (DE VRIES 1972; SCHÄLCHLI 1993; PLATZER & MAUCH 1997). Ob es zu einer äußeren Kolmation kommt hängt vom geometrischen Kolmationskriterium ab (BUSCH & LUCKNER 1974). Es drückt aus, ob die Partikel die Porenkanäle passieren können oder sich bereits nahe der Porenkanalöffnung verkeilen und festsetzen. Dabei ist es sowohl für die äußere wie auch für die innere Kolmation typisch, dass sich zunächst größere Partikel in den

relativen Querschnittsminima der Porenkanäle verklemmen und diese Querschnitte weiter verringern, so dass kleinere und immer kleinere Partikel verkeilen und sich festsetzen (BUSCH & LUCKNER 1974). Die Eindringtiefe von Partikeln beträgt normalerweise zwischen wenigen Millimetern bis zu einigen Zentimetern und kann nach der Beziehung von NAGY berechnet werden (ALBIKER 1972; BAVEYE et al. 1998).

Innere Kolmation

Bei der inneren Kolmation können kleinste Partikel tief in die Porenkanäle des Porennetzwerkes eindringen. Es greift dann das hydraulische Kolmationskriterium, welches angibt, ab wann ein Partikel im Porenkanal aufgrund einer zu geringen Transportkraft nicht mehr weiter transportiert wird und im Inneren des Porennetzwerkes zur Kolmation führt (BUSCH & LUCKNER 1974). Es handelt sich dabei im Gegensatz zur oberflächlichen äußeren Kolmation um eine Tiefen- oder Raumfiltration.

Neben der äußeren und inneren Kolmation gibt es noch die Kontaktkolmation, die zwischen zwei Schichten mit unterschiedlichem Korngefüge auftritt. Dabei werden die Partikel vom grobkörnigen zum feinkörnigen Korngefüge transportiert, wo sie dann eine Kontaktkolmation hervorrufen (BUSCH & LUCKNER 1974).

Neben der reinen äußeren und der reinen inneren Kolmation ist nach HILL (1986) eine weitere, nicht näher spezifizierte, Kolmationsart zu unterscheiden, die eine Mischform der äußeren und inneren Kolmation darstellt.

Physikalische Kolmation

Bei der physikalischen bzw. mechanischen Kolmation kann die Kolmation durch folgende Prozesse verursacht werden (BAVEYE et al. 1998):

- Transport von feinen Partikeln auf oder in das Porennetzwerk.
- Verdichtung durch darüberliegendes Material.
- Verschmieren/Verwischen der Oberfläche.
- Dispersion und Aufquellen von Bodenpartikeln.
- Gasblasen, welche die hydraulische Leitfähigkeit beeinflussen oder eine Kraft auf Bodenpartikel ausüben und so beispielsweise zu deren Umlagerung führen.

Sehr häufig spielt bei physikalischen Kolmationsprozessen der Transport von organischen und/oder anorganischen Feststoffen in das Porennetzwerk eine zentrale Rolle. Je nach Partikelgröße wirken unterschiedliche Kräfte beim Festsetzen an der Porenmatrix. Bei

Partikeln von $> 1 \mu\text{m}$ bzw. bei Partikeln, die in etwa so groß sind wie die Bodenkörner, dominieren die mechanischen Filtereffekte wie Sedimentation und Siebeffekt. Bei kolloidalen Partikeln oder Partikeln $< 1 \mu\text{m}$ überwiegen Oberflächenkräfte wie Van-der-Waals-Kräfte oder elektrochemische Kräfte (BLEINES & VAN RIESEN 1974; VAN RIESEN 1975; SCHÄLCHLI 1993; BAVEYE et al. 1998).

Chemische Kolmation

Eine Kolmation kann auch durch chemische Prozesse verursacht werden. Als Beispiele für eine chemische Kolmation seien hier genannt:

- Niederschlag von Karbonat (Kalk-Kohlensäure-Gleichgewicht), das als Ablagerung die Bodenporen kolmatisiert (GOTTLIEB & BLATTERT 1988; BLAZEJEWSKI & MURAT-BLAZEJEWSKA 1997; RINCK-PFEIFFER et al. 2000).
- Niederschlag und Ablagerung von Eisen oder Mangan: Verockerung (KUNTZE 1982; BICHARA 1986; GOTTLIEB & BLATTERT 1988).

Des Weiteren spielen chemische Prozesse wie Ionenaustausch, Redoxreaktionen, Fällung und Flockung und Adsorptions-/Desorptionsprozesse eine wichtige Rolle bei der chemischen Kolmation (BMI 1985). Die freien Ionen in der Bodenlösung spielen dabei eine zentrale Rolle hinsichtlich des chemischen Gleichgewichts, was zum Aufquellen, Dispergieren oder zum Disaggregieren von Bodenpartikeln führt, die letztendlich die Geometrie der Porenkanäle verändern (BICHARA 1986; GISI et al. 1997; BAVEYE et al. 1998; ZHANG & NORTON 2002). Häufig spielen bei diesen chemischen Prozessen auch Mikroorganismen eine wichtige Rolle, wie dies z. B. bei der Kolmation durch Verockerung der Fall ist (KUNTZE 1982).

Biologische Kolmation

Die biologische Kolmation wird von Organismen verursacht, die im oder auf dem Filter leben. Meist sind es Mikroorganismen, die in Form von Biofilmen die Porenquerschnitte verengen und damit die hydraulische Leitfähigkeit herabsetzen. Aber auch mikrobielle Abbauprodukte wie Gasblasen können eine Kolmation auslösen. Einzelheiten zur Praxisrelevanz, den beteiligten Organismen und dem zeitlichen Kolmationsverlauf sind im folgenden Kap. 2.2 beschrieben. Weitere Informationen, insbesondere bezüglich der unterschiedlichen Kolmationsmodelle, können der Arbeit von DAUL (2001) entnommen werden.

2.2 Biologische Kolmation

2.2.1 Praxisrelevanz

Die Untersuchungen zu den Mechanismen der biologischen Kolmation haben eine unmittelbare praktische Bedeutung. In der Tab. 2 sind zahlreiche Beispiele aufgeführt, zumeist mit siedlungswasserwirtschaftlicher Relevanz. Bei genauer Betrachtung fällt auf, dass es sich bei der Kolmation unter praktischen Gesichtspunkten um ein ambivalentes Phänomen handelt. Auf der einen Seite ist die biologische Kolmation unerwünscht, da sie durch die Verringerung der hydraulischen Leitfähigkeit die Leistungsfähigkeit der Anlagen verringert, wie dies beispielsweise bei der Brunnenkolmation oder bei den Bodenfiltern zur Abwasserreinigung der Fall ist. Auf der anderen Seite kann die Kolmation auch erwünscht sein, so zum Beispiel bei der Abdichtung von künstlichen Seen, der Abdichtung von Kanalleckagen oder bei der gezielten Lenkung von Grundwasser in Aquiferen durch Biobarrieren. Die Praxisrelevanz der biologischen Kolmation macht die Dringlichkeit von Untersuchungen, welche die unterschiedlichen und zum Teil sehr komplexen Mechanismen näher aufzeigen, deutlich.

Die Analyse der Literaturzitate aus Tab. 2 zeigt, dass die meisten Untersuchungen zur Praxisrelevanz der biologischen Kolmation an Modellen im Labor und nicht direkt vor Ort stattfanden (BAVEYE et al. 1998). Außerdem fällt auf, dass es kaum Untersuchungen im ungesättigten Bereich bzw. mit intermittierender Beaufschlagung gibt. Dies ist auf die komplizierteren Bedingungen zurückzuführen. So ist beispielsweise die hydraulische Leitfähigkeit im ungesättigten Bereich nur sehr schwer direkt zu messen.

Tab. 2: Beispiele von biologischer Kolmation mit Praxisrelevanz.

Praxisbeispiel	Literaturquelle
Kolmation erwünscht	
Kanalleckagen	DOHMANN 1999
Biobarrieren zur Bodensanierung	WU et al. 1997; RINCK-PFEIFFER et al. 2000; ROSS et al. 2001
Abdichtung stehender Gewässer	AHMAD et al. 1996
Kolmation unerwünscht	
Bodenfilter	GUILLOTEAU et al. 1993; VON FELDE & KUNST 1996; BLAZEJEWSKI & MURAT- BLAZEJEWSKA 1997; GELLER 1997; PLATZER & MAUCH 1997
Pflanzenkläranlagen	BUCKSTEEG 1986
Regenwasserversickerung	MIKKELSEN et al. 1996; KIDRON et al. 1999
Untergrundverrieselung, -versickerung	SIEGRIST & BOYLE. 1987; BOUWER 1996; FOX et al. 1998; SIEKER 1998; VAN CUYK et al. 2001
Schnellsandfilter	YAMAGUCHI et al. 1996
Langsamsandfilter	SAURBIER 1991; ELLIS & AYDIN 1995; YORDANOV et al. 1999
Tropfkörper	GRAY 1981; HONDA & MATSUMOTO 1983; LE BIHAN & LESSARD 2000
Uferfiltration	VAN RIESEN 1975; SCHÄLCHLI 1993
Brunnenkolmation	GOTTLIEB & BLATTERT 1988; VAN BEEK 1989; RALPH & STEVENSON 1995
Deponiesickerwassersammler	CRAVEN et al. 1999
Rieselfelder	RAV-ACHA et al. 1995; AGASSI et al. 1998
Fließgewässerkolmation	BLEINES & VAN RIESEN 1974; SCHÄLCHLI 1993
Reisfelder	FORD & BEVILLE 1968; KUNTZE 1982
Rohrkolmation	KUNTZE 1982; JUANICO et al. 1995
Erdölexploration	DAVIS 1967; MACLEOD et al. 1988

2.2.2 Beteiligte Organismen

Eine biologische Kolmation kann von sehr unterschiedlichen Organismen ausgelöst werden (Tab. 3). Des Weiteren können verschiedene Umsatzleistungen dieser Organismen für die Kolmation verantwortlich gemacht werden. Die bislang durchgeführten Untersuchungen fanden meist unter wassergesättigten Bedingungen mit Bakterien statt (DELEO & BAVEYE 1997; BAVEYE et al. 1998).

Der Einfluss von Protozoen (tierische Einzeller) und Metazoen (tierische Mehrzeller) auf die Kolmation ist kaum erforscht. Bislang vorliegende Untersuchungen zeigen, dass die Proto- und Metazoen durch das Abweiden von Mikroorganismen meist zu einer Verbesserung der hydraulischen Leitfähigkeit beitragen (DELEO & BAVEYE 1997).

Außerdem wirkt sich der metabolische Zustand der Mikroorganismen auf die Kolmation aus, wie MACLEOD et al. (1988) beobachteten. Sie stellten fest, dass Bakterien in einem physiologisch schlechten Zustand aufgrund der geringeren Zellgröße tiefer in das poröse Medium eindringen und aufgrund geringerer oder keiner Exopolymerproduktion weniger häufig voluminöse Biofilme bilden als dies bei gut ernährten Bakterien der Fall war.

Trotz der vorhandenen Wissenslücken bei den bodenökologischen Prozessen, die während einer mikrobiellen Kolmation ablaufen, kann die mikrobielle Biomasse als zentrale Kolmationsursache angesprochen werden. Schließlich ist auch die kolmationsauslösende Produktion von Gasen oder Präzipitaten an eine entsprechende Biomasse gekoppelt. Dabei spielen neben den wenig untersuchten Pilzen die Bakterien die Hauptrolle (vgl. Tab. 3).

Tab. 3: Beteiligte Organismen und Ursachen von biologischer Kolmation.

Organismen und Ursachen	Literaturquelle
Bakterien	
Bakterienzellen	GUPTA & SWARTZENDRUBER 1962; KRISTIANSEN 1981a,b; MACLEOD et al. 1988; VANDEVIVERE & BAVEYE 1992a; RIJNAARTS et al. 1996a,b; WU et al. 1997
Produktion von Schleimen, EPS	AVNIMELECH & NEVO 1964; LAPPIN-SCOTT et al. 1988; VANDEVIVERE & BAVEYE 1992b; WU et al. 1997; HILGER et al. 2000
Produktion von Gasen: N ₂ , CH ₄ , O ₂ , H ₂ S, CO ₂ , H ₂	KRISTIANSEN 1981a; OBERDORFER & PETERSON 1985; SANCHEZ DE LOZADA et al. 1994; SEKI et al. 1996
Präzipitate: Kalzit; FeS, MnS; Eisen- und Manganoxide	OGATA & BOWER 1965; FORD 1982; KUNTZE 1982; VAN BEEK 1989; RALPH & STEVENSON 1995
Algen	
Diatomeen	BANSCHER 1975; TOLLNER et al. 1983; BUBELA 1985; RAGUSA et al. 1994; KIDRON et al. 1999
Pilze	
Myzel	SEKI et al. 1998
Eisenoxid-Präzipitate	KUNTZE 1982
Protozoen	
Ciliaten, Amöben, Flagellaten	CALAWAY 1957; HILTON & WHITEHALL 1979; OKUBO & MATSUMOTO 1983; DELEO & BAVEYE 1997; SCHOLZ & MARTIN 1997; EISENMANN et al. 1998
Metazoen	
Rädertiere, Kleinkrebse	JUANICO et al. 1995; SCHOLZ & MARTIN 1997
Wurzeln und Rhizome	
Wurzelwachstum und -exsudate	MCINTYRE & RIHA 1991; BLAZEJEWSKI & MURAT-BLAZEJEWSKA 1997; BAVEYE et al. 1998

2.2.3 Zeitlicher Verlauf

Misst man die hydraulische Leitfähigkeit bei Infiltrationsversuchen im zeitlichen Verlauf, so lassen sich trotz unterschiedlicher Versuchsdurchführungen einige Gemeinsamkeiten feststellen. Die meisten diesbezüglichen Untersuchungen wurden dabei in ständig durchflossenen, wassergesättigten Bodenkörpern im Labor durchgeführt. Bereits 1947 stellte ALLISON im zeitlichen Verlauf der Kolmation eine charakteristische S-förmige Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit bzw. der Permeabilität fest (ALLISON 1947). Dieser typisch S-förmige Kolmationsverlauf konnte in zahlreichen Untersuchungen bestätigt werden (OKUBO & MATSUMOTO 1979, 1983; SEKI et al. 1996; RINCK-PFEIFFER et al. 2000). In Abb. 1 ist der idealtypische Kolmationsverlauf dargestellt.

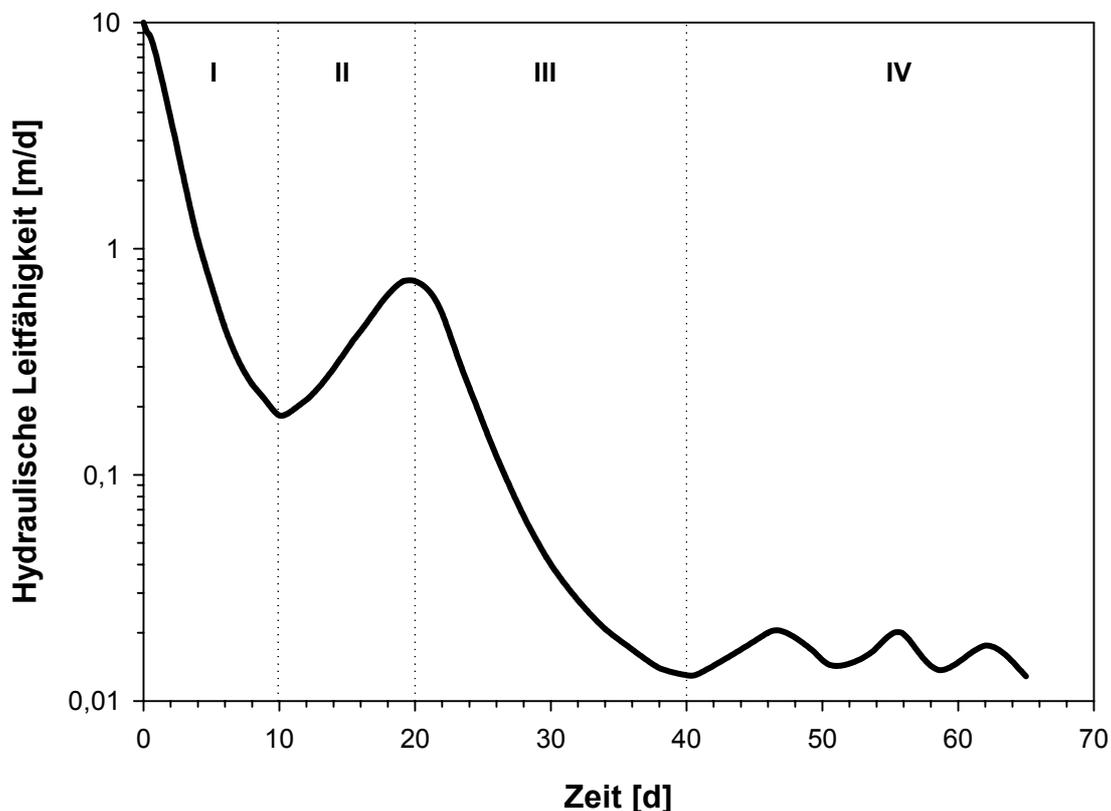


Abb. 1: Verlauf der hydraulischen Leitfähigkeit im zeitlichen Kolmationsverlauf in der oberen Bodenschicht von 0-4 cm (nach OKUBO & MATSUMOTO 1979, 1983; BAVEYE et al. 1998).

Es werden meist vier verschiedene Phasen unterschieden, die auf unterschiedliche Kolmationsursachen zurückzuführen sind. Für jede einzelne Phase sind die Erklärungen von OKUBO & MATSUMOTO (1983) und ALLISON (1947) angegeben:

- I Starkes Biomassewachstum führt unter aeroben Bedingungen zu einer schnellen und zu meist exponentiellen Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit (OKUBO & MATSUMOTO 1983).
- Bei ton- und schluffhaltigem Bodenmaterial kann die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit auch auf das Aufquellen der Bodenpartikel zurückgeführt werden (ALLISON 1947). Diese physikalische Kolmation kann je nach Beaufschlagungsmodus mehrere Wochen andauern und die biologisch bedingte Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit beschleunigen.
- II Das starke Biomassewachstum und die damit verbundenen hohen mikrobiellen Umsetzungsprozesse führen zu einer schnellen Abnahme des Sauerstoffgehalts. Dieser wird zum limitierenden Wachstumsfaktor (OKUBO & MATSUMOTO 1983). Die hydraulische Leitfähigkeit steigt aufgrund von absterbender Biomasse und der damit verbundenen Vergrößerung des Porenkanalquerschnitts an.
- Je nach Versuchsdurchführung kann auch Luft in den Bodenporen eingeschlossen werden. Löst sich diese Luft in der vorbeiströmenden Flüssigkeit, kommt es ebenfalls zu einer temporär begrenzten Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit (ALLISON 1947).
- III Der aerobe Abbau der abgestorbenen Biomasse führt schließlich zu anaeroben Bedingungen. Durch weiteres Biomassewachstum von Anaerobiern oder durch den Einschluss von mikrobiell produzierten Gasen in den Bodenporen kommt es zu einem starken Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit, der sich nach und nach abschwächt (OKUBO & MATSUMOTO 1983).
- IV Zuletzt stellt sich ein Gleichgewicht zwischen den in Phase I-III beschriebenen Prozessen ein. Die hydraulische Leitfähigkeit schwankt um einen bestimmten Wert und nimmt nicht mehr oder nur noch minimal ab.

Neben der hydraulischen Leitfähigkeit und der Permeabilität ändern sich in den einzelnen Phasen auch die Zusammensetzung des Wassers, das durch den Bodenkörper perkoliert. Dies trifft insbesondere auf den Sauerstoffgehalt und den CSB zu (OKUBO & MATSUMOTO 1983). Der Übergang von Phase III nach Phase IV ist nicht besonders akzentuiert, so dass der Kolmationsprozess manchmal in drei Phasen eingeteilt wird (ALLISON 1947; OKUBO & MATSUMOTO 1979; 1983). In der Praxis überlagern häufig, aufgrund der zahlreichen Einflussgrößen (siehe Tab. 1), weitere Kolmationsprozesse den in Abb. 1 dargestellten Idealverlauf (RINCK-PFEIFFER et al. 2000).

2.3 Nachweis von Biomasse und Bioaktivität

2.3.1 Methodenübersicht und Definitionen

Bei den in der biologischen Abwasserreinigung anfallenden Stoffen handelt es sich aus Sicht der Mikroorganismen nicht um „Schmutzstoffe“, sondern um Nährstoffe. Die Aufnahme und Umsetzung der Nährstoffe führt zu einer Erhöhung der Bioaktivität der Zellen. Diese erhöhte Bioaktivität ist mit dem Wachstum und der Vermehrung der Zellen gekoppelt. Wachstum und Vermehrung führen wiederum zu einer gesteigerten Biomasseproduktion. Die Nährstoffelimination, die Abbauaktivität und die Biomasse sind somit auf das engste miteinander verbunden. In einem definierten System kann die Biomasseakkumulation wie folgt formuliert werden (RITTMANN 1993):

$$\text{Biomasseakkumulation} = (\text{Wachstum} + \text{Eintrag}) - (\text{Absterben} + \text{Austrag}) \quad (\text{Glg. 4})$$

Da die Parameter „Biomasse“ und „Bioaktivität“ in der mikrobiellen Ökologie von zentraler Bedeutung sind, gibt es sehr viele verschiedene Methoden für die Messung dieser Parameter. Die Abb. 2 gibt einen Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten zum Nachweis von Biomasse und Bioaktivität. Die Methoden, von denen jeweils nur einige aufgeführt sind, lassen sich in vier Bereiche einteilen: Mikroskopische Untersuchungen, chemische und physiologische Analysen und Prozessstudien. Bei der Definition der Begriffe Biomasse und Bioaktivität werden einzelne Methoden kurz angesprochen.

Die **mikrobielle Biomasse** ist der Anteil an organischer Substanz in lebenden Mikroorganismen in einem Umweltkompartiment (ALEF 1991). Der beste Weg, die mikrobielle Biomasse zu bestimmen, ist die direkte Bestimmung durch Wiegen. Die Biomasse wird dann beispielsweise in mg Biomasse oder mg Kohlenstoff pro g Boden angegeben. Häufig werden die Gesamtbakterienzahlen, die mikroskopisch oder physiologisch analysiert werden können, mit der Biomasse gleichgesetzt (DUNGER & FIEDLER 1997; PREUß & HUPFER 1998).

Oftmals ist jedoch eine direkte Biomassebestimmung aus methodischen Gründen nicht möglich. Einen Ausweg stellen sogenannte quantitative Bioindikatoren dar. Solche Bioindikatoren müssen folgende Voraussetzungen erfüllen: Sie dürfen nur in lebenden Zellen vorkommen und müssen nach deren Tod schnell abgebaut werden. Außerdem muss die Konzentration des Bioindikators in der Zelle konstant sein und quantitativ aus den Zellen extrahiert werden können (ALEF 1991; PAUL & CLARK 1996). Quantitative Bioindikatoren für die Biomasse sind beispielsweise die Desoxyribonucleinsäure (DNA), Proteine oder Lipide (OBST et al. 1995; PAUL & CLARK 1996).

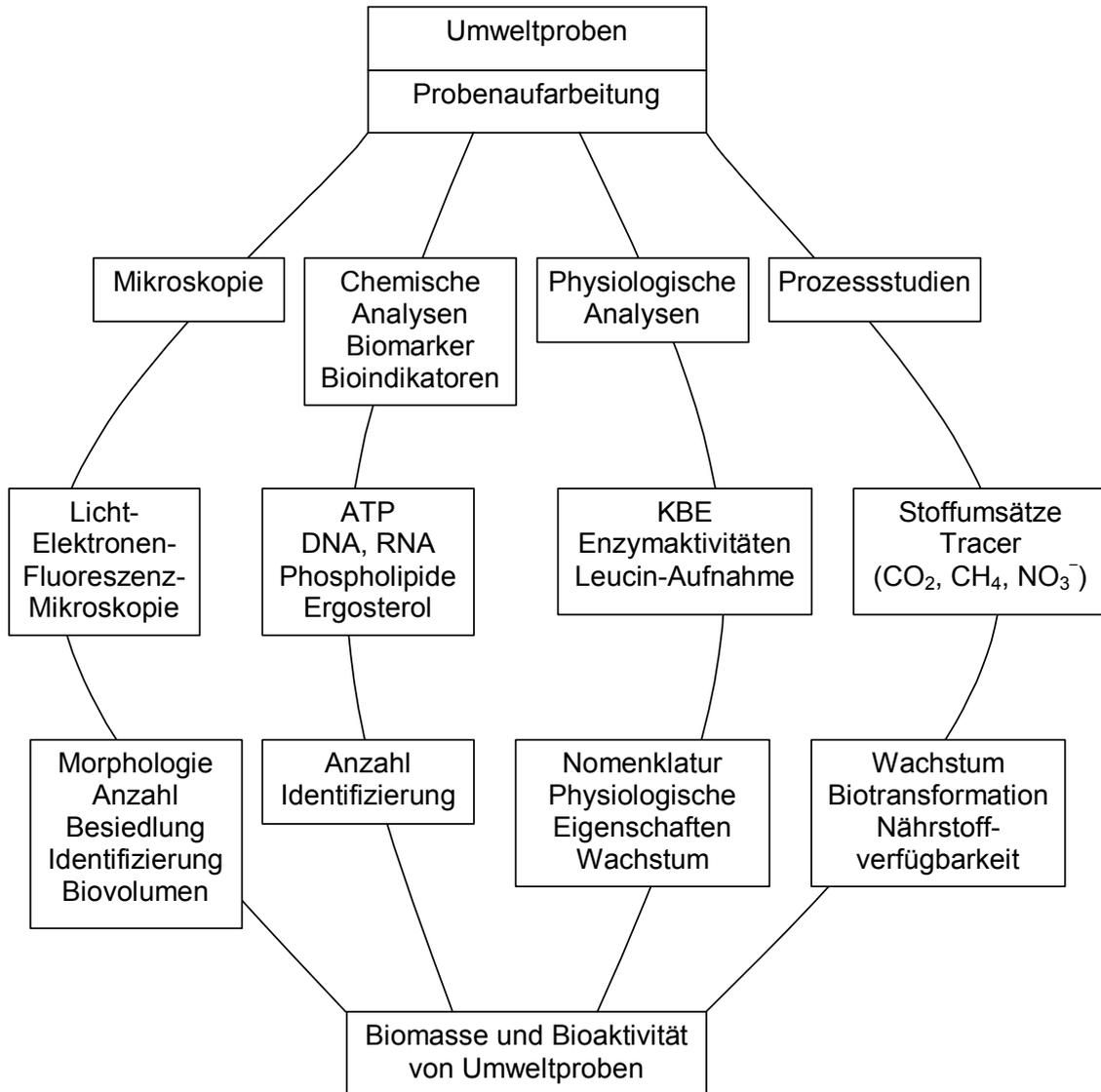


Abb. 2: Methoden für den Nachweis von Biomasse und Bioaktivität (verändert, nach PAUL & CLARK 1996).

Unter **mikrobieller Bioaktivität** werden alle biochemischen Stoffumsetzungen verstanden, die durch Mikroorganismen katalysiert werden (ALEF 1991). Als Beispiele für Bioaktivitätsbestimmungen sind die Messung von Stoffumsätzen bei Prozessstudien und die Bestimmung von Enzymaktivitäten zu nennen. Bei den Enzymaktivitäten gibt es auf der einen Seite Enzyme, die für spezielle Abbauewege typisch sind (z. B. Cellulase-Aktivität). Diese erlauben keine Rückschlüsse auf die Gesamtbioaktivität. Auf der anderen Seite gibt es zentrale Stoffwechsellenzyme (z. B. Dehydrogenasen), die eine Aussage über die Gesamtbioaktivität ermöglichen.

Wie bei der Biomasse können zur Bestimmung der Bioaktivität auch quantitative Bioindikatoren verwendet werden. Im Gegensatz zum Biomasseindikator kommt der Bioaktivitäts-

indikator in der Zelle nicht in konstanten Mengen vor, sondern korreliert mit der Zellaktivität (PAUL & CLARK 1996). Als Beispiele seien hier die Bestimmung der RNA und des Adenylatverhältnisses genannt.

Die meisten Methoden zur Bestimmung der Biomasse und der Bioaktivität haben das Problem, dass die Biomasse in Form eines Biofilms fest mit der Aufwuchsfläche verbunden ist. Dies hat zur Folge, dass die Mikroorganismen vom Trägermaterial abgelöst werden müssen. Dabei kann zwischen einer direkten und einer indirekten Ablösung bzw. Extraktion vom Trägermaterial unterschieden werden. Bei der indirekten Extraktion werden die Mikroorganismen von den Aufwuchsflächen zuerst getrennt und dann nachgewiesen. Bei der direkten Extraktion werden die Mikroorganismen bzw. deren Extrakte direkt in der Probe nachgewiesen. Die Hauptunterschiede der Methoden liegen in der Extraktionseffizienz und der Reinheit der Extrakte (HOLBEN 1994; WHEELER ALM & STAHL 1996).

In den beiden folgenden Kapiteln werden die Grundlagen der Nucleinsäurebestimmung erläutert.

2.3.2 Molekularbiologische Grundlagen

Nucleinsäuren sind Biopolymere, die aus einzelnen Bausteinen, den Nucleotiden, zusammengesetzt sind. Die Nucleotide sind aus einer heterocyclischen Base, einer Zucker- und einer Phosphatgruppe aufgebaut. Die Base trägt die genetische Information und die Zucker- und Phosphatgruppe erfüllen strukturelle Aufgaben. Es gibt zwei verschiedene Nucleinsäurearten, die Desoxyribonucleinsäure (DNA) und die Ribonucleinsäure (RNA). Die DNA unterscheidet sich strukturell von der RNA durch die Zuckergruppe (Desoxyribose anstelle von Ribose) und einen Basentausch (Thymin anstelle von Uracil). Außerdem ist die DNA doppelsträngig und die RNA normalerweise einzelsträngig (STRYER 1990). Sowohl die DNA als auch die RNA sind integrale Bestandteile der Proteinbiosynthese (Abb. 3), weshalb diese hier erläutert werden soll.

Die **mRNA** (Boten-RNA) macht etwa 5 % der Gesamt-RNA aus. Die mRNA ist ein Transkript der DNA, dient als Matrize für die Proteinbiosynthese und hat eine sehr geringe Lebensdauer. Die **tRNA** (Transport-RNA) macht etwa 15 % der Gesamt-RNA aus. Die tRNA transportiert die Aminosäuren zum Ribosom, dem Ort der Proteinbiosynthese. Die **rRNA** (ribosomale RNA) macht den größten Teil mit etwa 85 % der Gesamt-RNA aus (STRYER 1990; STOECK et al. 1998; SCHRIMPF 2002). Die rRNA bildet zusammen mit den ribosomalen Proteinen die Ribosomen. An den Ribosomen findet die Translation, also die Aneinander-

reihung der Aminosäuren aufgrund der mRNA-Matrize statt (Abb. 3). Dabei entstehen Proteine, welche für Metabolismus, Wachstum und Vermehrung unerlässlich sind.

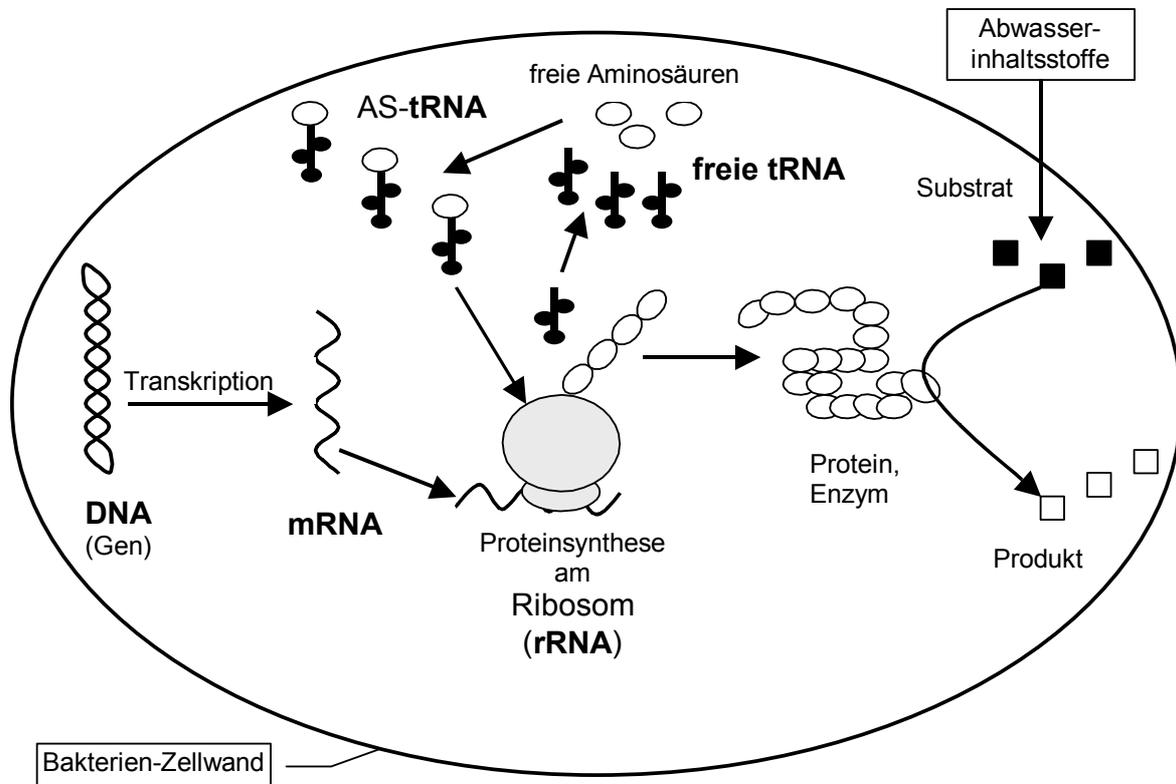


Abb. 3: Schema der Proteinbiosynthese und Funktion von mRNA, rRNA, tRNA und DNA (verändert und ergänzt, nach KNODEL & BAYRHUBER 1991).

Zwischen dem RNA/DNA-Verhältnis und der Wachstumsrate der Bakterien besteht eine lineare Beziehung (KEMP et al. 1993; KERKHOF & WARD 1993; MUTTRAY & MOHN 1998; MILNER et al. 2001; MUTTRAY et al. 2001). Somit eignet sich das RNA/DNA-Verhältnis als Bioindikator für die spezifische oder relative Bioaktivität, da sie sich auf die mikrobielle Biomasse einer gegebenen Bakterienpopulation bezieht.

Der DNA-Gehalt einer Bakterienzelle ist weitgehend unabhängig vom metabolischen Zustand der Bakterienzelle (PAUL & CLARK 1996). Deshalb eignet sich der DNA-Gehalt gut als quantitativer Bioindikator für die mikrobielle Biomasse. Es ist aber zu beachten, dass der DNA-Gehalt gewissen Schwankungen, z. B. beim Wachstum oder bei unterschiedlich hoher Plasmidanzahl, unterworfen ist. Außerdem ist zu beachten, dass der DNA-Gehalt pro Zelle bei Pilzen oder Metazoen zum Teil deutlich höher ist als bei Bakterien (KLEINIG & SITTE 1999). Dadurch kann es bei nicht überwiegend bakteriell zusammengesetzten Populationen zu Fehlern in der absoluten Biomassebestimmung kommen.

2.3.3 Nucleinsäurebestimmung

HOLM-HANSEN et al. verwendeten als erste 1968 die DNA als Parameter für die Meeresplankton-Biomasse (STOECK et al. 1998). BARDTKE & THOMANETZ nutzten 1976 die quantitative Analyse der DNA zur Erfassung der Biomasse in Belebtschlamm. Bei Kolmationsuntersuchungen im Labormaßstab mit einer Bakterienreinkultur setzten MACLEOD et al. (1988) die DNA zur Bestimmung der Biomasseverteilung ein. Wiederum aus der Meeresbiologie stammen die ersten Untersuchungen, bei denen das RNA/DNA-Verhältnis als Parameter für die Wachstumsrate bzw. die Bioaktivität von Planktonorganismen verwendet wurde (DORTCH et al. 1983). Es folgten weitere Untersuchungen, bei denen sehr gute Korrelationen zwischen der Wachstumsrate von Bakterienreinkulturen und dem RNA/DNA-Verhältnis gefunden werden konnten (siehe Tab. 4). Einen weiteren Fortschritt brachte die Optimierung und der Einsatz von zum Teil schon Jahre zuvor entwickelten Nucleinsäureextraktionsmethoden im Umweltbereich um das Jahr 2000. Mit diesen Analysemethoden ist erstmals eine direkte, simultane und quantitative Erfassung von DNA und RNA möglich (PURDY et al. 1996; DELL'ANNO et al. 1998; HURT et al. 2001). Dennoch liegen bislang nur wenige Untersuchungen zum RNA/DNA-Verhältnis vor, was insbesondere auf Freilanduntersuchungen zutrifft (siehe Tab. 4).

Für die Bestimmung von DNA und RNA gibt es unterschiedliche Analysemethoden, mit denen die Nucleinsäuren einzeln oder simultan extrahiert und isoliert werden können. Die jeweils angewandte Methode richtet sich in erster Linie nach der weiteren molekularbiologischen Verwendung der isolierten Nucleinsäuren. Einen Überblick über verschiedene kommerziell erhältliche Kits zur Nucleinsäureextraktion und Vergleiche zwischen den unterschiedlichen Extraktionsmethoden geben KRSEK & WELLINGTON (1999), MILLER et al. (1999) und SCHRIMPF (2002). Grundsätzlich kann die Nucleinsäurebestimmung in fünf Phasen unterteilt werden (OGRAM et al. 1995; GRIFFITHS et al. 2000):

1. Direkte oder indirekte Zellyse
2. Inaktivierung von Nucleasen
3. DNA und/oder RNA-Extraktion
4. Reinigung
5. Quantifizierung.

Die kritischen Schritte bei der Nucleinsäureisolierung sind die Zellyse und die Inaktivierung von Nucleasen (OGRAM et al. 1995). Bei der Quantifizierung kommen photometrische (Photo-

Tab. 4: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse von Proben unterschiedlicher Herkunft (FG: Feuchtgewicht; TG: Trockengewicht).

Herkunft	DNA	RNA	RNA/DNA	Literaturquelle, Bemerkung
Sandböden	4-160 µg/g TG	-	-	FROSTEGÅRD et al. 1999
Sediment	0,1-53 µg/g TG	-	-	MILLER et al. 1999
Abwasserbelastete Bachsedimente	0,4-6,3 µg/g TG	-	-	FONTVIEILLE & FEVOTTE 1981
Boden und Sediment	-	1,1-16,0 µg/g FG	-	MORAN et al. 1993 (rRNA)
Ackerböden	-	0,05-0,25 µg/g TG	-	FELSKE et al. 1996 (rRNA)
Böden	15-30 µg/g FG	0,25-1,0 µg/g FG	-	DUARTE et al. 1998 (rRNA)
Böden und Bachsedimente	23-435 µg/g TG	1,4-56,1 µg/g TG	-	HURT et al. 2001 („Gesamt“-RNA)
Belebschlamm	53-131 µg/ml	27-51 µg/ml	-	YU & MOHN 1999 („Gesamt“-RNA)
Waldboden	10-20 µg/g TG	2-5 µg/g TG	-	GRIFFITHS et al. 2000 (16S rRNA)
Marines Sediment	2,1-39,8 µg/g TG	0,4-29,9 µg/g TG	0,004-2,2	DELL'ANNO et al. 1998 („Gesamt“-RNA)
Bakterienreinkulturen	-	-	0,5-10	KERKHOF & WARD 1993
Bakterienreinkultur	-	-	< 3; ~35	MILNER et al. 2001
Bakterienreinkulturen	-	-	0,5-3,2	MUTTRAY & MOHN 1998
Marine Bakterien	-	-	> 1-< 8	KEMP et al. 1993

meter, HPLC) oder fluorimetrische (Anfärbung der Nucleinsäuren, z. B. bei der Gelelektrophorese) Methoden zum Einsatz (DELL'ANNO et al. 1998).

Eine Methode zur quantitativen Nucleinsäurebestimmung aus Umweltproben erfüllt idealerweise folgende Kriterien (verändert, nach HURT et al. 2001):

1. Die extrahierte Menge an DNA und RNA sollte möglichst hoch sein.
2. Die DNA und RNA sollten simultan aus einer Probe extrahiert werden, damit ein direkter Vergleich möglich ist.
3. Die Nucleinsäureextraktion und Aufreinigung sollte so einfach wie möglich, schnell und kostengünstig durchführbar sein.
4. Die Methode sollte robust und zuverlässig sein und für viele unterschiedliche Umweltproben verwendet werden können.

Je nach Fragestellung kann die Reihenfolge der Kriterien auch variieren.

Desoxyribonucleasen (DNasen) und Ribonucleasen (RNasen) kommen ubiquitär vor und bauen die DNA bzw. die einzelsträngige, und dadurch besonders labile RNA, enzymatisch ab. Im Gegensatz zu den DNasen sind die RNasen besonders stabil und können beispielsweise nach dem Autoklavieren schnell wieder renaturieren. Um Kontaminationen mit RNasen zu vermeiden, müssen RNase-freie Arbeitsbedingungen etabliert und RNase-freie Chemikalien verwendet werden. Zur Herstellung von RNase-freien Lösungen wird häufig Diethylpyrocarbonat (DEPC) verwendet, welches die Ribonucleasen durch die Alkylierung des Histidinrests inhibiert (SCHRIMPF 2002).

Die Tab. 4 gibt einen Überblick über die DNA- und RNA-Konzentrationen aus verschiedenen Umweltkompartimenten. Aufgrund der unterschiedlichen Methoden ist ein genauer Vergleich der Nucleinsäurekonzentrationen schwierig, aber ein grober Überblick über das Konzentrationsspektrum ist möglich.

Aufgrund der einfacheren Extraktion gibt es wesentlich mehr Ergebnisse zu DNA-Konzentrationen in verschiedenen Umweltkompartimenten als zu RNA-Konzentrationen. Die DNA-Konzentrationen reichen von 0,1 bis 435 µg/g, wobei die Schwankungen zum einen auf das unterschiedliche Probenmaterial, zum anderen auf die verwendete Extraktionsmethode zurückzuführen sind. Dies trifft auch für die RNA-Messungen zu, wobei es hier aufgrund der schwierigeren RNA-Bestimmung deutlich weniger Untersuchungen gibt. Zudem wurden bei den meisten Untersuchungen nur die rRNA, oder Teile davon, bestimmt. Untersuchungen, bei

denen die „Gesamt“-RNA¹ quantifiziert wurden, sind selten. Die einzigen diesbezüglichen Arbeiten stammen von DELL'ANNO et al. (1998) und YU & MOHN (1999).

Die Angaben zum RNA/DNA-Verhältnis beziehen sich meist auf Bakterienreinkulturen und erreichen Werte zwischen 0,5-35. Die RNA/DNA-Verhältnisse im Freiland liegen zwischen 0,004 und 2,2 (DELL'ANNO et al. 1998). Bislang ist die Veröffentlichung von DELL'ANNO et al. (1998) die einzige, in der neben den Nucleinsäurekonzentrationen auch das RNA/DNA-Verhältnis von Freilandproben untersucht wurde.

¹ Unter „Gesamt“-RNA ist in diesem Zusammenhang die Summe von tRNA und rRNA zu verstehen; die mRNA wird aufgrund ihrer geringen Menge bislang nicht für quantitative Analysen verwendet. Außerdem kann aus methodischen Gründen nie die gesamte RNA-Menge extrahiert werden, da immer ein gewisser Anteil in der Probe zurückbleibt oder bei der Probenaufarbeitung verloren geht.

3 Ziele der vorliegenden Arbeit

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Frage nach dem Einfluss der mikrobiellen Biomasse auf die Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenkörpern. Da es bislang keine geeignete Methode zur Quantifizierung der kolmationsverursachenden mikrobiellen Biomasse gibt, ist die Entwicklung einer Methode zur Nucleinsäurebestimmung grundlegender Bestandteil der Arbeit.

Des Weiteren soll die vertikale Verteilung der mikrobiellen Biomasse und der Bioaktivität in Bodenfiltern zur Abwasserreinigung untersucht werden. Parallel dazu werden die Reinigungsleistung durch die Mikroorganismen und die Auswirkung von negativen Umweltfaktoren auf die Tätigkeit der Mikroorganismen in den Filtern untersucht.

Ziel der Untersuchungen ist es, den Einfluss der Mikroorganismen auf die Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenkörpern beurteilen zu können. Grundlagenorientierte Untersuchungen sollen wichtige Hinweise zur Verteilung der mikrobiellen Biomasse und deren Bioaktivität in den Bodenkörpern liefern, um daraus Empfehlungen für den Betrieb von Bodenfiltern ableiten zu können. Konkret sollen die folgenden Fragen beantwortet werden:

a) Fragen zur HPLC-Methodenentwicklung, mit der die kolmationsauslösende Biomasse und Bioaktivität in den Filtern erfasst werden soll:

1. Welche Nucleinsäuren sind nachweisbar?
2. Lässt sich die kolmationsauslösende mikrobielle Biomasse und die Bioaktivität mit Hilfe von Nucleinsäuren quantifizieren?

b) Fragen zu den Säulenversuchen, mit denen das Kolmationsverhalten von Bodenfiltern unter standardisierten Bedingungen im Labor untersucht werden soll:

1. Wie sind die Biomasse und die Bioaktivität in den Filtern verteilt?
2. Welche Bedeutung hat die mikrobielle Kolmation?
3. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Reinigungsleistung und der mikrobiellen Kolmation in den verschiedenen Filtern?
4. Welche Faktoren beeinflussen die Reinigungsleistung und die mikrobielle Kolmation der Filter?
5. Gibt es in den Filtern eine mikrobielle Sukzession und wie ist das Filtermaterial besiedelt?

c) Fragen zum Anwendungsbeispiel Retentionsbodenfilter Langenalb, mit dem die HPLC-Methode und die Ergebnisse aus den Säulenversuchen mit Freilanduntersuchungen verglichen werden sollen:

1. Ist die Nucleinsäurebestimmung auch mit Proben aus dem Freiland möglich?
2. Wie ist die mikrobielle Biomasse und Bioaktivität während und nach einer Totalkolmation verteilt?
3. Wie unterscheidet sich die Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung im Retentionsbodenfilter von der in den Sandsäulen?

4 Material und Methoden

4.1 Die Untersuchungen im Überblick

In Abb. 4 wird die methodische Vorgehensweise erläutert und im Überblick dargestellt. Zentraler Bestandteil der Untersuchungen war die Weiterentwicklung der **HPLC-Methode**, da sie mit einer Messung die für die Kolmation verantwortliche mikrobielle Biomasse und die Bioaktivität auf molekularbiologischem Niveau erfasst. Die anderen eingesetzten mikrobiologischen Methoden dienten als Vergleichsmessungen, um die Ergebnisse der Nucleinsäurebestimmung beurteilen zu können.

Sämtliche Laborexperimente wurden mit Bezug zu tatsächlichen Bodenfilteranlagen konzipiert und durchgeführt. Um für die Nucleinsäurebestimmung möglichst ungestörte Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen in den Filtern vorzufinden, wurden erst zum Versuchsende Proben entnommen. Während den Filterbeaufschlagungen wurden im Verlauf der Filterkolmation insbesondere die hydraulische Leitfähigkeit, die Nitrifikation und die CSB-Reinigungsleistung erfasst.

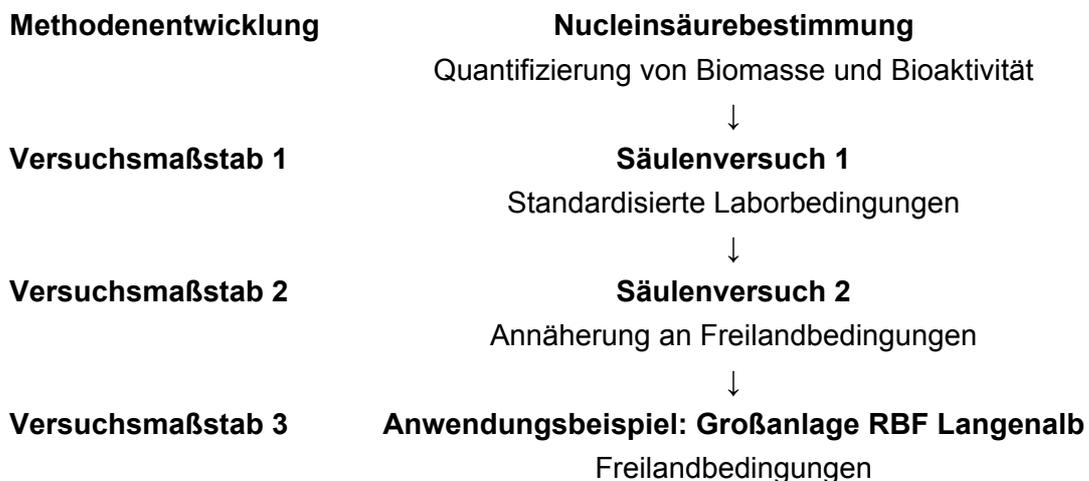


Abb. 4: Die methodische Vorgehensweise bei den Untersuchungen im Überblick.

Beim **Säulenversuch 1** wurde mit künstlichen Abwässern bei Raumtemperatur beaufschlagt, um möglichst standardisierte Bedingungen zu haben. Eine Animpfung mit realem Abwasser war notwendig, um eine Abwasserbiozönose zu etablieren. Die unterschiedlich hohen CSB-Zulaufrwerte in den Abwässern wurden gewählt, weil nicht abzusehen war, wie viel Biomasse sich in den Filtern und in welcher Filtertiefe bilden würde.

Beim **Säulenversuch 2** wurde die Auswirkung von Kälte- und Trockenstress auf die Funktionsfähigkeit der Sandsäulen untersucht. Die Sandsäulen wurden mit künstlichem und

realem Mischwasser beaufschlagt. Als künstliches Abwasser kam das OECD-Abwasser (OECD 1981) zur Anwendung. Aufgrund der gleichmäßigeren Mikroorganismenverteilung im Filter war es besser geeignet als das künstliche Mischwasser aus Säulenversuch 1. Beim OECD-Abwasser handelt es sich zudem um ein häufig verwendetes, internationales Standardabwasser, so dass Vergleiche mit anderen Versuchen leichter angestellt werden können. Zusätzlich wurde beim Säulenversuch 2 reales Mischwasser (mit demineralisiertem Wasser verdünntes kommunales Abwasser) eingesetzt. Damit sollte zum einen der Unterschied zwischen einem partikelfreien und einem partikelhaltigen Abwasser untersucht werden, zum anderen sollte die beim Säulenversuch 1 erfolgreiche Nucleinsäurebestimmung auch auf Filtermaterial angewendet werden, das von realem Mischwasser durchsickert wurde.

Nachdem die Nucleinsäurebestimmung bei den Säulenversuchen erfolgreich verlief, wurde die Methode an einem **Anwendungsbeispiel** getestet. Dabei bot sich die Gelegenheit, den im Frühjahr 2001 kolmatierten **Retentionsbodenfilter Langenalb** zu beproben. Um die Methode im Freiland anwenden zu können, und um die Kolmation in einem realen Bodenfilter untersuchen zu können, wurde dafür im Februar 2001 (während der Kolmation) und im Mai 2001 (nach der Kolmation) Filtermaterial aus verschiedenen Segmenten und aus unterschiedlichen Filtertiefen entnommen und analysiert.

4.2 Nucleinsäurebestimmung

Die Isolierung und Quantifizierung von hochmolekularen Nucleinsäuren erfolgte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Die HPLC-Methode geht auf Arbeiten von COLPAN (1983) und COPPELLA et al. (1987) zurück. Bei diesen Untersuchungen wurden die Nucleinsäuren von Bakterienreinkulturen analysiert. Die von COPPELLA et al. (1987) entwickelte Methode wurde von DELL'ANNO et al. (1998) für marine Sedimente weiterentwickelt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die HPLC-Methode auf abwasserdurchsickerte Sandfilter übertragen. Dazu wurden verschiedene Parameter ergänzt (Ribonuclease-freies Arbeiten, Probenahme mit flüssigem Stickstoff), modifiziert und optimiert (Ultraschalldesintegration). Bislang wurde die Nucleinsäureextraktion aus Umweltproben mittels HPLC nur von DELL'ANNO et al. (1998) durchgeführt (KOK 1999).

4.2.1 Ribonuclease-freies Arbeiten

Die im Folgenden aufgeführten Arbeitsschritte für ein weitgehendst RNase-freies Arbeiten ermöglichten eine erfolgreiche quantitative RNA-Bestimmung mit der HPLC. Weitere

Arbeitsanleitungen und Methoden können SAMBROOK et al. (1989) und SCHRIMPF (2002) entnommen werden.

Die RNase-freien Arbeiten wurden in einem extra dafür eingerichteten Labor durchgeführt. Sämtliche Arbeitsflächen wurden vor Arbeitsbeginn mit RNase AWAYTM (Molecular BioProducts, San Diego, CA, USA) gesäubert. Für das RNase-freie Arbeiten wurden spezielle, ausschließlich für diese Arbeiten benutzte Materialien verwendet. Es wurden stets Nitrilhandschuhe getragen, die nach wenigen Arbeitsschritten durch neue ersetzt wurden, um mögliche RNase-Kontaminationen zu minimieren.

Sämtliche Eluenten, Lysispuffer und Reinigungslösungen wurden mit molekularbiologisch reinem Wasser (frei von Nucleasen) hergestellt. Dazu wurde in einer RNase-freien Glasflasche Milli-Q-Wasser mit 0,1 % DEPC versetzt und acht Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss daran wurde das DEPC durch Autoklavieren entfernt. Das DEPC zerfällt dabei zu Ethanol und Wasser. Für die Herstellung der Eluenten und des Lysispuffers wurden Chemikalien in molekularbiologischer Qualität verwendet.

Alle thermostabilen Materialien wie Spatel, Rührfische, Glasflaschen etc. wurden zuerst gründlich mit DEPC-H₂O gereinigt und anschließend bei +220 °C im Trockenschrank (Memmert, Schwalbach) für 16 Stunden trockensterilisiert. Die Chemikalien für die Eluenten und Verbrauchsmaterial wie Pipettenspitzen oder Spritzenvorsatzfilter wurde in molekularbiologischer Qualität oder, falls nicht erhältlich, in steriler Qualität verwendet (Kanülen, Polypropylen-Einmalspritzen).

Geräte wie die pH-Elektrode oder die HPLC-Anschlüsse wurden in einer 3 % H₂O₂-Lösung eingeweicht und anschließend gründlich mit DEPC-H₂O abgespült.

4.2.2 Probenahme und Probenaufarbeitung

Zur Nucleinsäurebestimmung wurde Filtermaterial aus Sandfiltern im Labor und einem Freilandfilter entnommen. Die Sandsäulen im Standardbetrieb aus Säulenversuch 1 und 2 wurden bis zum Versuchsende intermittierend mit Abwasser beaufschlagt (siehe Kap. 4.3.2). Bei diesen erfolgte die Probenahme zu einem Zeitpunkt, zu dem normalerweise eine erneute Beaufschlagung mit Abwasser stattgefunden hätte. Damit sollte der Aktivitätszustand der Mikroorganismen kurz vor einer Beaufschlagung erfasst werden. Bei den trockengefallenen Sandsäulen aus Säulenversuch 2 erfolgte die Probenahme am Versuchsende (siehe Kap. 4.3.2). Um den mikrobiellen Zustand der Filter nicht zu verfälschen, erfolgte der Ausbau des Filtermaterials bei *in-situ*-Temperaturen.

Zur Probenahme aus der Plexiglasröhre wurde der Sand bis zur entsprechenden Filterschicht entfernt. Dann wurde aus der jeweiligen Tiefenstufe (0-2 cm, 2-4 cm usw.) mit einem DNase- und RNase-freien 2 ml-Kryoröhrchen (Brand, Wertheim; Art.-Nr. 114832) die Sandprobe entnommen.

Bei den Probenahmen im Freiland wurde mit einem Schlitz-Bohrstock (Innendurchmesser: 1,0 cm) ein Bohrkern entnommen. Die Proben wurden dann direkt mit Kryoröhrchen aus der entsprechenden Tiefenstufe vom Bohrstock entnommen.

Zur sofortigen Konservierung des Ist-Zustandes der Mikroorganismen und zum besseren Ablösen des Biofilms wurden alle entnommenen Proben innerhalb einer Minute in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Anschließend wurden die Proben bis zur Aufarbeitung bei -80°C gelagert. Bei -80°C lassen sich die Proben problemlos mehrere Monate lagern.

In einem weiteren Arbeitsschritt wurden die Proben in den leicht geöffneten Kryoröhrchen im Eiskondensationsraum der Gefriertrocknungsanlage ALPHA 1-4 (Christ, Osterode am Harz) gefriergetrocknet. Die Probentemperatur lag dabei immer unter -25°C . Nach der Gefrier-trocknung wurden die Proben entweder aufgearbeitet oder wieder bei -80°C tiefgefroren.

In der Abb. 5 ist die weitere Probenaufarbeitung zur Nucleinsäurebestimmung schematisch dargestellt.

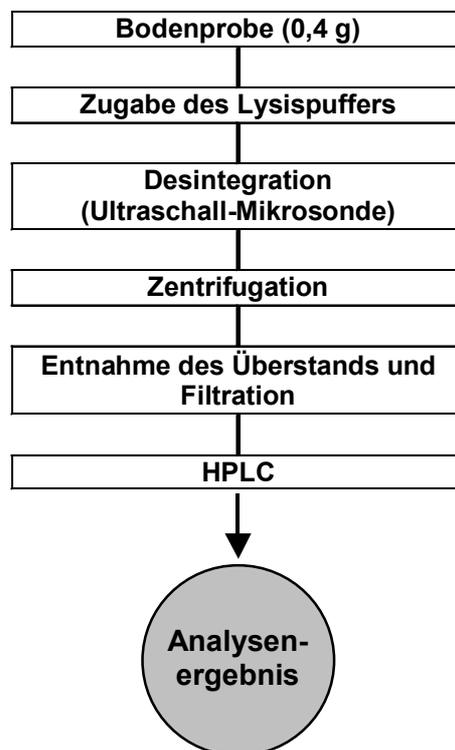


Abb. 5: Flussdiagramm für die Probenaufarbeitung bei der Nucleinsäurebestimmung.

Von den gefrorenen Proben wurden etwa 200-400 mg Sand in Eppendorf-Reaktionsgefäße eingewogen und sofort mit 1,0 ml Lysispuffer versetzt. Der Tris-HCl-Lysispuffer wurde folgendermaßen hergestellt (KOK 2000):

Tris-HCl-Lysispuffer:

6,05 g Tris

5,08 g NaCl

3,70 g EDTA

2,00 g SDS

8,1 ml HCl (33 %)

in DEPC-H₂O lösen, auf 1000 ml auffüllen und den pH-Wert mit NaOH auf 8,0 einstellen.

Nach der Zugabe des Lysispuffers (Zelldestabilisierung und Inaktivierung von Nucleasen) fanden alle Arbeitsschritte bei Raumtemperatur statt, um ein Präzipitieren des Lysispuffers zu verhindern. Der Lysispuffer wurde durch kurzes Schütteln verteilt. Nach einer Einwirkzeit von fünf Minuten wurde die Probe mit dem Ultraschalldesintegrator (Vibra cell 130; SONICS, Newtown, CT, USA) bei einer Frequenz von 20 kHz und einer Output-Leistung von 2-3 W desintegriert (Zellzerstörung, Nucleinsäuren in der flüssigen Phase). Dafür wurde mit einer 2 mm-Mikrosonde für 10 s mit jeweils 60 s Pause zwischen jedem Intervall sechsmal desintegriert. Mit dieser veränderten Ultraschalldesintegration war die Nucleinsäureausbeute am höchsten. Die Probe wurde fünf Minuten bei 3300-facher Erdbeschleunigung zentrifugiert (Universal 30 RF; Hettich, Tuttlingen), um große Zelltrümmer zu sedimentieren. Dann wurde die flüssige Phase mit einer Kanüle vorsichtig in eine Polypropylen-Einmalspritze gezogen und durch einen 0,45 µm Cellulose-Acetat-Spritzenvorsatzfilter (Nalgene, Rochester, NY, USA; Art.-Nr. 190-2545) abfiltriert, um kleine Schmutzpartikel zu entfernen. Die Probe mit den Nucleinsäuren wurde in ein Polypropylen-Probenbehälter gefüllt und verschlossen. Die Proben wurden dann mit Hilfe eines automatischen Probengebers (Autosampler) innerhalb von zwölf Stunden in die HPLC-Apparatur appliziert, aufgetrennt und quantifiziert, da Vorversuche gezeigt hatten, dass der Verlust an Nucleinsäuren nach zwölf Stunden bei allen drei Nucleinsäurestandards unter 5 % lag.

4.2.3 HPLC-Messung

Der Aufbau der HPLC-Apparatur ist schematisch in Abb. 6 dargestellt. Nach der Entgasung der Eluenten mit Helium wurden die Eluenten entsprechend dem eingestellten Gradienten durch die Vor- und Trennsäule gepumpt. Die Proben im Autosampler wurden über einen Injektor auf die Trennsäule appliziert.

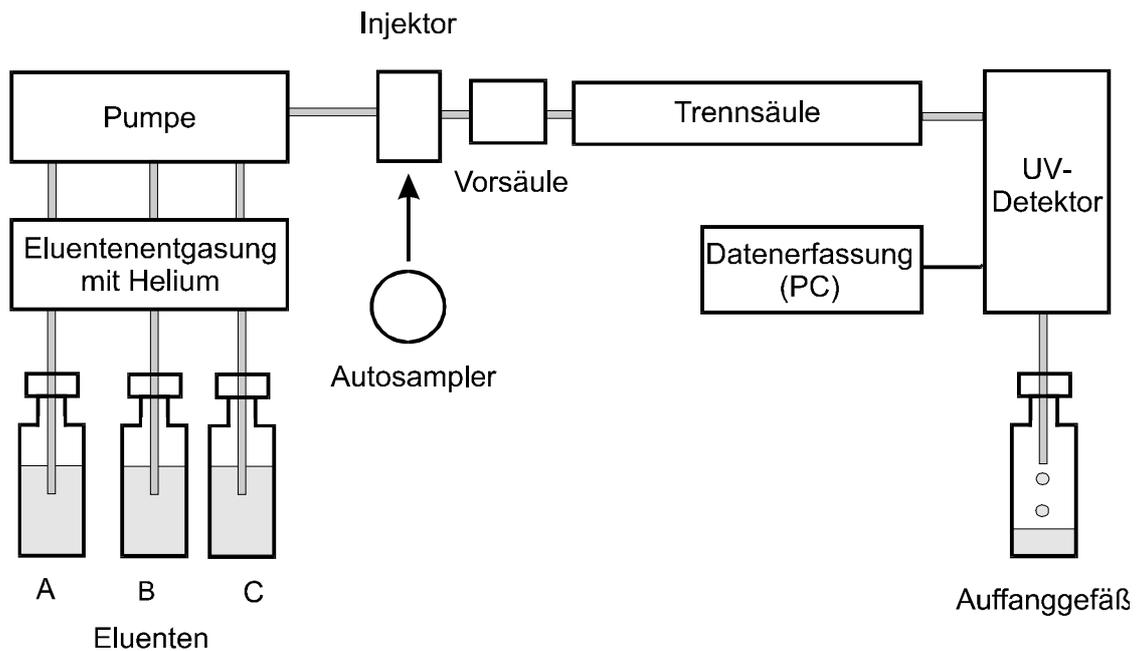


Abb. 6: Schematischer Aufbau der HPLC-Apparatur zur Nucleinsäurebestimmung.

Die Biomoleküle wurden dann mittels Anionenaustauschchromatographie aufgetrennt. Das Kieselgel der Trennsäule ist mit positiv geladenem Diethylaminoethanol (DEAE) beschichtet. An dieses DEAE adsorbieren die negativ geladenen Phosphatgruppen der Nucleinsäuren. Jede Nucleinsäure und jedes andere Molekül wird bei seiner charakteristischen Ionenstärke vom DEAE desorbiert. Für die Ablösung der Moleküle ist die KCl-Konzentration und der pH-Wert entscheidend. Mit Hilfe des KCl-Gradienten werden positiv oder leicht negativ geladene Moleküle wie Proteine, Polysaccharide, Farbstoffe u. a. früh von der Trennsäule eluiert. Die stark negativ geladenen Nucleinsäuren eluieren erst spät bei hohen KCl-Konzentrationen. Nach der Ablösung wird jedes Molekül mit einem UV-Detektor bei einer Wellenlänge von 260 nm (Nucleinsäuren) und 280 nm (Zur Erfassung von Verunreinigungen durch Proteine) quantifiziert. Die Daten wurden mit einem Personalcomputer erfasst.

Aufgrund der korrosiven Wirkung von EDTA, Kaliumchlorid und Harnstoff wurde ein mit Titan beschichtetes HPLC-System und eine mit Teflon (Polytetrafluorethylen, PTFE) be-

schichtete Trennsäule eingesetzt. Die HPLC-Apparatur bestand aus folgenden Einzelbausteinen:

HPLC-System:	Hewlett-Packard 1050 Titan mit quaternärer Pumpe (Hewlett-Packard, Avondale, PA, USA)
UV-Detektor:	Hewlett-Packard 1050, Multiple Wavelength Detector
Vorsäule:	KS 30/4 NUCLEOGEN [®] , Macherey-Nagel, Düren
Trennsäule:	VA 125/6 NUCLEOGEN [®] 4000-7 DEAE, Macherey-Nagel
Software:	HPLC 2D ChemStation Rev. A.03.03, Hewlett-Packard 1990-1995 (für die Datenerfassung) HP ChemStation for LC Rev. A.06.03 [509], Hewlett-Packard 1990-1998 (für die Datenauswertung).

Für die Auftrennung der Nucleinsäuren mit der HPLC wurde die von DELL'ANNO et al. (1998) angegebene Eluentenzusammensetzung verwendet:

Eluent A:	300 g Harnstoff (= 5,0 M)
	1,361 g KH ₂ PO ₄ (= 0,1 M)
	1,742 g K ₂ HPO ₄ (= 0,1 M)
Eluent B:	Eluent A + 112 g KCl (= 1,5 M)
Eluent C:	0,01 % NaN ₃

Die Chemikalien für die Eluenten A, B und C wurden in DEPC-H₂O gelöst und auf 1000 ml aufgefüllt. Die Eluenten A und B wurden mit H₃PO₄ auf pH 6,90 eingestellt. Der pH-Wert der Eluenten A und B wurde alle zwei Tage kontrolliert und gegebenenfalls neu eingestellt. Vor der Verwendung der Eluenten wurden diese über eine 0,45 µm Nylonmembran (Osmonics, Minnetonka, MN, USA) filtriert. Für die Probenanalyse wurden die in Tab. 5 beschriebenen Gradienten verwendet.

Tab. 5: HPLC-Gradienten für die Probenanalyse.

Gradient	Zeit [min]	Flussrate [ml/min]	Puffer A [%]	Puffer B [%]	Puffer C [%]
A	Start	0	0	0	100
	1,25	1,6	0	0	100
	3,00	1,6	0	100	0
	4,20	1,6	0	100	0
	4,50	1,6	0	0	100
	10,00	1,6	0	0	100
	B	Start	1,6	0	0
0,32		1,6	0	0	100
0,63		1,6	85	15	0
6,25		1,6	85	15	0
18,75		1,6	0	100	0
18,95		1,6	0	100	0
19,00		1,6	0	0	100
C	23,00	1,6	0	0	100
	Start	1,6	0	100	0
	3,00	1,6	0	100	0
	4,50	1,6	0	0	100
	11,00	1,6	0	0	100
	12,50	0	0	0	100

Vor der Probeninjektion wurde die Trennsäule mit dem Gradienten A equilibriert (siehe Tab. 5). Nach dem Equilibrieren wurden 100 µl Probe injiziert und Gradient B eingestellt. Nach der Messung der Nucleinsäuren wurde zum Reinigen der Trennsäule Gradient C eingestellt. Die Messdauer für eine Probe betrug etwa 46 Minuten.

Die Reinigung und Lagerung der Trennsäule erfolgte nach den Angaben des Herstellers (MACHEREY-NAGEL).

4.2.4 Kalibrierung und Wiederfindungsraten

Für die Kalibrierung des HPLC-Systems wurden Nucleinsäurestandards des Bakteriums *Escherichia coli* (*E. coli*) verwendet:

DNA (type VIII)

E. coli Stamm B (Sigma Chemical, St. Louis, RO, USA; D-2001, Lot 39H4101)

rRNA

E. coli Stamm W (Sigma Chemical, St. Louis, RO, USA; R-7628, Lot 117H7802)

tRNA (type XX)

E. coli Stamm W (Sigma Chemical, St. Louis, RO, USA; R-1753, Lot 79H7490)

Die Nucleinsäuren wurden mit einer Mikrowaage (Sartorius BP 211D; Sartorius, Göttingen) abgewogen und in Tris-HCl-Lysispuffer gelöst. Im Gegensatz zu den RNAs ist die DNA schwer löslich und wurde durch vorsichtiges Rühren während mehrerer Stunden bei Raumtemperatur in Lösung gebracht. Die Kalibrierlösungen wurden in Kryogefäßen bei -80°C tiefgefroren und nach Bedarf für neue Kalibrierungen verwendet.

Vor der Verwendung wurden die Kalibrierlösungen mit Tris-HCl-Lysispuffer verdünnt und analog zu den Proben, wie in Kap. 4.2.2 beschrieben, aufgearbeitet. Die Peakintegration erfolgte manuell im Integriermodus „Valley-to-Valley“. Die Nucleinsäurekonzentration der Proben wurde folgendermaßen berechnet:

$$\text{Nucleinsäurekonzentration} = \frac{P[\mu\text{g}] \cdot V[\text{ml}]}{J[\text{ml}] \cdot E[\text{g}]} \quad [\mu\text{g/g TG}] \quad (\text{Glg. 5})$$

- P Detektierte Nucleinsäuremenge (Umrechnung mittels Kalibrierung)
- V Extraktionsvolumen (1,0 ml)
- J Injizierte Probemenge (0,1 ml)
- E Einwaage, Sandtrockengewicht (0,4 g)

Der DNA-Gehalt wurde bei den Untersuchungen als Parameter für die mikrobielle Biomasse verwendet. Der RNA-Gehalt, die Summe aus tRNA und rRNA, wurde als Parameter für die absolute mikrobielle Bioaktivität verwendet. Die relative mikrobielle Bioaktivität wurde aus dem Verhältnis von RNA-Konzentration zu DNA-Konzentration der entsprechenden Probe berechnet und als RNA/DNA-Verhältnis bezeichnet.

Um die Peaks eindeutig den Nucleinsäuren zuschreiben zu können, wurde das Filtermaterial aus den Säulenversuchen und dem Retentionsbodenfilter Langenalb mit Nucleasen versetzt, welche die Nucleinsäuren enzymatisch abbauen. Zum Abbau der DNA wurden 1,5 mg DNase II (Art.-Nr. 6648.1; Carl Roth, Karlsruhe) in einem Tris-HCl-Lysispuffer (Tris-HCl-Lysispuffer ohne EDTA und SDS, pH 4,5) gelöst und zur jeweiligen Sandprobe (0,4 g) hinzugegeben. Für den Abbau der RNA wurde 1,5 mg RNase (Art.-Nr. 1.24570.0250; Merck, Darmstadt) in einem Tris-HCl-Lysispuffer (Tris-HCl-Lysispuffer ohne EDTA und SDS, pH 8,0) gelöst und zur jeweiligen Sandprobe (0,4 g) hinzugegeben. Nach der Ultraschalldeintegration wurden die Proben zum Abbau der Nucleinsäuren für 60 min (DNase II) bzw. für

30 min (RNase) im Wasserbad bei 30 °C inkubiert und anschließend, wie in Kap. 4.2.2 beschrieben, weiter aufgearbeitet.

Um zu untersuchen, in welchem Maße die extrahierten Nucleinsäuren an das Filtermaterial adsorbieren, wurde die Wiederfindung von zu den Proben zudotierten Nucleinsäuren ermittelt. Dazu wurden geglühte (1 Stunde bei 550 °C) und ungeglühte Sande der Sandsäulen und des RBFs Langenalb aus unterschiedlichen Filtertiefen untersucht. Die geglühten und ungeglühten Sande wurden mit etwa der doppelten Menge der normalerweise zu erwartenden Nucleinsäuremenge versetzt. Die Zudotierung erfolgte mit den oben angegebenen Nucleinsäurestandards. Die Proben wurden wie in Kap. 4.2.2 beschrieben aufgearbeitet.

Bei den geglühten Sanden wurde jeweils eine Messung durchgeführt. Bei den ungeglühten Sanden wurden jeweils drei (Sand ohne zudotierte Nucleinsäuren) bzw. vier (Sand mit zudotierten Nucleinsäuren) Parallelmessungen zur Ermittlung der mittleren Nucleinsäurekonzentration durchgeführt.

4.3 Säulenversuche

4.3.1 Filtermaterial und Abwässer

Verwendete Sandsäulen

Für den Bau der Sandsäulen wurde inertes Plexiglas verwendet. Die Filter bestanden aus einem 1 m langen Plexiglasrohr, in dem sich das Filtermaterial befand. Ein zweites Plexiglasrohr war für die Abwasserbeaufschlagung notwendig und wurde über einen Flansch fest mit dem ersten Plexiglasrohr verschraubt (Abb. 7; Anhang 1, 2).

Die Randeffekte in Filterrohren können vernachlässigt werden, wenn folgende empirische Bedingung (HILL 1983) erfüllt ist:

$$D \geq 50 d \quad (\text{Glg. 6})$$

D Durchmesser des Filterrohres [mm]

d Durchmesser der auf die Kugelform reduzierten Kornfraktion [mm]

Bei einem Filtermaterial mit einem Durchmesser von etwa 2 mm ist ein Mindestdurchmesser des Filterrohres von 100 mm erforderlich. Für die Sandsäulen wurde ein Innendurchmesser von 190 mm gewählt.

Zum Schutz vor Auswaschung und Umlagerung des Filtermaterials wurde am Ablauf eine Plexiglas-Lochscheibe eingebracht. Die etwa 85 cm mächtige Sandschicht wurde von unten und oben mit einer Kiesschicht von 8 bzw. 4 cm vor Auswaschungen und Umlagerungen geschützt (siehe Abb. 7). Zusätzlich wurde bei der Abwasserbeaufschlagung eine Plexiglas-Lochscheibe (siehe Anhang 2) als Filterbrause in die Filterrohre eingehängt, um eine Umlagerung des Filtermaterials beim Aufprall des Abwassers zu verhindern.



Abb. 7: Sandsäulen in der Klimakammer. Die untere und die obere Kiesschicht dienen dem Schutz der Sandschicht.

Verwendetes Filtermaterial

Die Auswahl des Filtermaterials erfolgte nach den allgemein gültigen Empfehlungen für den Bau von Bodenfiltern bzw. Pflanzenbeeten (ATV 1998b; LFU 2002). Es wurde ein 0/2 Rheinsand und ein 8/16 Rheinkies in die Filter eingebaut (Erndwein & Dreher, 76344 Eggenstein-Leopoldshafen). Der Sand bestand überwiegend aus Mittelsand (Abb. 8). Die Kornfraktion $> 2,0$ mm im Sand wurde nach einer Trocknung bei 105 °C durch nachträgliches Sieben entfernt. Die Ton- und Schluffanteile lagen deutlich unter 1 %.

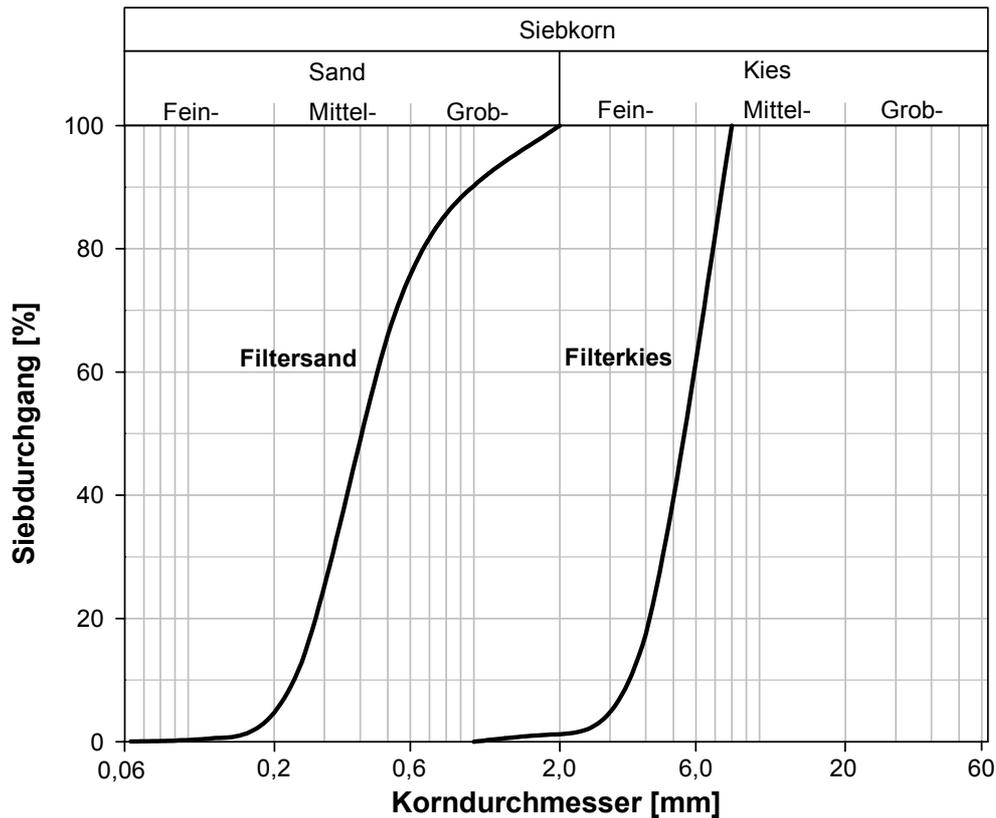


Abb. 8: Kornzusammensetzung des verwendeten Filtermaterials.

Einbau des Filtermaterials

Der Kies und der Sand wurden mit demineralisiertem Wasser befeuchtet, durchmischt und erdfeucht in die Plexiglasröhre eingebaut. Mit einer Plexiglasplatte wurde die eingebrachte Sandschicht in Abständen von 5-10 cm sorgfältig verdichtet. Vor dem Aufbringen der oberen Kiesschicht wurde die Sandsäule von unten langsam mit demineralisiertem Wasser befüllt, damit sich der Sand setzen konnte. Nachdem sich der Sand gesetzt hatte, wurde nochmals mit Sand und abschließend mit Kies aufgefüllt. Insgesamt wurde in jeden Filter eine etwa 85 cm mächtige Sandschicht eingebracht (etwa 39 kg Sand). Nach dem Ablassen des demineralisierten Wassers wurde jeder Filter zweimal mit 8,5 l demineralisiertem Wasser beaufschlagt, um Schmutzpartikel auszutragen. Im Anschluss daran begann die Beaufschlagung mit dem jeweiligen Abwasser.

Die Porosität des verdichteten Sandes in den Filtern betrug etwa 28 % und die ursprüngliche hydraulische Leitfähigkeit lag bei ca. $7 \cdot 10^{-4}$ m/s (berechnet anhand der Hazen-Formel, vgl. LFU 2002).

Verwendete Abwässer

Neben zwei verschiedenen künstlichen Abwässern wurde ein kommunales Abwasser und demineralisiertes Wasser als Kontrolle verwendet. Aus Gründen der Reproduzierbarkeit wurde für die Herstellung und Verdünnung der Abwässer demineralisiertes Wasser verwendet. Um eine mangelnde Versorgung der Mikroorganismen mit Spurenstoffen auszuschließen, wurde dem demineralisierten Wasser eine Spurenelementlösung zugegeben (Tab. 6).

Tab. 6: Zusammensetzung der Spurenelementlösung (aus SCHLEGEL 1992).

Komponente	Menge
ZnCl ₂	70 mg
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	100 mg
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	200 mg
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	100 mg
CuCl ₂ · 2 H ₂ O	20 mg
NaMoO ₄ · 2 H ₂ O	50 mg
Na ₂ SeO ₃ · 5 H ₂ O	26 mg
HCl (25 %)	1 ml
In demineralisiertem Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.	

Das künstliche Mischwasser (KMW-Abwasser) entspricht in seiner Zusammensetzung, hinsichtlich der CSB-Konzentration, in etwa der eines realen Mischwassers (ATV 1992). Als einzige Kohlenstoffquelle enthält dieses Abwasser Glucose (Tab. 7). Aufgrund der sehr speziellen Zusammensetzung ist dieses Abwasser besonders selektiv, d. h. es können nur ganz bestimmte Mikroorganismen wachsen.

Tab. 7: Zusammensetzung des künstlichen Mischwassers (verändert und ergänzt; aus SCHLEGEL 1992).

Komponente	Menge
K ₂ HPO ₄	7,0 mg
NH ₄ Cl	8,4 mg
NaNO ₃	5,2 mg
KNO ₂	1,2 mg
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	2,0 mg
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	0,1 mg
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	0,1 mg
Glucose	100 mg
Spurenelementelösung	2,0 ml
In demineralisiertem Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.	

Das OECD-Abwasser ist ein komplexes Standardabwasser, da es nicht genau definierbare Bestandteile wie Pepton oder Fleischextrakt enthält (Tab. 8). Es ist aufgrund der komplexeren Zusammensetzung am besten mit einem realen Abwasser vergleichbar. In dieser Abwasser-Nährlösung kann ein breites Spektrum an Mikroorganismen wachsen. Auch Mikroorganismen mit anspruchsvollen Nährstoffbedingungen können sich vermehren.

Tab. 8: Zusammensetzung des OECD-Abwassers (OECD 1981).

Komponente	Menge
Pepton aus Fleischextrakt	160 mg
Fleischextrakt	110 mg
Harnstoff	30 mg
K ₂ HPO ₄	28 mg
NaCl	7 mg
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	4 mg
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	2 mg
Spurenelementelösung	2 ml
In demineralisiertem Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.	

Bei dem realen Mischwasser (RMW-Abwasser) handelte es sich um Abwasser der Kläranlage Karlsruhe-Neureut, das nach dem Sandfang entnommen wurde. Nach einer Absetzzeit von 1 Stunde bei 4 °C im Kühlschrank wurde das Abwasser zur Verwendung als Mischwasser zehnfach mit demineralisiertem Wasser verdünnt. Das zugegebene demineralisierte Wasser

wurde zuvor so temperiert, dass die Abwasser- und Filtertemperaturen identisch waren. In der Tab. 9 sind die wesentlichen Merkmale der eingesetzten Abwässer zusammengefasst.

Tab. 9: Merkmale der verwendeten Abwässer.

Parameter	Kontrolle (H ₂ O _{demin.})	KMW- Abwasser	OECD- Abwasser	RMW- Abwasser
CSB _{ges} [mg O ₂ /l]	2	100	240	34
CSB _{gel} [mg O ₂ /l]	2	100	240	19
CSB _{part} [mg O ₂ /l]	0	0	0	15
BSB ₅ [mg O ₂ /l]	n. b.	54	184	32
AFS [mg/l]	0	0	0	37,0
Partikel [1/ml]	0	0	0	3,1·10 ⁶
KBE [1/ml]	1,8·10 ³	2,8·10 ³	2,8·10 ³	n. b.
Freies NH ₄ -N [mg/l]	n. n.	1,6	1,6-11,6	2,7
Freies NO ₂ -N [mg/l]	n. n.	0,1	0	0
Freies NO ₃ -N [mg/l]	n. n.	0,2	0,1	0,1
DNA [µg/l]	n. n.	n. n.	n. n.	n. b.
RNA [µg/l]	n. n.	n. n.	n. n.	n. b.

Inokulum

Bei dem Inokulum handelte es sich um kommunales Abwasser der Kläranlage Karlsruhe-Neureut nach dem Sandfang. Es wurde bei der ersten Beaufschlagung 8,5 ml Inokulum zum jeweiligen Abwasser hinzugegeben (Tab. 10). Das Inokulum wurde hinzugegeben, um die Sandfilter mit Abwasser-Mikroorganismen anzupflanzen. Damit sollte gewährleistet sein, dass sich eine typische Abwasserbiozönose ausbildet.

4.3.2 Durchführung von Säulenversuch 1 und 2

Beide Säulenversuche wurden in dunklen Räumen durchgeführt, um das Wachstum von phototrophen Mikroorganismen zu verhindern. Jede Sandsäule wurde innerhalb von 60 s mit 8,5 l (entspricht 300 mm) des jeweiligen Abwassers beaufschlagt. Nach dem das Abwasser durch die jeweilige Sandsäule durchgesickert war, fiel diese bis zur nächsten Beaufschlagung für 2-3 Tage trocken. Die detaillierten Versuchsbedingungen sind in Tab. 10 aufgeführt.

Säulenversuch 1

Der Säulenversuch 1 wurde während des 95 Tage dauernden Versuchs bei Raumtemperatur durchgeführt ($21,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$; N = 33). Insgesamt wurden 33 Beaufschlagungen im Abstand von 2-3 Tagen durchgeführt, wobei die dreitägigen Beaufschlagungsintervalle überwogen

(Beaufschlagungshäufigkeit: 0,36 Beaufschlagungen/Tag). Die Abwässer wurden vor jeder Beaufschlagung frisch hergestellt. Die Tab. 10 zeigt, wie die vier Sandsäulen angeimpft und beaufschlagt wurden.

Tab. 10: Verwendete Abwasserart und Beaufschlagungsmodus bei den Sandsäulen im Überblick.

Säulenversuch Filterbezeichnung	Beaufschlagungen	Beaufschlagungspausen und nochmalige Beaufschlagung
Säulenversuch 1		
Kontroll(-)*-Filter (H ₂ O _{demin.})	33	-
KMW(-)-Filter	33	-
KMW(+)*-Filter	33	-
OECD(+)-Filter	33	-
Säulenversuch 2		
OECD(+)-Filter 1	36	-
OECD(+)-Filter 2	36	-
OECD(+)-Filter 3	27	3 Wochen
OECD(+)-Filter 4	28	3 Wochen + 1
RMW(+)-Filter 1	36	-
RMW(+)-Filter 2	36	-
RMW(+)-Filter 3	27	3 Wochen
RMW(+)-Filter 4	28	3 Wochen + 1

* (-): Filter nicht angeimpft; (+): Filter angeimpft

Säulenversuch 2

Für den Säulenversuch 2 wurde die Temperatur während des 88 Tage dauernden Versuchs in einer Klimakammer (Sonderklimaraum Phytokammer, York, Mannheim; Klimasteuerung: Tecon/VisiTEC, Version 2300-001.1, Tecon, Oberuzwil, CH) variiert. Im ersten Versuchsabschnitt betrug die Temperatur konstant 20 °C bei einer Luftfeuchtigkeit von 50 %. Nach 69 Versuchstagen wurde die Temperatur, innerhalb eines Tages, von 20 °C auf 4 °C abgesenkt, so dass vom 70. Versuchstag bis zum Versuchsende die Temperatur 4 °C betrug bei einer Luftfeuchtigkeit von 80 %. Aufgrund der niedrigeren Temperatur konnte gerätetechnisch keine geringere Luftfeuchtigkeit erreicht werden.

Insgesamt wurden 36 Beaufschlagungen im Abstand von 2-3 Tagen durchgeführt, wobei die zweitägigen Beaufschlagungsintervalle überwogen (Beaufschlagungshäufigkeit: 0,42 Beaufschlagungen/Tag). Das OECD-Abwasser wurde in Form von Gefrierkonzentraten vor

Beginn des Säulenversuchs 2 hergestellt. Die acht Sandsäulen wurden wie in Tab. 10 angeimpft und beaufschlagt.

4.3.3 Hydraulische Leitfähigkeit und Standardanalytik

Berechnung der hydraulischen Leitfähigkeit

Da die Berechnung der hydraulischen Leitfähigkeit in der ungesättigten Bodenzone schwierig ist, wurde für die Säulenversuche die Änderung der hydraulischen Leitfähigkeit, bezogen auf die ursprüngliche hydraulische Leitfähigkeit (1. Beaufschlagung mit Abwasser), indirekt berechnet. Nach der Beaufschlagung von 8,5 l Abwasser wurde die Zeit bestimmt, die benötigt wurde, um den Auffangbehälter mit 5,0 l des Abwassereluats zu füllen.

$$\Delta k_{\text{ungesättigt}} = k_{(t) \text{ ungesättigt}} / k_{(0) \text{ ungesättigt}} [\] \quad (\text{Glg. 7})$$

$\Delta k_{\text{ungesättigt}}$	Relative Änderung der ungesättigten hydraulischen Leitfähigkeit []
$k_{(t) \text{ ungesättigt}}$	Ungesättigte hydraulische Leitfähigkeit bei der Beaufschlagung zum Zeitpunkt t [m/s]
$k_{(0) \text{ ungesättigt}}$	Ungesättigte hydraulische Leitfähigkeit bei der ersten Beaufschlagung [m/s]

Standardanalytik

Da sich die Qualität des Eluats im zeitlichen Verlauf verändert, wurden für die Abwasseranalytik jeweils die ersten 5,0 l Eluat als Mischprobe analysiert. Folgende Parameter wurden dabei berücksichtigt:

- Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB): Analog zum Verfahren DIN 39409 H 41-1 (Eluat) bzw. DIN 38414-S9 (Filtermaterial), jedoch photometrische Bestimmung des nicht oxidierten Kaliumdichromats (CSB-Nanocolor-Küvettest Macherey-Nagel, Düren). Zur Bestimmung des gelösten CSB-Anteils wurden Glasfaserfilter (Nr. 6; Schleicher & Schuell, Einbeck) verwendet.
- Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs in fünf Tagen (BSB₅) mit dem Oxi Top (WTW, Weilheim) nach DIN 3809 T51-52.
- Bestimmung des Ammoniumgehalts (NH₄-N): DIN 38406 E 5-1.
- Bestimmung des Nitritgehalts (NO₂-N): DIN 38405 D 10.
- Bestimmung des Nitratgehalts (NO₃-N): DIN 38405 D 9-2.
- Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs (TKN): DIN EN 25663-H 11.
- Bestimmung des pH-Werts: Universal-Taschenmessgerät MultiLine P4, pH-Einstabmesskette SenTix 41 (WTW, Weilheim).

- Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe (AFS): DIN 38 409 H 2-2.

Beim Filtermaterial wurde der CSB- und der TKN-Wert von 30 g Probenmaterial anhand der oben aufgeführten Vorschriften bestimmt.

4.3.4 Koloniebildende Einheiten (KBE) und Partikelmessung

Bei den koloniebildenden Einheiten (KBE) handelt es sich um eine Zahl an heterotrophen Mikroorganismen, die in der Lage sind, auf einem definierten festen Nährboden nach Bebrütung mit dem Binokular sichtbare Kolonien zu bilden (OBST et al. 1990; SCHLEGEL 1992). Zum besseren Vergleich mit dem Biomasseparameter DNA werden die KBE auch als „heterotrophe aktive Biomasse“ bezeichnet. Da sich die Kulturbedingungen sehr selektiv auf die Mikroorganismen auswirken, werden nur etwa 0,1 % bis 10 % der mikrobiellen Gesamtbesiedlung erfasst (PREUB & HUPFER 1998). Weitere Einzelheiten zur Ermittlung der KBE können den Arbeiten von PREUB & HUPFER (1998) und BAST (2001) entnommen werden.

Der KBE-Rückhalt in den Filtern des Säulenversuchs 1 wurde alle zwei Wochen durch Messungen der KBE-Zahl in den Eluaten untersucht. Um ein stoffwechselphysiologisch breites Spektrum an Mikroorganismen zu erfassen, wurden drei verschiedene Nährböden (Deutsches Einheitsverfahren (DEV)-, KMW- und OECD-Agar) mit jeweils drei Parallelmessungen verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Nährstoffpräferenzen der Mikroorganismen konnten mit Hilfe verschiedener Nährböden Veränderungen in der Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen erfasst werden. Die Änderungen in der Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen werden im Folgenden auch als mikrobielle Sukzession bezeichnet. Für die Berechnung der KBE-Zahl wurden die Mittelwerte verwendet. Parallel hierzu wurde die Partikelgrößenverteilung in den Eluaten gemessen. Damit sollte überprüft werden, ob lediglich einzelne Zellen oder größere Biofilmenteile ausgetragen werden. Am Ende des Säulenversuchs 1 wurde das Filtermaterial aus unterschiedlichen Tiefenstufen entnommen und die KBE-Zahl ermittelt.

Eluate

Für die Ermittlung der KBE wurden 5,0 l des Eluats mit autoklavierten Silikonschläuchen und Auffangbehältern aseptisch gesammelt. Bis zum Beimpfen der Nährböden, die wenige Stunden nach der Probenahme erfolgte, wurden die Proben bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Verdünnungsreihen wurde das jeweilige frisch hergestellte Abwasser autoklaviert und verwendet. Um die mikrobielle Sukzession der Abwasserbiozönose und die

Selektivität des jeweiligen Nährmediums beurteilen zu können, wurden drei verschiedene Agarplatten eingesetzt:

1. DEV-Nähragar gemäß DIN 38411, Teil 6 (Merck)
2. OECD-Nähragar (1,0 l OECD-Abwasser + 14,0 g Agar-Agar)
3. KMW-Nähragar (1,0 l KMW-Abwasser + 14,0 g Agar-Agar).

Diese Nährmedien wurden eingesetzt, um die stoffwechselphysiologischen Eigenschaften und Veränderungen der ausgeschwemmten Mikroorganismen besser beurteilen zu können.

Alle aseptischen Arbeiten wurden in einer Reinraum Werkbank (Vertical-Flow-System Typ ET 130/V; Ehret, Emmendingen) durchgeführt. Für jede Verdünnungsstufe wurden drei Parallelen beimpft. Die Inkubation erfolgte *in situ* bei ca. 22 °C. Nach sieben Tagen wurden die Kolonien unter einem Binokular (Zeiss Stemi DRC; Zeiss, Jena) bei zehnfacher Vergrößerung ausgezählt.

Filtermaterial

Die Herstellung einer Sedimentsuspension aus dem Filtermaterial erfolgte nach PREUB & HUPFER (1998). Dazu wurden 20 g des Filtermaterials in sterile Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 50 ml des entsprechenden frischen und autoklavierten Abwassers versetzt. Diese Sedimentsuspension wurde auf einem Schüttler mit Kreisbewegung (Gerhardt RO 500, Gerhardt, Bonn) bei 130 Umdrehungen/min für 30 min geschüttelt. Die Suspension wurde eine Minute zum Sedimentieren ruhiggestellt. Danach wurden aus dem Überstand die Proben für die Verdünnungsreihen mit jeweils drei Parallelbestimmungen entnommen und auf DEV-Nähragar ausplattiert. Aufgrund der unterschiedlichen Wassergehalte des Filtermaterials wurden die KBE auf das Sandtrockengewicht bezogen.

Partikelmessung

Die Partikelanzahl und die Partikelgrößenverteilung wurden bei den Säulenversuchen mit den Eluaten der 5,0 l-Mischprobe bestimmt. Ziel der Eluatmessungen war es, die Partikelanzahl im zeitlichen Verlauf beurteilen zu können. Zusätzlich konnte mit der Partikelmessung die Größe der ausgetragenen Partikel erfasst werden.

Die Partikelanzahl und die Partikelgrößenverteilung wurden mit dem Laser-Partikelmessgerät GALAI CIS-1 (L.O.T., Darmstadt) bestimmt. Die Proben wurden innerhalb eines Tages nach der Probenahme gemessen und bis zur Analyse bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Der gerätetechnisch erfassbare Größenbereich liegt zwischen 0,1–150 µm. Jede Probe wurde

entsprechend mit Leitungswasser verdünnt, um ein Platzen von Zellen zu verhindern, zweimal bei mittlerer Magnetrührergeschwindigkeit gemessen und daraus der Mittelwert gebildet.

4.3.5 Dehydrogenaseaktivität

Die Nicotinamidadenindinucleotid (NAD^+)-abhängigen Dehydrogenasen sind an der Energiegewinnung der Zellen beteiligt (z. B. Glykolyse, Tricarbonsäure-Zyklus) und somit ein Maß für die Sauerstoffkonsumptionsrate bzw. Stoffwechselaktivität der Zellen.

Bei der Messung der Dehydrogenaseaktivität wird anstelle des natürlichen Coenzym ein synthetisches Coenzym-Analogon, das 2-(4-Iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyltetrazoliumchlorid, oder kurz Iodnitrotetrazoliumchlorid (INT), verwendet. Dieses farblose INT wird durch die Übertragung von Reduktionsäquivalenten (Elektronen) zu einem tiefroten Iodnitrotetrazoliumviolett-Formazan (INF) reduziert. Dieser rote Farbstoffkomplex wird dann photometrisch erfasst. Die Herstellung der Lösungen und der Nachweis der Dehydrogenaseaktivität erfolgte wie in OBST et al. (1995) und MARXEN et al. (1998) beschrieben:

Phosphatpuffer-Lösung:

7,1 g Kaliumdihydrogenphosphat werden in 400 ml demineralisiertem Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit Phosphorsäure bzw. Natronlauge auf 7,5 eingestellt, danach wird die Lösung mit demineralisiertem Wasser auf 500 ml aufgefüllt.

ETS-B-Lösung:

9,25 mg Magnesiumsulfat, 750 mg Polyvinylpyrrolidon und 1 g Triton X 100 werden 400 ml Phosphatpuffer (0,1 mol/l; pH 7,5) zugesetzt. Der pH-Wert wird überprüft, danach wird die Lösung mit Puffer auf 500 ml aufgefüllt.

ETS-Substrat-Lösung:

50 mg der reduzierten Form des Nicotinamidadenindinucleotidphosphats (NADPH), 290 mg der reduzierten Form des Nicotinamidadenindinucleotids (NADH) und 0,92 g Triton X 100 werden in 460 ml Phosphatpuffer gelöst und direkt verwendet.

INT-Lösung:

200 mg Iodnitrotetrazoliumchlorid werden in 100 ml demineralisiertem Wasser gelöst. Die Substanz ist langsam löslich; die fertige Lösung wird kühl und lichtgeschützt aufbewahrt.

INT-Formazan-Stammlösung:

5 mg Iodnitrotetrazoliumviolett-Formazan werden in 100 ml Toluol gelöst.

Quench-Lösung:

Mit demineralisiertem Wasser wird eine Phosphorsäure-Lösung (1 mol/l) hergestellt.

Neben der mikrobiellen gibt es auch eine sandbürtige INT-Reduktion. Zuerst wurde die Gesamtreduktion erfasst und diese von der sandbürtigen Reduktion subtrahiert, um daraus die mikrobienbürtige INT-Reduktion zu erhalten. Zur Erfassung der sandbürtigen Reduktion wurden die Sandproben vor der Weiterbehandlung für 25 Minuten autoklaviert.

Zur Erfassung der INT-Reduktion wurden 10 g Sand in einem Zentrifugenröhrchen mit 20 ml ETS-B-Lösung versetzt und mit dem Ultraschalldesintegrator (Vibra cell 130; SONICS, Newtown, CT, USA) bei einer Frequenz von 50 kHz und 10 Output-Watt mit einer 2 mm-Mikrosonde für 60 Sekunden desintegriert. Anschließend wurden die Proben 10 Minuten bei 6000-facher Erdbeschleunigung (Universal 30 RF; Hettich, Tuttlingen) zentrifugiert. Für die Enzymreaktion wurden für drei Parallelproben jeweils 1 ml vom Überstand entnommen und mit 3 ml ETS-Substratlösung und 1 ml INT-Lösung versetzt und kurz mit dem Reagenzglasschüttler durchmischt. Die Inkubation erfolgte bei 37 °C für 20 Minuten im Wasserbad. Die starke Rotfärbung zeigte an, dass eine Inkubationszeit von 20 Minuten ausreichend war. Nach der Inkubation wurden die Ansätze sofort mit 1 ml Quench-Lösung gestoppt, um eine weitere INT-Reduktion zu verhindern. Die Proben wurden bei 490 nm im Photometer (UV/VIS Spektrometer Lambda 2; Perkin Elmer, Wellesley, MA, USA) gegen den Blindwert gemessen. Der Blindwert bestand aus 1 ml ETS-B-Lösung, 3 ml ETS-Substratlösung und 1 ml INT-Lösung und wurde analog zu den Probelösungen inkubiert und mit Quench-Lösung versetzt. Die Kalibriergerade wurde mit INT-Formazan-Stammlösung hergestellt. Zum Verdünnen der Stammlösung wurde demineralisiertes Wasser verwendet.

Die Dehydrogenaseaktivität kann als Sauerstoffbedarf der Mikroorganismen je Zeiteinheit und Probenmenge wie folgt berechnet werden (GRAF & BENGTTSSON 1984; SCHÖNBORN 1992):

$$\text{Dehydrogenaseaktivität} = \frac{A \cdot V_{\text{Reaktion}} \cdot V_{\text{Homogenat}} \cdot 60 \cdot 22,4}{V_{\text{Inkubation}} \cdot t_{\text{Inkubation}} \cdot V_{\text{Probe}} \cdot 31,8} \quad \left[\frac{\mu\text{l O}_2}{\text{h} \cdot \text{g}} \right] \quad (\text{Glg. 8})$$

A	Absorption des Reaktionsgemisches bei 490 nm in einer 1 cm-Küvette
V_{Reaktion}	Endvolumen des Reaktionsgemisches [ml] (hier: 1 ml Überstand + 3 ml ETS-Substrat + 1 ml INT + 1 ml Stopplösung)
$V_{\text{Homogenat}}$	Volumen des gesamten Homogenats [ml] (hier: Wassergehalt des Sandes + 20 ml ETS-B-Lösung)
60	Zeiteinheit für den Substratumsatz (1 h = 60 min)
22,4	2 μM INT-Formazan $\hat{=}$ 1 μM O ₂ = 22,4 μl O ₂

$V_{\text{Inkubation}}$	Inkubiertes Volumen (hier: 1 ml Überstand + 3 ml ETS-Substrat + 1 ml INT)
$t_{\text{Inkubation}}$	Tatsächliche Inkubationszeit für den Substratumsatz
V_{Probe}	Eingesetzte Probenmenge [g] (hier: 10 g)
31,8	$2 \mu\text{M INT-Formazan/ml} \hat{=} 31,8 E_{490 \text{ nm/cm}}$

Die Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität basiert auf der Annahme, dass alle respiratorischen Enzyme aus den Zellen extrahiert werden und diese während der Reaktion maximale Umsatzraten haben. Substrat und Reagenz müssen im Überschuss vorliegen, damit maximale Umsatzraten möglich sind. Mit der Dehydrogenaseaktivität wird eine maximale Umsatzrate gemessen, die größer ist als die reale Sauerstoffkonsumptionsrate, da die Enzyme *in situ* keine maximalen Umsatzraten haben. Die gemessene Dehydrogenaseaktivität ist also ein Maß für die potenzielle respiratorische Kapazität der Mikroorganismen (SCHÖNBORN 1992). Unter anoxischen oder anaeroben Bedingungen führt die Methode aufgrund einer chemischen Reduktion des Tetrazoliumsalses durch die Sandprobe und durch andere mikrobielle Stoffwechselwege zu höheren Werten als unter aeroben Bedingungen (OBST et al. 1995; MARXEN et al. 1998).

4.3.6 Mikroskopische Untersuchungen

Mit dem Lichtmikroskop (Leitz Biomed, Typ 020-507.010; Leitz, Wetzlar) wurden die nach Kap. 4.2.2 gewonnenen Proben aus dem Säulenversuch 2 und dem Anwendungsbeispiel RBF Langenalb untersucht. Die Untersuchungen wurden qualitativ durchgeführt, um Fragen bezüglich der mikrobiellen Zusammensetzung abzuklären. Es wurden Vergrößerungen von 100- bis 1000-fach verwendet.

Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM) sollte die Besiedlungsstruktur der Mikroorganismen auf den Sandkörnern des Säulenversuchs 2 und des Anwendungsbeispiels RBF Langenalb untersucht werden. Daneben sollte geklärt werden, aus welchen Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, tierische Ein- und Mehrzeller) sich die Besiedlung in den Sandsäulen zusammensetzt.

Die Probenvorbereitung und die REM-Aufnahmen wurden am Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Karlsruhe durchgeführt. Die tiefgefrorenen und gefriergetrockneten Sandkörner wurden zunächst dehydriert. Anschließend wurden die Sandkörner auf einen Aluminium-Probenteller aufgeklebt und in einem Sputtergerät zwei Minuten rotierend mit einer Gold-Palladiumschicht überzogen.

Die REM-Aufnahmen fanden am hochauflösenden Rasterelektronenmikroskop LEO 1530 Gemini (Leo Gemini, Baujahr 1998; Zeiss, Cambridge, UK) mit Schottky Feldemitter statt. Die Beschleunigungsspannung betrug 5 kV und der Arbeitsabstand lag zwischen 4 und 5 mm. Um das Filtermaterial gründlich untersuchen zu können, wurde ein breites Spektrum an Vergrößerungen, von 520- bis 7000-fach, gewählt.

4.4 Anwendungsbeispiel: Retentionsbodenfilter Langenalb

Beim untersuchten Bodenfilter handelt es sich um einen Retentionsbodenfilter (RBF) zur weitergehenden Mischwasserbehandlung. Dem RBF ist ein Regenüberlaufbecken (RÜB) der Ortschaft Langenalb (Nordschwarzwald) vorgeschaltet. In der Tab. 11 sind die wichtigsten Kenngrößen des RBFs zusammengefasst. Eine ausführliche Beschreibung des RBF Langenalb mit einer Betriebsüberwachung von Oktober 1999 bis März 2001 ist der Arbeit von FUCHS & SCHNABEL (2002) zu entnehmen.

Tab. 11: Technische Daten und stoffliche Kenngrößen des RBFs Langenalb (aus FUCHS & SCHNABEL 2002).

Technische Daten	
Filterschicht (0,9 m)	Sand 0/2
Drainageschicht (0,25 m)	Kies 0/8
Filterbepflanzung	Schilf
Filterfläche	439 m ²
Retentionsvolumen	511 m ³
Angeschlossene Einwohner	1620 EW
Stoffliche Kenngrößen (Mittlere Ereigniskonzentrationen während der Wintermonate Oktober bis März)	
AFS*	46 mg/l*
CSB _{ges}	37 mg O ₂ /l
CSB _{gel}	19 mg O ₂ /l
CSB _{part}	19 mg O ₂ /l
NH ₄ -N	1,43 mg/l
NO ₃ -N	0,93 mg/l

* Aufgrund der Streuschicht ist die tatsächliche AFS-Konzentration, die in den Sandfilter gelangt, wesentlich geringer.

Infolge von Filterkolmation musste der RBF Langenalb in den Jahren 1999, 2000 und 2001 jeweils von März bis Juni außer Betrieb genommen werden, so dass keine Mischwasserbeaufschlagungen stattfanden. Dieser Zeitraum war notwendig, um wieder eine für den Filterbetrieb ausreichende hydraulische Leitfähigkeit herzustellen.

Die erste Probenahme von Filtersand fand am 28.02.2001 statt, 19 Tage nach einer vom 03.-09.02.2001 dauernden Beaufschlagung mit einer Stapelhöhe von 17,5 m. Aufgrund der Kolmation floss das Wasser nur äußerst langsam ab. Eine frühere Beprobung war aufgrund des hohen Wassergehalts des Filtersandes nicht möglich. Zum Zeitpunkt der Probenahme befand sich eine mehrere Zentimeter dicke Schneedecke auf dem RBF. Die Filtertemperatur lag im Tagesdurchschnitt bei 2,5 °C, der Wochenmittelwert vor der Probenahme betrug 4,1 °C (SCHNABEL 2002). Nach zwei weiteren Beaufschlagungen im Zeitraum vom 03.-06.03.2001 und vom 11.-30.03.2001 mit Stapelhöhen von 5,8 m bzw. 5,9 m war der RBF, wie bereits in den Vorjahren, totalkolmatisiert und wurde außer Betrieb genommen (SCHNABEL 2002). Während der Außerbetriebnahme kam es auf dem RBF zu einer Niederschlagsmenge von 148 mm (SCHNABEL 2002).

Die zweite Probenahme fand am 22.05.2001 vor der Wiederinbetriebnahme des RBFs statt. Die Filtertemperatur lag dabei im Tagesdurchschnitt bei 15,8 °C, und der Wochenmittelwert vor der Probenahme betrug 15,7 °C (SCHNABEL 2002). Die beiden Probenahmen lagen knapp drei Monate auseinander, wobei der RBF bei der zweiten Probenahme knapp zwei Monate nicht beaufschlagt wurde.

Bei beiden Probenahmen wurden die Sandproben entlang der Filterlängsachse mit Hilfe eines Schlitzbohrers aus dem Einlaufbereich, dem mittleren Bereich und dem Ablaufbereich des RBFs entnommen. Die genaue Durchführung der Probenahme für die Nucleinsäurebestimmung ist in Kap. 4.2.2 beschrieben.

5 Ergebnisse

In Kap. 5.1 werden die Ergebnisse dargestellt, die mit der entwickelten Methode für die Nucleinsäurebestimmung erzielt wurden. Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für die molekularbiologische Bestimmung der kolmationsauslösenden Biomasse und Bioaktivität in den untersuchten Filtern.

Die Säulenversuche 1 und 2 zur mikrobiellen Kolmation (Kap. 5.2 und 5.3) werden in der Reihenfolge ihrer Durchführung beschrieben. Zunächst werden die während der Kolmation in den Filtern stattfindenden Prozesse wie Nitrifikation, CSB-Reinigungsleistung, KBE- und Partikelaustrag dargestellt. Im Anschluss daran wird die daraus resultierende Verringerung der hydraulischen Leitfähigkeit und die aus den mikrobiellen Stoffumsetzungen resultierende Verteilung der Biomasse und Bioaktivität in den Filtern aufgezeigt.

Die mittels der Nucleinsäurebestimmung ermittelten Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen im kolmatierten und dekolmatierten Retentionsbodenfilter Langenalb werden im Kap. 5.4 vorgestellt.

5.1 Nucleinsäurebestimmung

5.1.1 HPLC-Chromatogramme

In Abb. 9 ist ein typisches Chromatogramm einer Probe aus einer Sandsäule dargestellt. Zusätzlich wurde die KCl-Konzentration eingezeichnet, die für die Desorption der Biomoleküle vom Anionenaustauscher verantwortlich ist. Charakteristisch für die Chromatogramme sind die beiden Peaks innerhalb der ersten fünf Minuten, die stark von der Probenherkunft abhängig sind und beispielsweise auf Proteine, Polysaccharide und Farbstoffe zurückzuführen sind.

Bei hohen KCl-Konzentrationen desorbierten die Nucleinsäuren nach 10-17 Minuten vom Anionenaustauscher. Die Retentionszeiten für die einzelnen Nucleinsäuren variierten und waren in erster Linie vom pH-Wert der harnstoffhaltigen Eluenten abhängig. Auch die Anzahl der bereits durchgeführten Analysen beeinflusste die Retentionszeiten.

Nach der Zugabe von RNase konnten keine RNA-Peaks gefunden werden. Nach der Zugabe von DNase II waren die DNA-Peaks zwar noch ansatzweise vorhanden aber deutlich kleiner als ohne enzymatischen Abbau. Bei den ersten Versuchen, bei denen nicht RNase-frei gearbeitet wurde, war lediglich der DNA-Peak in voller Größe vorhanden. Die RNA-Peaks waren nicht oder nur ansatzweise vorhanden.

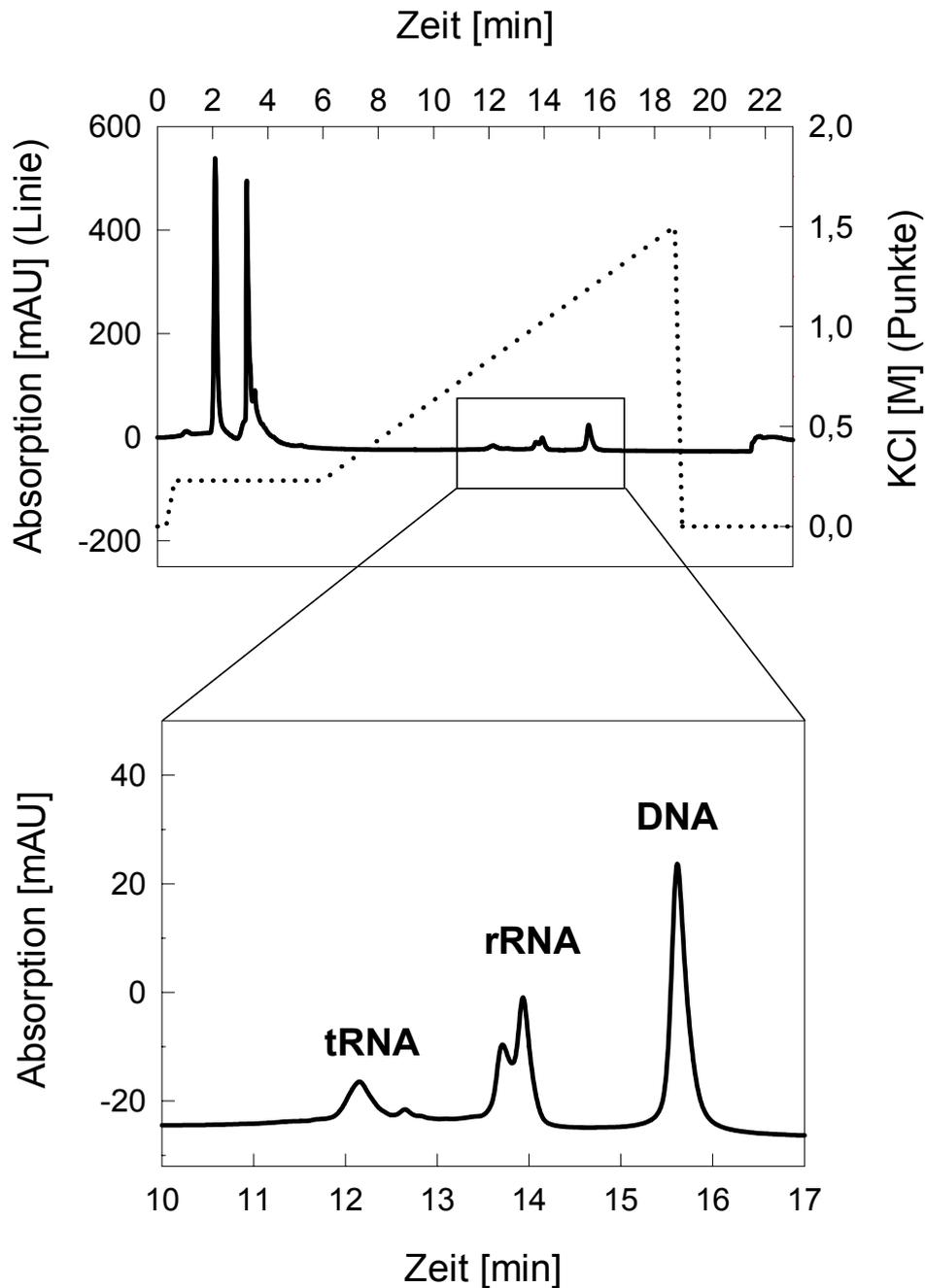


Abb. 9: Typisches HPLC-Chromatogramm einer Probe aus einer Sandsäule bei einer Wellenlänge von 260 nm. Oben: Das komplette Chromatogramm mit dem KCl-Konzentrationsverlauf. Unten: Ausschnitt aus dem Chromatogramm mit dem tRNA-, rRNA- und DNA-Peak.

Bei der stichprobenartigen Überprüfung ($N = 12$) des Reinheitsgrads der Nucleinsäuren anhand des Quotienten $E_{260\text{nm}}/E_{280\text{nm}}$ konnte für die DNA ein Wert von 2,1 und für die RNA ein Wert von 1,8 berechnet werden. Das bedeutet, dass die isolierten Nucleinsäuren frei von Verunreinigungen waren.

5.1.2 Kalibrierung und Wiederfindungsraten

Linearitätsbereiche

Die Abb. 10 zeigt den untersuchten Linearitätsbereich für tRNA, rRNA und DNA. Für die tRNA und rRNA waren die maximalen injizierten Mengen von 0-2500 ng bzw. 0-3000 ng im linearen Bereich. Für die DNA konnte bei den Vorversuchen eine Linearität von 0-40 µg DNA festgestellt werden. Auf eine gezielte Untersuchung des gesamten Linearitätsbereiches wurde aufgrund der begrenzten Beladungskapazität der Anionenaustauschersäule verzichtet.

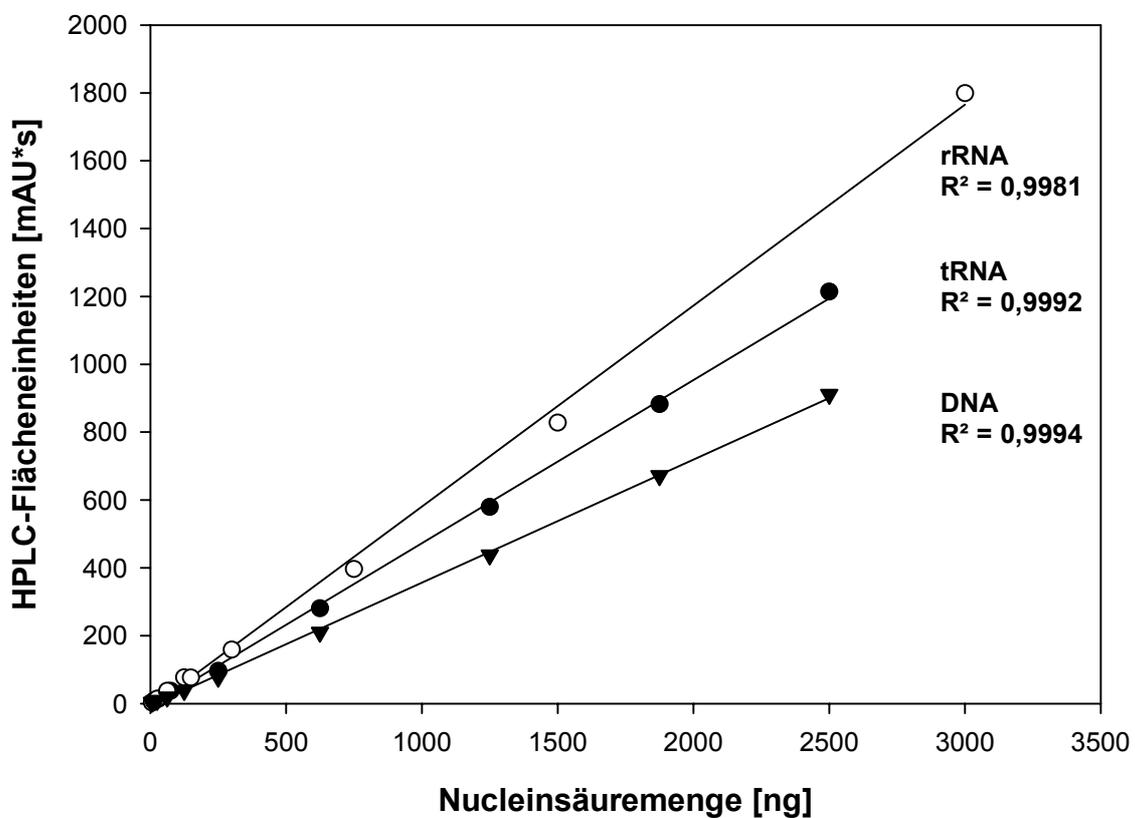


Abb. 10: Mit Nucleinsäurestandards von *E. coli* untersuchte Linearitätsbereiche für tRNA, rRNA und DNA.

Bestimmungsgrenzen

Die Bestimmungsgrenzen für tRNA, rRNA und DNA ($P = 99\%$, $N = 3$) betragen 10,8 ng, 9,1 ng und 13,3 ng. Die Messungen waren sehr gut reproduzierbar. Es musste jedoch immer wieder überprüft werden, ob keine Nucleinsäuren auf der Trennsäule zurückbleiben. Das geschieht besonders dann, wenn hohe Nucleinsäuremengen injiziert werden und tritt bevorzugt bei der DNA auf, die besonders stark an den Ionenaustauscher adsorbiert.

Wiederfindungsraten

Die Wiederfindungsraten waren für alle drei Nucleinsäuren sehr hoch (Tab. 12). Bei den ungeglühten Sanden wurden bei allen Proben 100 % oder mehr der Nucleinsäuren gefunden. Neben den normalerweise vorkommenden Nucleinsäuren und den zudotierten Nucleinsäuren wurden noch weitere sandbürtige Nucleinsäuren erfasst.

Zwischen den verschiedenen Filtertiefen im Freiland waren die Unterschiede in den Wiederfindungsraten sehr gering.

Tab. 12: Wiederfindung von zudotierten Nucleinsäuren aus geblühtem und ungeblühtem Filtersand unterschiedlicher Filtertiefen.

Probe mit zudotierten Nucleinsäuren	Wiederfindung [%]		
	RNA		DNA
	tRNA	rRNA	
Ungeglühter Sand (Labor, Entnahmetiefe 20 cm)	106	105	100
Ungeglühter Sand (Freiland, Entnahmetiefe 20 cm)	108	101	101
Ungeglühter Sand (Freiland, Entnahmetiefe 4 cm)	108	100	107
Geglühter Sand (Labor, Entnahmetiefe 20 cm)	99	95	93
Geglühter Sand (Freiland, Entnahmetiefe 20 cm)	91	76	82
Probenmittelwert (N = 5)	102	95	97
	99		

Im Gegensatz zu den ungeglühten Sanden wurde bei den geblühten Sanden nicht die Gesamtmenge der zudotierten Nucleinsäuren wiedergefunden. Dennoch waren die Wiederfindungsraten der zudotierten Nucleinsäuren mit 76-99 % hoch (Tab. 12). Insgesamt lag die Wiederfindungsrate bei der RNA bei 99 % und bei der DNA bei 97 %.

5.2 Säulenversuch 1

Um die Reinigungsleistung und das Kolmationsverhalten der Filter zu untersuchen, wurden die Filter mit verschiedenen künstlichen Abwässern intermittierend beaufschlagt. Die Temperatur blieb über den gesamten Versuchszeitraum konstant.

Zunächst werden die Stoffumsetzungen und mikrobielle Prozesse in den Filtern anhand der Eluatmessungen dargestellt. Daran schließen sich die Ergebnisse der Biomasse- und Bioaktivitäts-Untersuchungen des Filtermaterials an. Neben der Nucleinsäurebestimmung

wurden zum Vergleich von Biomasse und Bioaktivität auch herkömmliche Methoden, wie die Bestimmung der KBE und der Dehydrogenaseaktivität, eingesetzt.

5.2.1 Nitrifikation

Nitrifikationsverlauf

Mit Ausnahme der Kontrolle konnte bei allen Filtern des Säulenversuchs 1 eine Nitrifikation festgestellt werden (Abb. 11). Diese ging mit einem Absinken des pH-Werts einher. Beim KMW(+)-Filter setzte die vollständige Nitrifikation (konstant hohe Nitratkonzentrationen im Eluat) nach drei Wochen ein. Bei den anderen abwasserdurchsickerten Filtern dauerte dieser Vorgang etwa fünf Wochen.

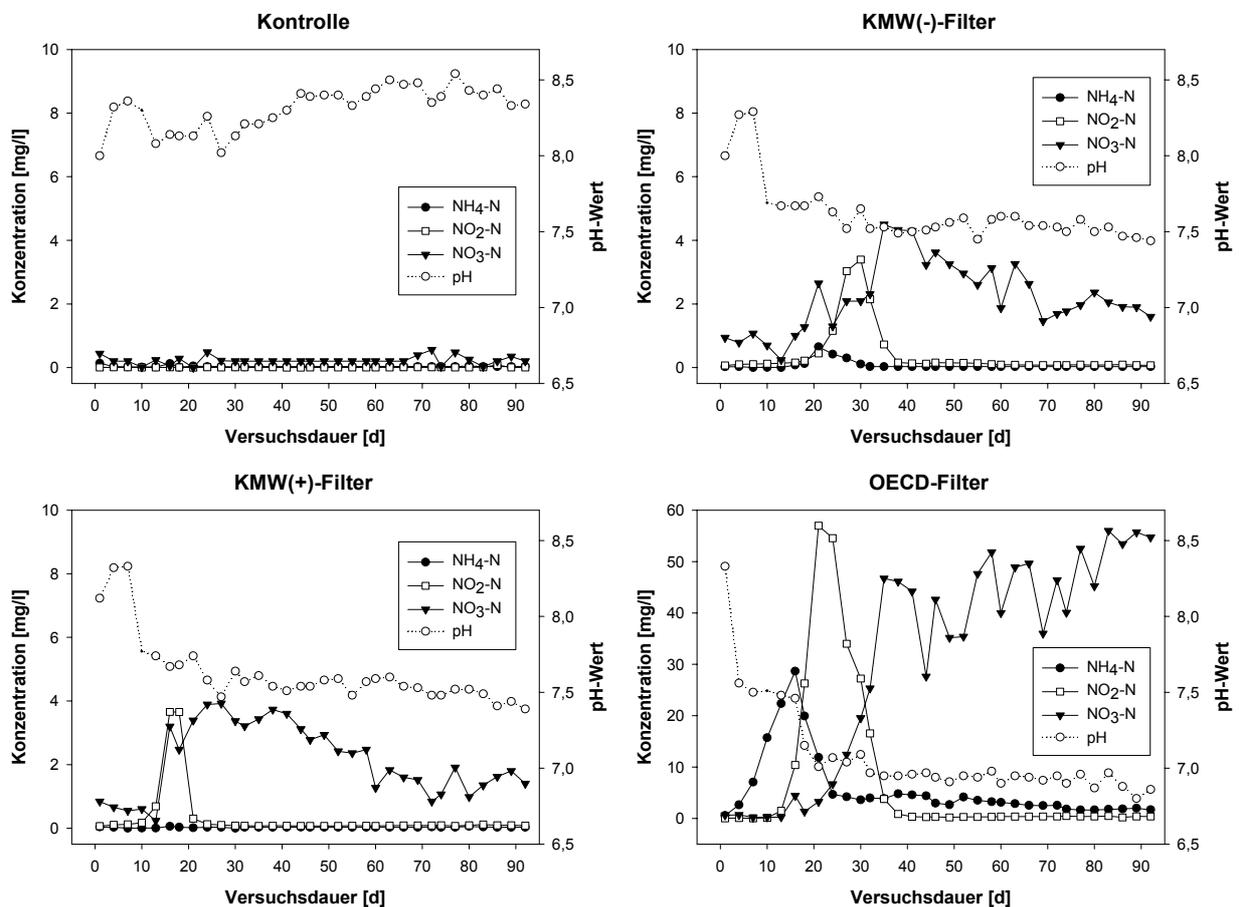


Abb. 11: Nitrifikation in den Filtern: Konzentrationsverlauf von $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ und pH-Wert (Unterschiedliche Ordinaten-skalierung).

Beim OECD-Filter folgte dem Ammoniumpeak zeitlich leicht versetzt der Nitritpeak. Anschließend stieg die Nitratkonzentration von 40 mg/l auf etwa 55 mg/l Nitrat-N an, wobei der Verlauf starken Schwankungen unterlag. In den KMW-Filtern trat kein bzw. nur sehr wenig Ammonium im Eluat auf. Die Nitritpeaks waren aber deutlich ausgebildet und wurden

von einem Anstieg der Nitratkonzentration begleitet. Im Vergleich zum OECD-Filter war der Verlauf der Nitratkonzentration gleichmäßiger, wobei zu beachten ist, dass die Nitratkonzentration mehr als zehnfach geringer war als im OECD-Eluat. Auch war im Gegensatz zum OECD-Eluat bei beiden KMW-Eluaten ein kontinuierlicher Rückgang der Nitratkonzentrationen von 4 mg/l auf etwa 2 mg/l festzustellen - bei gleichbleibenden Nitrit- bzw. Ammoniumkonzentrationen.

Inokulation

Das Animpfen der Filter wirkte sich positiv auf die Nitrifikationsleistung aus (Abb. 11). Bei den angeimpften Filtern setzte die Nitrifikation (Ammoniumoxidation) etwa elf Tage früher ein als beim KMW(-)-Filter. Auch die einzelnen Phasen der Nitrifikation liefen bei den angeimpften Filtern gleichmäßiger und schneller ab als beim KMW(-)-Filter. Beim KMW(-)-Filter konnte kein typischer Nitrifikationsverlauf beobachtet werden. Bei diesem Filter war der Zeitraum vom Versuchsbeginn bis zum Erreichen hoher Nitratlaufwerte in den Eluaten wesentlich länger als beim KMW(+)-Filter.

5.2.2 CSB-Reinigungsleistung

In Abb. 12 sind die CSB-Reinigungsleistungen der einzelnen Filter dargestellt. Bei den Filtern wurden über die gesamte Versuchszeit mittlere CSB-Reinigungsleistungen von 62 % (38 mg O₂/l) beim KMW(-)-Filter, von 69 % (31 mg O₂/l) beim KMW(+)-Filter und von 79 % (50 mg O₂/l) beim OECD-Filter beobachtet. Nach etwa 80 Versuchstagen lag die Reinigungsleistung bei allen Filtern bei etwa 90 %. Im Gegensatz zu den beiden KMW-Filtern wurden beim OECD-Filter bereits bei den ersten Beaufschlagungen CSB-Reinigungsleistungen bzw. CSB-Rückhalte von 80 % und darüber erreicht. Bei den KMW-Filtern betrugen die CSB-Reinigungsleistungen bzw. CSB-Rückhalte anfänglich nur etwa 50 %. Bei den KMW-Filtern konnte im Gegensatz zum OECD-Filter keine wesentliche Abnahme der CSB-Reinigungsleistung innerhalb der ersten Versuchswochen festgestellt werden, jedoch blieb die CSB-Reinigungsleistung dieser KMW-Filter sehr lange auf niedrigem Niveau. Erst nach 80 Tagen konnten bei beiden KMW-Filtern Reinigungsleistungen von über 80 % festgestellt werden. Bei den KMW-Filtern dauerte es mit etwa einem Monat doppelt so lange wie beim OECD-Filter, bis sie eine CSB-Reinigungsleistung von über 80 % erreichten.

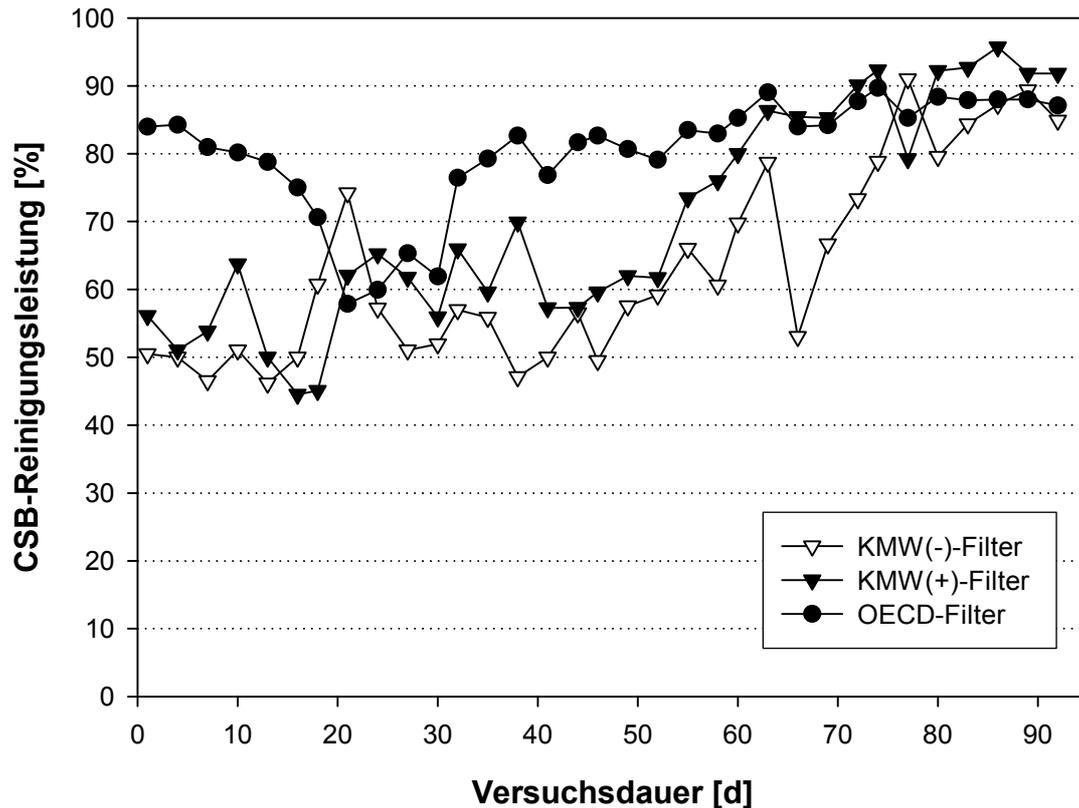


Abb. 12: Prozentuale CSB-Reinigungsleistung der verschiedenen Abwässer im zeitlichen Verlauf.

Beim OECD-Filter führten parallel ablaufende Nitrifikationsprozesse zunächst zu einer Abnahme der CSB-Reinigungsleistung bis zum 21. Versuchstag. Dies konnte auch bei den OECD-Filtern des Säulenversuchs 2 beobachtet werden und wird in Kap. 5.3.1 und 5.3.2 beschrieben. Ein Einfluss hoher Nitritkonzentrationen auf die CSB-Reinigungsleistung konnte auch bei den KMW-Filtern festgestellt werden, jedoch in abgeschwächter Form.

Bei den letzten fünf Beaufschlagungen betragen die mittleren Reinigungsleistungen 85 % (KMW(-)-Filter), 93 % (KMW(+)-Filter) bzw. 88 % (OECD-Filter) und die Ablaufkonzentrationen betragen 15, 7 bzw. 31 mg O₂/l (bei mittleren Zulaufkonzentrationen von 100 bzw. 245 mg O₂/l).

Bei der Kontrolle mit demineralisiertem Wasser wurde über die gesamte Versuchsdauer CSB-haltiges Material ausgeschwemmt. Die mittlere Konzentration betrug 5 mg O₂/l, wobei die CSB-Konzentration im ersten Versuchsmonat mit 7 mg O₂/l höher lag als in den beiden darauffolgenden Monaten.

Vergleich der Eluate mit langer und kurzer Verweildauer in den Filtern

Bei der neunten Beaufschlagung, nach 24 Versuchstagen, wurden zwei unterschiedliche Eluatfraktionen getrennt voneinander aufgefangen (Tab. 13). Einige Minuten nach der

Beaufschlagung eluierte Kapillarwasser der vor drei Tagen durchgeführten Beaufschlagung, welches aufgrund von Kapillarkräften im Filter zurückgehalten wurde. Nach dem Ablauf dieser etwa 0,2 l Eluat durch die aktuelle Beaufschlagung, sickerte nach einer Pause von knapp zwei Minuten das Eluat der aktuellen Beaufschlagung aus der Sandsäule.

Tab. 13: CSB-Konzentrationen der Eluate mit langer (3 Tage) und kurzer (< 45 Minuten) Verweildauer in den Filtern nach 24 Versuchstagen (9. Beaufschlagung).

Filter und Verweildauer		Eluat [l]	CSB [mg O ₂ /l]	Reinigungsleistung [%]
Kontroll-Filter	lang	0,2	5	-
	kurz	5,2	4	-
	gesamt	5,4	4	-
KMW(-)-Filter	lang	0,3	5	96
	kurz	5,2	39	55
	gesamt	5,5	37	57
KMW(+)-Filter	lang	0,3	4	97
	kurz	5,2	33	63
	gesamt	5,5	31	65
OECD(+)-Filter	lang	0,3	26	90
	kurz	5,2	102	58
	gesamt	5,5	98	60

Bei den KMW-Filtern und dem OECD-Filter waren die Gesamt-Reinigungsleistungen mit Werten um etwa 60 % ähnlich. Bei den Abwassereluaten mit langer Verweildauer waren die CSB-Reinigungsleistungen stets höher als bei den Eluaten mit kurzer Verweildauer. Durch die längeren Kontaktzeiten der Mikroorganismen mit den Abwasserinhaltsstoffen fanden höhere Stoffumsetzungen statt.

Bei den KMW-Filtern waren die Reinigungsleistungen der Mikroorganismen sehr hoch. Die CSB-Konzentrationen in den Eluaten mit langer Verweildauer entsprachen der Ablaufkonzentration des Kontroll-Filters. Beim OECD-Filter war die CSB-Reinigungsleistung beim Eluat mit langer Verweildauer vergleichsweise niedrig. Diese niedrigen Reinigungsleistungen sind auf die hohen Nitritkonzentrationen und die dadurch gestressten Mikroorganismen zurückzuführen.

Inokulation

Die Reinigungsleistung des KMW(+)-Filters war fast über den gesamten Versuchsverlauf höher als die des KMW(-)-Filters. Außerdem war der Verlauf der CSB-Konzentration beim angeimpften Filter weniger stark von Schwankungen betroffen. Das Animpfen der Filter hatte somit eine positive Wirkung auf die CSB-Reinigungsleistung.

Bei den letzten fünf Beaufschlagungen wurden bei allen Filtern die höchsten Reinigungsleistungen erreicht. Beim OECD-Abwasser entsprach die CSB-Reinigungsleistung den BSB₅-Abbauleistungen (vgl. Tab. 9). Das bedeutet, dass das gesamte bioverfügbare Material innerhalb einer Beaufschlagung im Filter eliminiert bzw. abgebaut wurde. Bei den KMW-Filtern lagen die CSB-Reinigungsleistungen der letzten fünf Beaufschlagungen sogar höher als die BSB₅-Werte (vgl. Tab. 9).

Die Ergebnisse der BSB₅-Messungen, der CSB-Reinigungsleistungen und der Eluatmessungen mit kurzer und langer Verweildauer zeigen, dass CSB-Abbauleistungen von 90 % oder mehr bei entsprechend langer Kontaktzeit und gut ausgebildeten Biofilmen in den Filtern möglich sind.

5.2.3 Hydraulische Leitfähigkeit

Die hydraulische Leitfähigkeit verringerte sich mit zunehmender Versuchsdauer bei allen Filtern (Abb. 13). Beim Kontroll-Filter nahm die hydraulische Leitfähigkeit in den ersten 35 Tagen um etwa 10 % ab und blieb dann auf diesem Niveau.

Bei beiden KMW-Filtern entsprach die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit in den ersten 35 Tagen in etwa der Abnahme im Kontroll-Filter. Nach etwa 35 Tagen wurde ein leichter Anstieg der hydraulischen Leitfähigkeit festgestellt. Diesem folgte eine kontinuierliche Abnahme auf 70 bzw. 80 % des ursprünglichen Werts. Beim KMW(+)-Filter konnte nach etwa 60 Tagen ein stärkerer Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit festgestellt werden als beim KMW(-)-Filter. Insgesamt verlief die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit bei den KMW-Filtern näherungsweise linear.

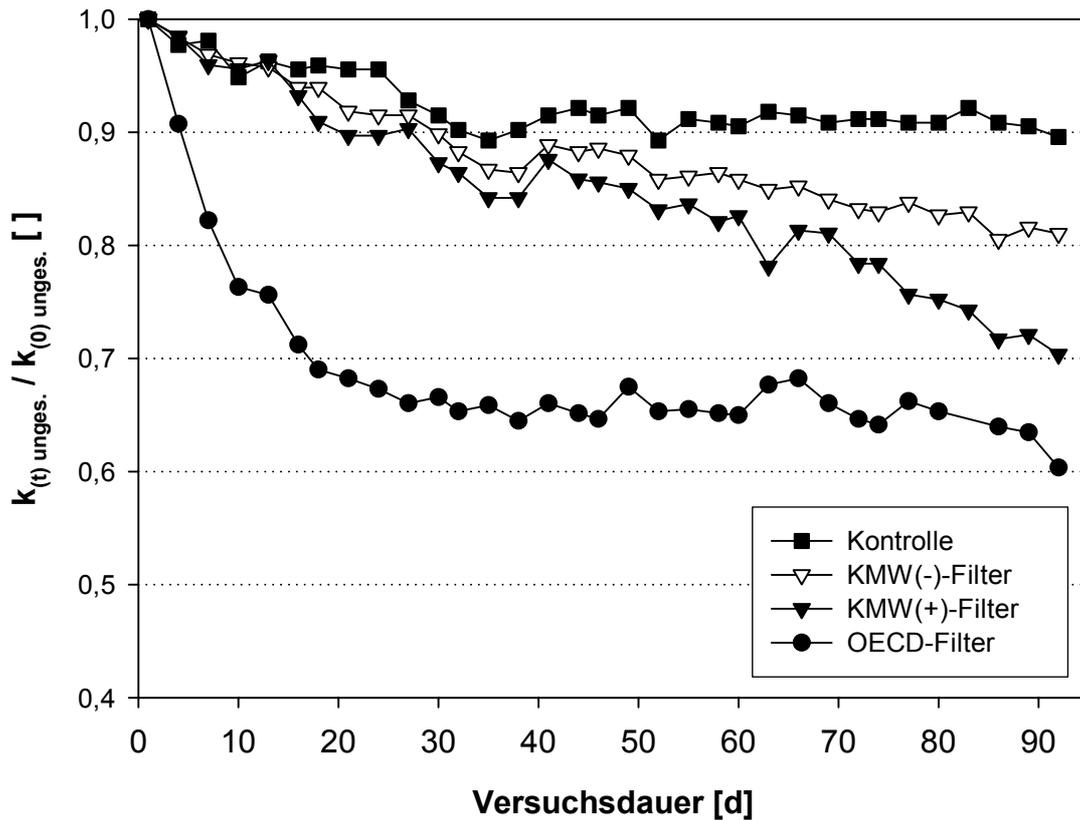


Abb. 13: Unterschiedlicher Rückgang der relativen hydraulischen Leitfähigkeit bei verschiedenen Abwässern im zeitlichen Verlauf.

Beim OECD-Filter nahm die hydraulische Leitfähigkeit bis zum 35. Tag annähernd exponentiell ab. Die hydraulische Leitfähigkeit verringerte sich in dieser Zeit um etwa 35 %. Mit etwa 25 % war der Rückgang in den ersten beiden Wochen am stärksten. Nach der exponentiellen Abnahme blieb sie über einen Zeitraum von ungefähr 50 Tagen auf einem Niveau von ca. 65 % der ursprünglichen hydraulischen Leitfähigkeit. Ab dem 28. Tag traten Schwankungen innerhalb dieser „Plateauphase“ auf. Die Schwankungen stimmten zeitlich mit denen der Nitratkonzentrationen (vgl. Abb. 11) überein und werden detailliert in Kap. 6.7 behandelt. Anders als bei den KMW-Filtern nahm die hydraulische Leitfähigkeit bis zum Versuchsende nicht weiter ab.

5.2.4 KBE und mikrobielle Sukzession in den Eluaten

KBE in den Eluaten

Vor der Beaufschlagung befanden sich in der Kontrolle etwa $1,8 \cdot 10^3$ KBE/ml und sowohl im KMW- als auch im OECD-Abwasser etwa $2,8 \cdot 10^3$ KBE/ml. Bei der ersten Beaufschlagung wurden in den Eluaten aller vier Filterabläufe ähnliche KBE-Zahlen gefunden. Mit Werten um $2,6 \cdot 10^5$ KBE/ml lagen diese deutlich über den KBE-Zulaufkonzentrationen (Abb. 14).

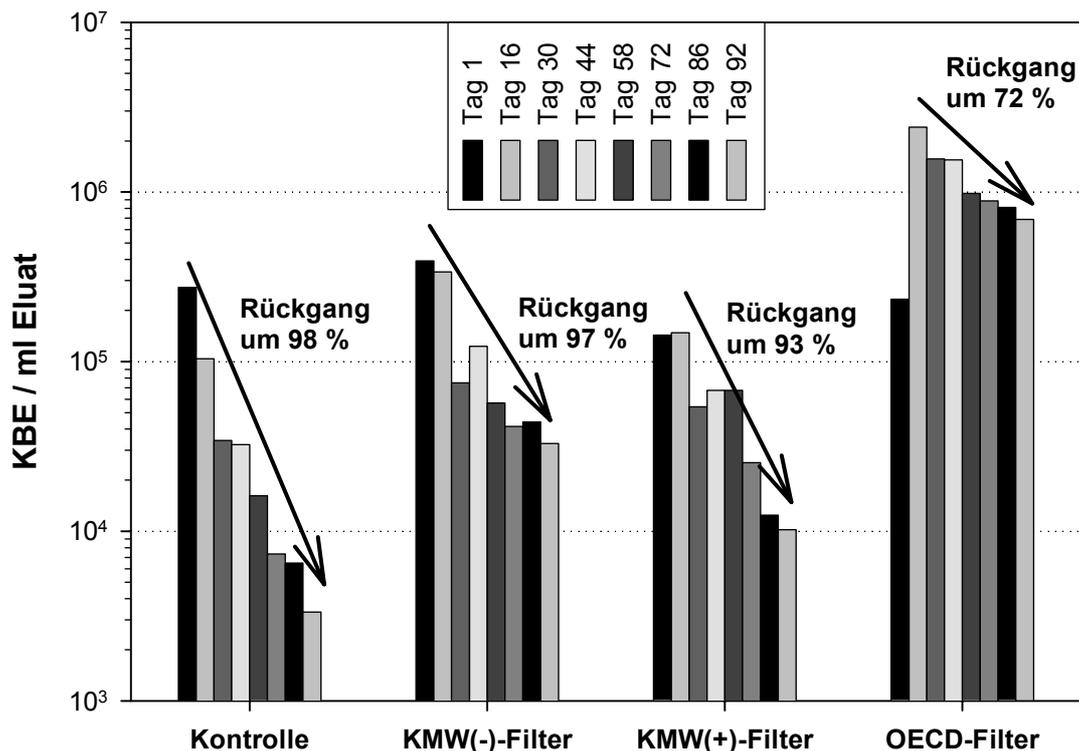


Abb. 14: Koloniebildende Einheiten (KBE) in den Eluaten der verschiedenen Filter im zeitlichen Verlauf. Mittelwerte aus drei verschiedenen Nährböden mit jeweils drei Parallelen.

Beim Kontroll-Filter wurden nach jeder Messung weniger KBE im Eluat gefunden. Hier wurden die KBE regelrecht aus dem Filtermaterial ausgewaschen.

Bei den KMW-Filtern war die Abnahme nicht so gleichmäßig wie bei der Kontrolle. Teilweise stiegen die KBE-Zahlen im Versuchsverlauf wieder an. Über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet konnte aber auch bei diesen Filtern eine deutliche KBE-Abnahme in den Eluaten beobachtet werden. Im KMW(+)-Eluat waren, trotz des Animpfens, im Vergleich zum KMW(-)-Eluat mit einer Ausnahme stets weniger KBE enthalten.

Im Gegensatz zu allen anderen Filterabläufen blieb die KBE-Konzentration im OECD-Eluat deutlich über dem Anfangswert der ersten Beaufschlagung. Im OECD-Eluat wurde bei der Messung am 16. Versuchstag eine starke Zunahme der KBE auf $2,4 \cdot 10^6$ KBE/ml festgestellt. Vom ersten bis zum 16. Versuchstag nahm die KBE-Zahl im Eluat dieses Filters um mehr als das zehnfache zu. Vom 30. bis zum 35. Versuchstag (Beaufschlagung 11-13) war das Ablaufwasser zunächst trübe und dann auffällig grünlich-gelb gefärbt. Danach war das Eluat, wie das der anderen Filter, wieder klar. Dennoch konnte auch bei diesem Filter, nach dem KBE-Maximum am 16. Versuchstag, ein ständiger Rückgang der KBE-Zahlen festgestellt werden. Der Rückgang der KBE-Zahl im Eluat, verglichen mit der höchsten gemessenen

KBE-Zahl, betrug bei diesem Filter 72 %, beim Kontroll-Filter 98 %, beim KMW(-)-Filter 97 % und beim KMW(+)-Filter 93 %. Lediglich beim OECD-Eluat war die KBE-Zahl am ersten Versuchstag nicht der Höchstwert. Nimmt man den ersten Versuchstag als Ausgangswert, so hat sich die KBE-Zahl beim OECD-Filter zum Versuchsende hin nicht vermindert sondern fast verdreifacht. Mit Ausnahme des OECD-Eluats, in dem maximale KBE-Zahlen von $2,4 \cdot 10^6$ KBE/ml gefunden wurden, blieben die KBE-Zahlen der anderen Eluate unter $4,0 \cdot 10^5$ KBE/ml.

Partikelgrößenverteilung

Insgesamt waren 98 ± 1 % der ausgetragenen Partikel $5,0 \mu\text{m}$ oder kleiner (vier Filter mit je 33 Eluatbeprobungen, insgesamt 132 Messungen). Es wurden also überwiegend einzelne Zellen oder kleinere Zellaggregate ausgetragen, jedoch keine abgerissenen Biofilme.

Mikrobielle Sukzession in den Eluaten

Auf den DEV- und den OECD-Nährböden wuchsen die meisten Mikroorganismen (Abb. 15). Am ersten Versuchstag war die KBE-Verteilung auf den einzelnen Nährmedien sehr ähnlich. Die Veränderungen traten filterspezifisch, je nach verwendetem Abwasser, mit fortschreitender Versuchsdauer auf. Beim komplexen OECD-Abwasser waren die Veränderungen am geringsten. Beim nicht angeimpften KMW(-)-Filter war die relative Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen in den Eluaten konstanter als beim KMW(+)-Filter.

Vor allem bei der Kontrolle, aber auch bei den beiden KMW-Filtern, schwankte die Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen über den gesamten Versuchszeitraum zum Teil deutlich. Die Verschiebungen waren meist nicht abrupt sondern ausgeglichen, wobei die Kontrolle eine Ausnahme darstellte.

Beim OECD-Filter bildete sich eine konstante Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen aus. Mit dem 44. Versuchstag waren die relativen Anteile der KBE-Zahlen auf den einzelnen Nährmedien fast konstant.

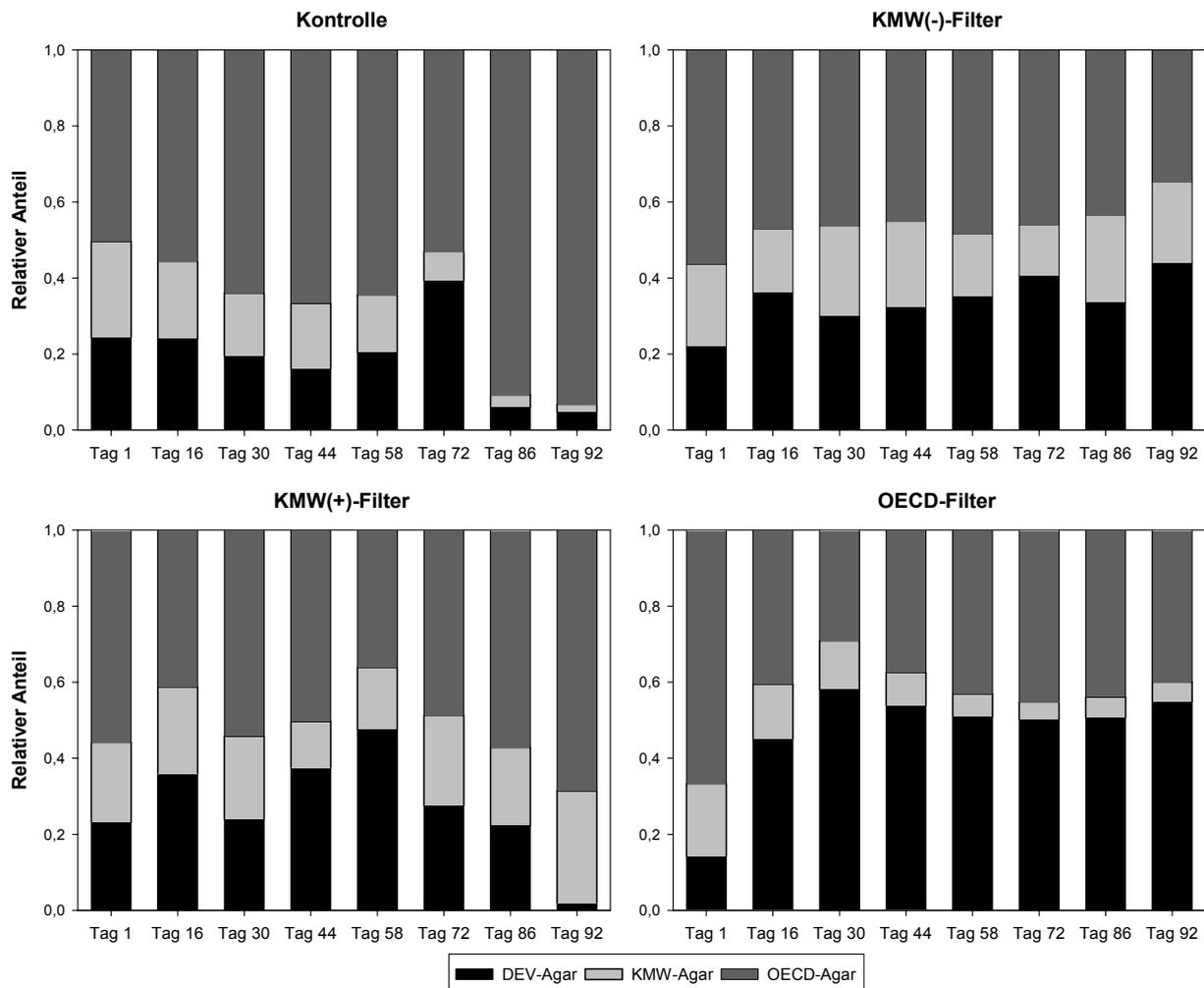


Abb. 15: Präferenz der ausgespülten Mikroorganismen (KBE) für drei unterschiedliche Abwasser-Nährböden im zeitlichen Verlauf (drei Parallelen je Abwasser-Nährboden).

5.2.5 KBE und Dehydrogenaseaktivität in den Filtern

Im Folgenden wird die Verteilung der Biomasse und Bioaktivität in den Filtern dargestellt. Diese mit herkömmlichen Methoden gemessenen Ergebnisse werden anschließend mit den Ergebnissen der Nucleinsäurebestimmung verglichen.

KBE („Heterotrophe aktive Biomasse“)

Mit einem Mittelwert von $2,3 \cdot 10^4$ KBE/g TG wurde in der Kontrolle die geringste KBE-Zahl gefunden (Abb. 16). Die meisten KBE wurden mit $8,7 \cdot 10^6$ KBE/g TG im OECD-Filter in 0-2 cm Tiefe gefunden. Sie lagen damit um mehr als zwei Zehnerpotenzen über den Werten der Kontrolle. Die geringsten KBE-Zahlen wurden im unteren und im mittleren Teil der Filter festgestellt.

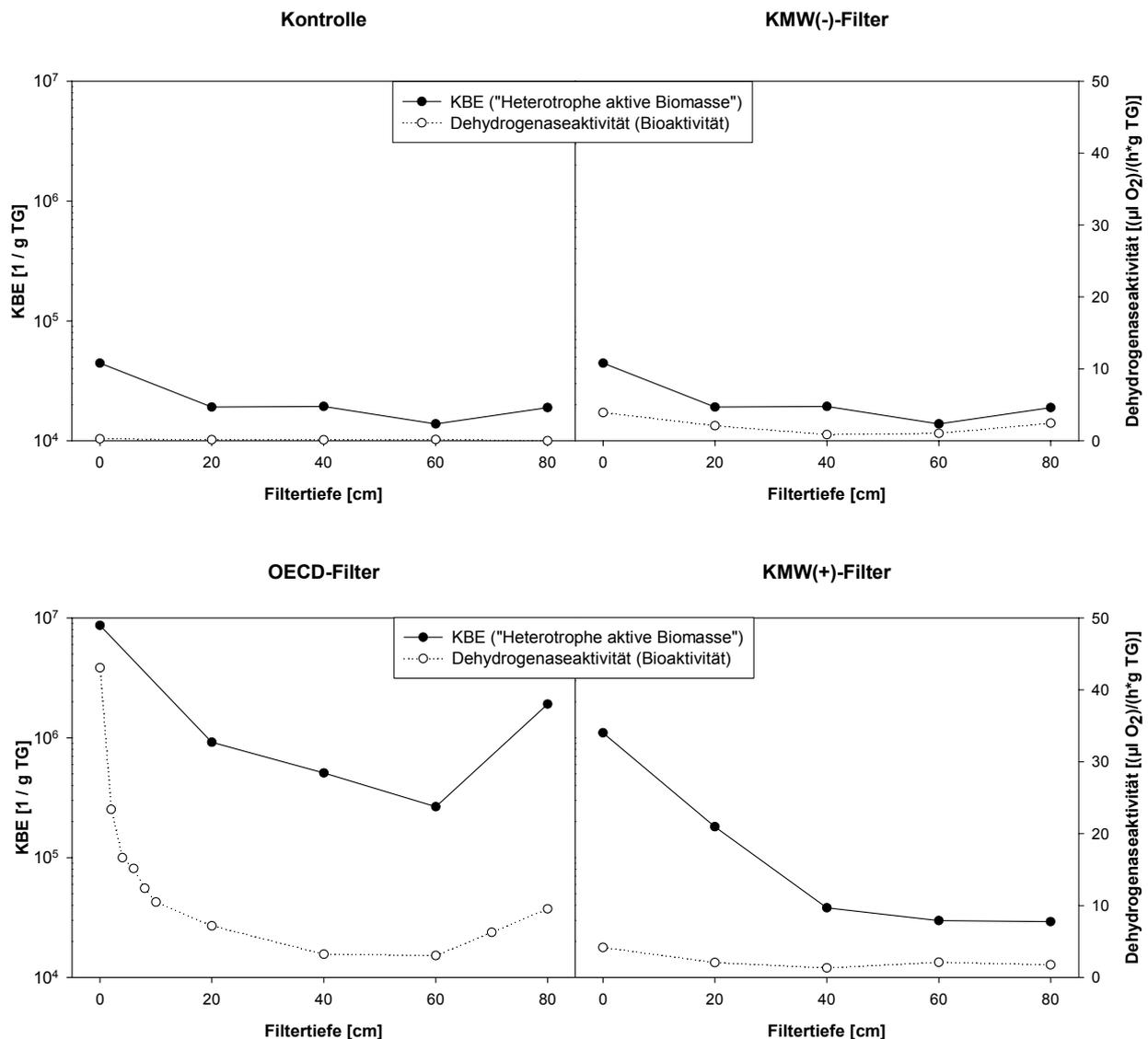


Abb. 16: Verteilung von KBE („Heterotrophe aktive Biomasse“) und Dehydrogenaseaktivität (Bioaktivität) in den verschiedenen Filtern.

Die Abnahme der KBE in den Filtern vom Maximal- zum Minimalwert betrug bei den abwasserbeaufschlagten Filtern etwa 1-1,5 Zehnerpotenzen. Die steilsten Gradienten der KBE-Zahlen wurden bei allen abwasserbeaufschlagten Filtern in den oberen 20 cm gefunden. Insgesamt nahmen die KBE-Zahlen in allen Filtern vom Filtereinlauf zum Filterablauf hin ab. Beim KMW(+)-Filter waren die KBE-Zahlen ab 40 cm Filtertiefe, beim KMW(-)-Filter über die gesamte Filtertiefe mit der Kontrolle vergleichbar. In diesen Tiefenstufen kam es zu keinem bedeutsamen Biomassewachstum. Beim OECD-Filter waren die KBE-Zahlen in jeder Tiefenstufe höher als in der Kontrolle. Im Gegensatz zu den anderen Filtern stieg beim OECD-Filter in 80 cm Tiefe die KBE-Zahl stark an. Dies weist auf eine verstärkte Biomasseproduktion in dieser Filtertiefe aufgrund des nährstoffhaltigen Kapillarwassers hin (siehe Kap. 5.2.2).

Dehydrogenaseaktivität (Bioaktivität)

Die geringste Dehydrogenaseaktivität mit Werten von 0-0,4 [($\mu\text{l O}_2$)/(h·g TG)] wurde im Kontroll-Filter gemessen (Abb. 16). Der höchste Wert wurde im OECD-Filter mit 43 [($\mu\text{l O}_2$)/(h·g TG)] gefunden und war damit mehr als 100-fach höher als die Werte im Kontroll-Filter. Die höchste Dehydrogenaseaktivität betrug in beiden KMW-Filtern jeweils 4 [($\mu\text{l O}_2$)/(h·g TG)] und war damit etwa zehnfach geringer als im OECD-Filter. Wie bei den KBE konnte von der Filteroberfläche zur Filtermitte hin eine zum Teil deutliche Aktivitätsabnahme festgestellt werden. Insgesamt war die Aktivität bei den abwasserbeaufschlagten Filtern im oberen Filterbereich bis etwa 20 cm Tiefe am höchsten. Am geringsten waren die Aktivitäten in einer Filtertiefe von 40-60 cm. Ab einer Filtertiefe von 60 cm bis zum Filterablauf stiegen sie wieder leicht an, blieben aber deutlich unter den Werten des oberen Filterbereichs. Beim OECD-Filter war die Aktivitätsabnahme bis zu einer Tiefe von 60 cm nahezu exponentiell.

5.2.6 Vertikale Nucleinsäureverteilung

Die CSB-Konzentration des Abwassers und dessen Zusammensetzung beeinflussten wesentlich die Verteilung der Nucleinsäuren. Insgesamt nahmen die Konzentrationen von DNA, rRNA und tRNA mit zunehmender Tiefe ab. Die höchsten Nucleinsäurekonzentrationen wurden in der obersten Schicht des OECD-Filters gefunden. Sie betragen $7,9 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$ für tRNA, $11,8 \pm 0,7 \mu\text{g/g}$ für rRNA und $56,0 \pm 1,5 \mu\text{g/g}$ für DNA (Mittelwert TG \pm Standardabweichung). Die Standardabweichungen der Mittelwerte innerhalb der einzelnen Filterschichten waren gering, was auf eine gleichmäßige Verteilung aller Nucleinsäuren in der jeweiligen Filterschicht hindeutet (Anhang 3-5).

Die Unterschiede beim RNA/DNA-Verhältnis waren, sowohl innerhalb eines Filters als auch zwischen den Filtern, gering (Anhang 3-5). Deshalb eignet sich die „Gesamt“-RNA aufgrund der akzentuierteren Gradienten besser zur Beurteilung der absoluten Bioaktivitätsverteilung als das RNA/DNA-Verhältnis. Das RNA/DNA-Verhältnis eignet sich besser zur Beurteilung der spezifischen Bioaktivität, die Aussagen über den metabolischen Zustand der Mikroorganismen erlaubt. Die Ergebnisse zu den RNA/DNA-Verhältnissen werden zusammenfassend in Kap. 6.6 beschrieben.

DNA (Biomasse)

Die Verteilung der DNA als Biomasseparameter in den verschiedenen Filtern ist in Abb. 17 dargestellt. Die DNA-Konzentrationen waren im Kontroll-Filter mit Werten nahe Null am

geringsten. In allen Filtertiefen waren keine oder nur äußerst geringe DNA-Konzentrationen nachweisbar.

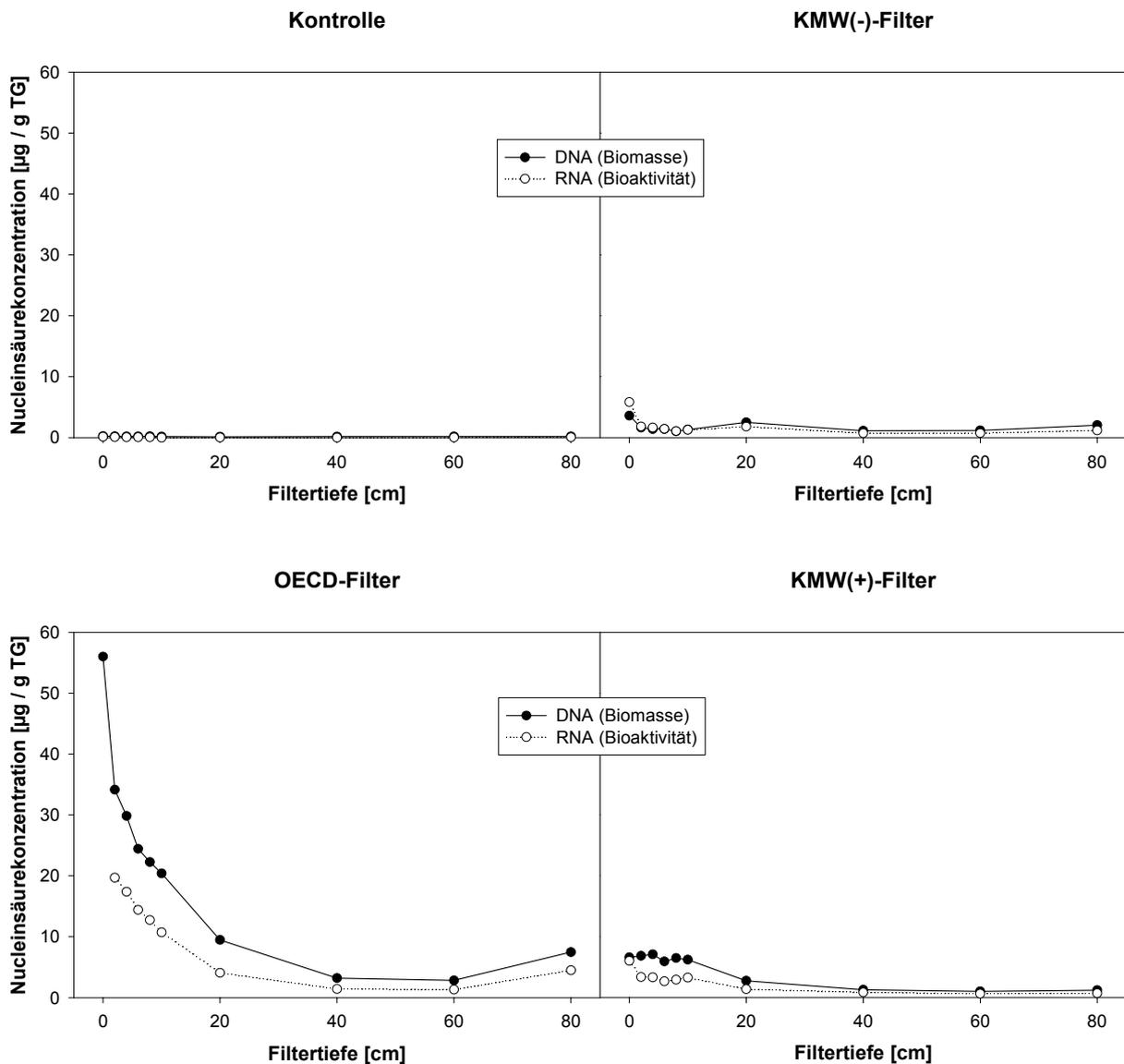


Abb. 17: Verteilung von DNA (Biomasse) und RNA (Bioaktivität) in den verschiedenen Filtern.

Im Gegensatz zur Kontrolle konnte bei den abwasserbeaufschlagten Filtern in allen Tiefenstufen DNA nachgewiesen werden. Bei den beiden KMW-Filtern lagen die DNA-Konzentrationen in den oberen 20 cm leicht über den Konzentrationen der übrigen Filtertiefen. Im KMW(+)-Filter wurde aufgrund der Inokulation mehr DNA bzw. Biomasse gebildet als im KMW(-)-Filter.

Die höchsten DNA-Konzentrationen und der steilste DNA-Gradient bildeten sich im OECD-Filter aus. Dort waren die DNA-Konzentrationen in den oberen 20 cm besonders hoch und nahmen bis zu einer Filtertiefe von 60 cm exponentiell ab. Die niedrigsten DNA-

Konzentrationen wurden in der Filtermitte, in Tiefen zwischen 20-40 cm, gemessen. Diese Werte waren mit den maximalen DNA-Konzentrationen der KMW-Filter vergleichbar. Im Filterablaufbereich, bei 80 cm, stieg die DNA-Konzentration wieder an. Dies ist darauf zurückzuführen, dass in diesem Filterbereich (den unteren 15 cm des Filters) aufgrund von Kapillarkräften Kapillarwasser zurückblieb. Dort war die Kontaktzeit des Abwassers mit den Mikroorganismen besonders lange, was zu einer besonders effektiven Entfernung der restlichen Abwasserinhaltsstoffe aus dem Abwasser führte (vgl. Kap. 5.2.2). Sieht man vom Anstieg der DNA-Konzentration im Filterablaufbereich ab, ergibt sich im OECD-Filter bis zu einer Tiefe von 60 cm eine exponentielle Abnahme der DNA-Konzentration und eine asymptotische Annäherung an eine minimale DNA-Konzentration.

RNA (Bioaktivität)

In Abb. 17 sind die RNA-Konzentrationen in den verschiedenen Filtern dargestellt. In der Regel waren die RNA-Konzentrationen geringer als die DNA-Konzentrationen. Eine Ausnahme stellte dabei der KMW(-)-Filter dar, bei dem im oberen Filterbereich bis zu einer Filtertiefe von 10-12 cm höhere RNA- als DNA-Konzentrationen festgestellt wurden. Insgesamt betrachtet waren die Tiefenverteilungen der RNA- und der DNA-Konzentrationen sehr ähnlich.

Beim Kontroll-Filter konnte RNA nur in äußerst geringen Konzentrationen in den obersten Zentimetern und in 80 cm Tiefe nachgewiesen werden. Diese RNA-Konzentrationen lagen nahe der Bestimmungsgrenze und stammten von der ursprünglichen sandbürtigen Besiedlung. Bei allen abwasserbeaufschlagten Filtern war der RNA-Verlauf ähnlich: Im Filterzulauf waren die RNA-Konzentrationen hoch und nahmen bis zu einer Tiefe von 60 cm wieder ab. Anschließend stiegen die RNA-Konzentrationen im Filterablauf in einer Tiefe von 80 cm wieder leicht an. Beim KMW(+)-Filter führte die Inokulation zu höheren RNA-Konzentrationen im Filterzulaufbereich. Die RNA-Konzentrationen in beiden KMW-Filtern nahmen in einer Filtertiefe von 10-12 cm (KMW(+)-Filter) bzw. 20 cm (KMW(-)-Filter) zu. Erst in den darunterliegenden Filterschichten nahmen die RNA-Konzentrationen wieder ab. Diese Schwankungen im Verlauf der RNA-Konzentrationen traten beim OECD-Filter nicht auf. Im OECD-Filter war der RNA-Konzentrationsverlauf dem DNA-Konzentrationsverlauf sehr ähnlich. Aufgrund der beiden gleichmäßigen Konzentrationsverläufe ist davon auszugehen, dass sich die Mikroorganismen im gesamten Filter etabliert hatten. Dies wird von den Ergebnissen der mikrobiellen Sukzession in den Sandsäulen (vgl. Kap. 5.2.4) und den konstanten Reinigungsleistungen (vgl. Kap. 5.2.1 und 5.2.2) am Versuchsende bestätigt.

5.3 Säulenversuch 2

Zunächst werden die Umsetzungsprozesse in den Filtern, der Verlauf der hydraulischen Leitfähigkeit und der Partikelaustrag aus den Filtern dargestellt. Daran schließen sich die Biomasse- und Bioaktivitäts-Untersuchungen des Filtermaterials an.

5.3.1 Nitrifikation

OECD-Filter

Der Nitrifikationsverlauf der OECD-Filter aus Säulenversuch 1 und 2 war sehr ähnlich, lediglich der pH-Wert nahm beim Säulenversuch 2 nicht so stark ab wie beim Säulenversuch 1 (vgl. Abb. 18 und 11). Mit etwa neun Wochen war die Zeit bis zum Erreichen der vollständigen Nitrifikation (Zeit vom Versuchsbeginn bis zum Erreichen konstant hoher Nitratkonzentrationen im Eluat) in den OECD-Filtern aus Säulenversuch 2 jedoch etwa doppelt so lange. Der Anstieg der Ammoniumkonzentration entsprach dem Anstieg beim Säulenversuch 1. Die Zeit bis zum Erreichen eines Maximums bei der Ammoniumoxidation (hohe Nitritwerte im Ablauf) dauerte etwa eine Woche länger. Am längsten war die Phase der Nitritoxidation, die mit vier Wochen in etwa doppelt so lange dauerte wie die Nitritoxidation in Säulenversuch 1.

Nach der Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C wurde zunächst ein deutlicher Rückgang der Nitratkonzentration im Eluat festgestellt. Dieser stieg nach wenigen Tagen aber wieder auf Werte an, wie sie vor der Temperaturabsenkung auftraten. Wie im Säulenversuch 1 schwankten die Nitratkonzentrationen nach dem Erreichen des Nitratmaximums stark. Diese Schwankungen traten erst auf, nachdem nahezu kein Nitrit mehr ausgetragen wurde, und die Nitratwerte ein Plateau erreicht hatten. Bei dem trockenengefallenen und zu Versuchsende nochmals beaufschlagten OECD-Filter war die Nitrifikationsleistung mit 82 mg NO₃-N/l im Vergleich zu den ständig beaufschlagten Filtern unverändert.

RMW-Filter

Bei den RMW-Filtern war die Zeit bis zum Erreichen der vollständigen Nitrifikation am kürzesten (Abb. 18). Aufgrund der ständigen Neuzufuhr an Mikroorganismen mit dem RMW-Abwasser, den besser verfügbaren organischen Substanzen und den geringeren Konzentrationen, nitrifizierten die RMW-Filter bereits nach zwei Wochen. Bei den RMW-Filtern wurden keine ausgeprägten Ammonium- und Nitrit-Peaks sowie keine pH-Wert-Absenkung festgestellt. Insgesamt lagen die Konzentrationen von Ammonium-, Nitrit- und Nitrat-N deutlich unter denen der OECD-Filter. In der Nitrat-Plateauphase lag die

Konzentration bei etwa 6 mg $\text{NO}_3\text{-N/l}$ und damit etwa zehnfach niedriger als bei den OECD-Filtern.

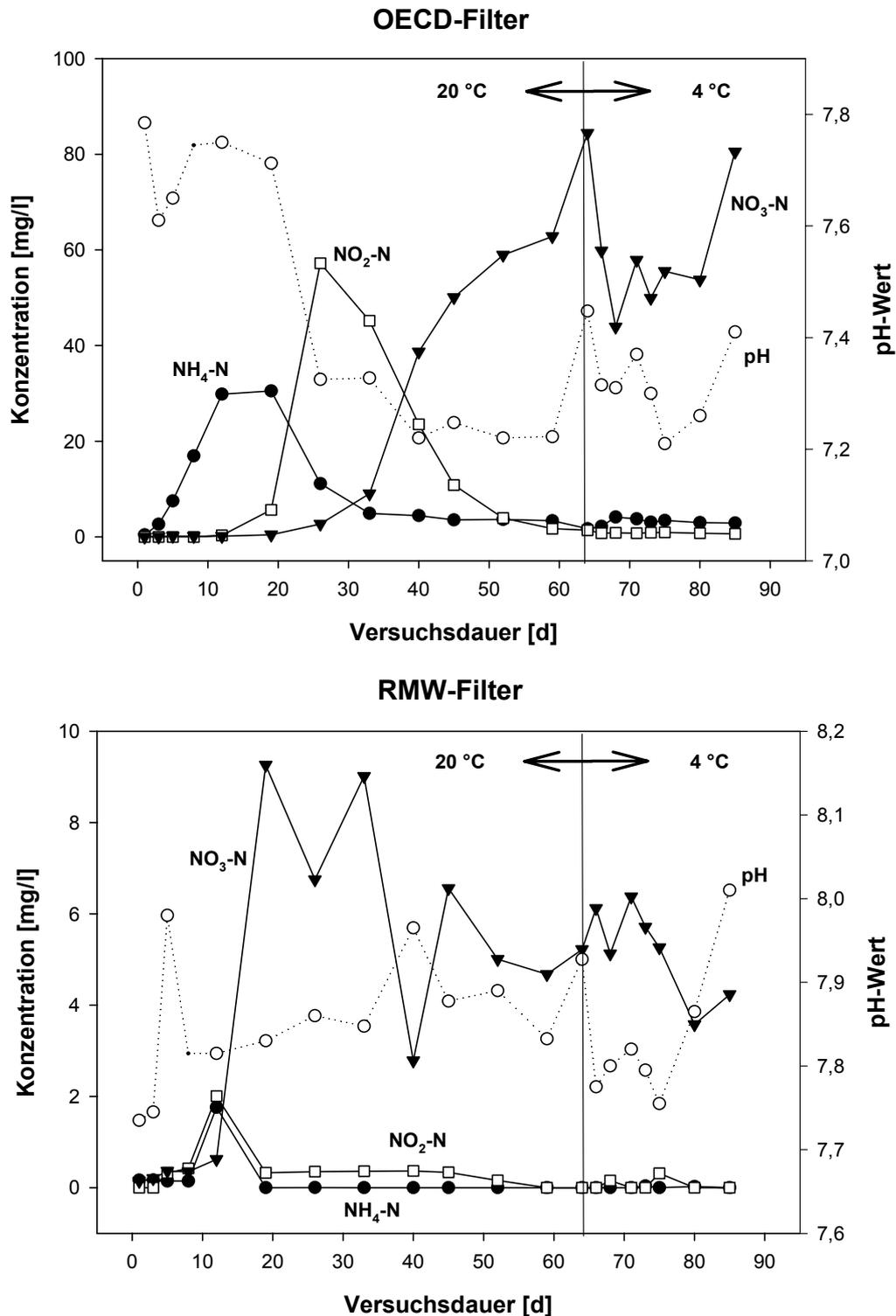


Abb. 18: Nitrifikation in den Filtern: Konzentrationsverlauf von $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ und pH-Wert (Unterschiedliche Ordinatenkalierung; Mittelwerte aus vier Filtern, nach der Temperaturabsenkung aus zwei Filtern).

Die Temperaturabsenkung hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die Nitrifikationsleistung. Die höheren Nitratwerte während der Plateauphase traten meist nach einem längeren Beaufschlagungsintervall auf (vgl. Kap. 6.7). Bei dem trockenengefallenen und zu Versuchsende nochmals beaufschlagten RMW-Filter konnte mit 7 mg NO₃-N/l eine höhere Nitrifikationsleistung im Vergleich zu den ständig beaufschlagten Filtern festgestellt werden.

5.3.2 CSB-Reinigungsleistung

Bei den OECD-Filtern wurden mittlere CSB-Reinigungsleistungen von 81 % (48 mg/l) und bei den RMW-Filtern von 76 % (9 mg/l) erreicht (Abb. 19). Die höchste CSB-Reinigungsleistung bzw. der höchste CSB-Rückhalt während der gesamten Versuchszeit wurde bei der ersten Beaufschlagung mit 91 % festgestellt. Auch beim RMW-Abwasser wurde mit 87 % die höchste CSB-Reinigungsleistung bzw. CSB-Rückhalt am Versuchsbeginn gefunden. Eine vergleichbare CSB-Reinigungsleistung wurde nochmals nach etwa vier Wochen erreicht. Beim OECD-Abwasser waren im Gegensatz zum RMW-Abwasser die Schwankungen der Reinigungsleistung recht gering.

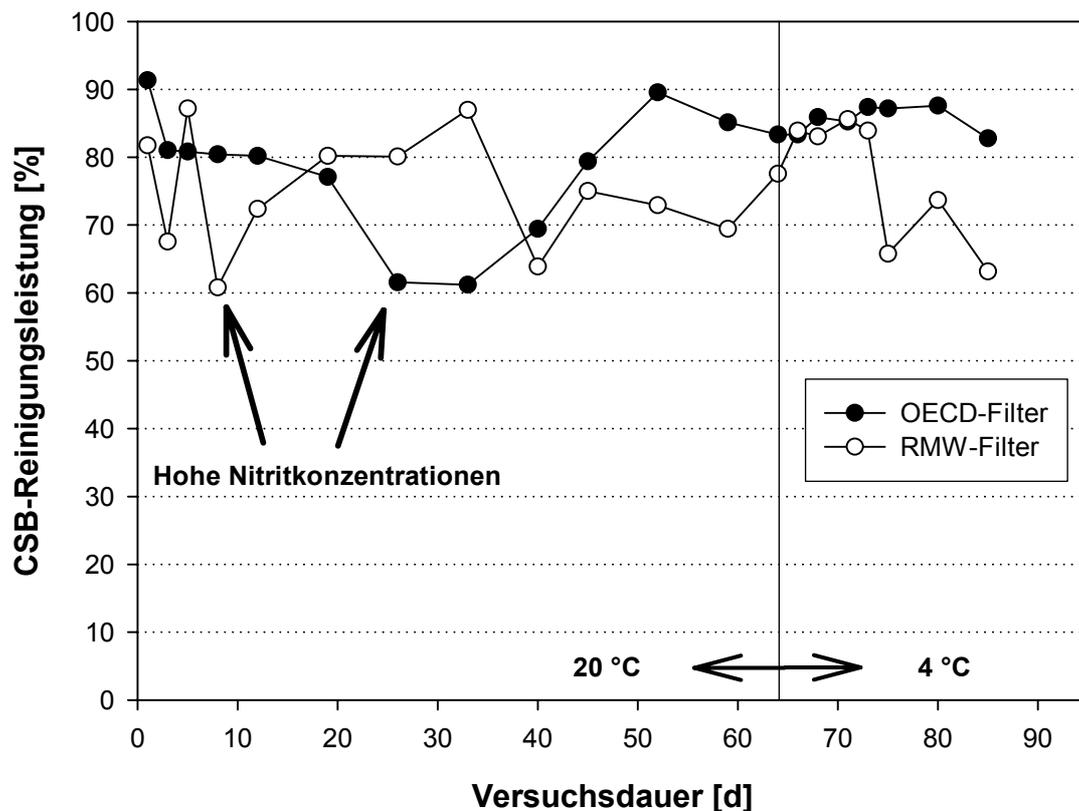


Abb. 19: Prozentuale CSB-Reinigungsleistung bei den mit OECD- und RMW-Abwasser beaufschlagten Filtern (Mittelwerte aus vier Filtern, nach der Temperaturabsenkung aus zwei Filtern).

Die Temperaturabsenkung hatte beim OECD-Filter keine Auswirkung auf die CSB-Reinigungsleistung. Beim RMW-Filter konnte nach der Temperaturabsenkung nach einer anfänglichen stabilen Phase eine deutliche Abnahme der CSB-Reinigungsleistung festgestellt werden. Wie beim Säulenversuch 1 nahm die Reinigungsleistung beim OECD-Abwasser nach einer anfänglich stabilen Phase von etwa zwei Wochen um etwa 20 % ab (vgl. Abb. 19 und 12). Nach etwa einer Woche stieg die Reinigungsleistung wieder an und erreichte nach etwa sechs Wochen einen Maximalwert. Danach blieb die Reinigungsleistung deutlich auf einem Plateau von etwa 85 %. Die höchste Reinigungsleistung während dieser Plateauphase betrug 88 %. Die CSB-Reinigungsleistung bzw. der CSB-Rückhalt der trockenengefallenen und zu Versuchsende nochmals beaufschlagten Filter war sowohl beim OECD-Filter mit 78 % als auch beim RMW-Filter mit 74 % mit denen der ständig beaufschlagten Filter nahezu identisch.

Die Schwankungen in den CSB-Reinigungsleistungen liefen zeitlich parallel zur Nitrifikation ab (vgl. Abb. 19 und 18). Dies konnte bereits beim Säulenversuch 1 beobachtet werden. Die im Vergleich zum Säulenversuch 1 längere Phase niedriger CSB-Reinigungsleistungen kann eindeutig der langen Phase hoher Nitritkonzentrationen im Säulenversuch 2 zugeschrieben werden. Solange die zelltoxisch wirkende Nitritkonzentration hoch und die Nitratkonzentration gering war, war die CSB-Reinigungsleistung minimal. Es wurden erst maximale CSB-Reinigungsleistungen erreicht, nachdem die Stickstoffkomponenten von den Mikroorganismen vollständig oxidiert wurden. Sobald das Nitratmaximum erreicht war, wurde auch die maximale CSB-Reinigungsleistung erzielt. Auch beim Säulenversuch 1 wurden vor dem Erreichen des Nitratmaximums deutlich geringere CSB-Reinigungsleistungen gefunden. Die CSB-Reinigungsleistung von etwa 88 % während der Plateauphase wurde auch im Säulenversuch 1 in der dortigen Plateauphase erreicht. Diese CSB-Reinigungsleistung kann deshalb als die größtmögliche Reinigungsleistung angesehen werden. Da dieser Wert sehr gut mit den ermittelten BSB₅-Messungen für dieses Abwasser übereinstimmt (siehe Tab. 9), kann er ausschließlich auf die Mikroorganismen zurückgeführt werden.

Die Schwankungen bei der CSB-Reinigungsleistung der RMW-Filter sind in erster Linie auf die stark schwankenden Zulaufkonzentrationen zurückzuführen. Anders als bei den OECD-Filtern wurde die CSB-Reinigungsleistung weniger stark durch die Nitrifikation beeinflusst. Dennoch sind auch hier Kopplungen zwischen niedrigen Nitratwerten und niedrigen CSB-Reinigungsleistungen zu finden. Die CSB-Reinigungsleistungen am Ende der Beauf-

schlagungen stimmen sehr gut mit dem biochemischen Sauerstoffbedarf des Abwassers anhand der BSB₅-Messung überein (siehe Tab. 9).

5.3.3 Hydraulische Leitfähigkeit

Bei den RMW-Filtern konnte bis zur Temperaturabsenkung ein kontinuierlicher Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit um 16 % festgestellt werden (Abb. 20).

Bei den OECD-Filtern war die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit stärkeren Schwankungen unterworfen. Nach einer schnellen Abnahme bis zum 28. Versuchstag betrug der Rückgang 32 %. Danach nahm die hydraulische Leitfähigkeit wieder zu und erreichte bis zur Temperaturabsenkung, mit 93 %, fast wieder den Ausgangswert. Besonders zwischen dem 33. und dem 65. Versuchstag konnten während der Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit Schwankungen von 10-15 % festgestellt werden. Erhöhte hydraulische Leitfähigkeiten traten stets nach längeren Beaufschlagungspausen auf.

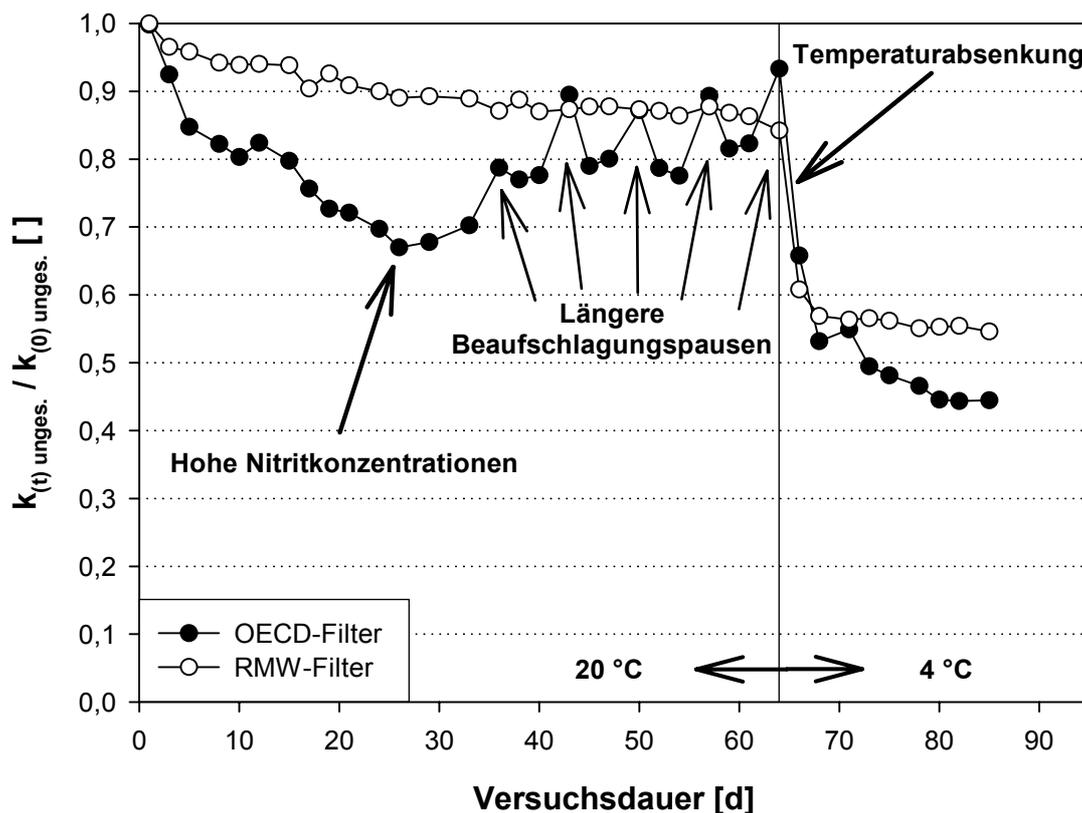


Abb. 20: Verlauf der relativen hydraulischen Leitfähigkeit bei den OECD- und RMW-Filtern im zeitlichen Verlauf (Mittelwerte aus vier Filtern, nach der Temperaturabsenkung aus zwei Filtern).

Die größte Auswirkung auf die hydraulische Leitfähigkeit hatte die Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C. Im Vergleich zu der hydraulischen Leitfähigkeit kurz vor der Tempera-

turabsenkung konnte bei den OECD-Filtern ein Rückgang um 29 % und bei den RMW-Filtern um 23 % festgestellt werden.

Im Gegensatz zu den ständig beaufschlagten Filtern wiesen die beiden nach der Temperaturabsenkung trockengefallenen und am Versuchsende nochmals beaufschlagten Filter deutlich höhere relative hydraulische Leitfähigkeiten auf. Bei dem RMW-Filter betrug der Unterschied 5 % und bei dem OECD-Filter sogar 27 %. Das dreiwöchige Trockenfallen führte beim RMW-Filter zu einer deutlichen Zunahme der relativen hydraulischen Leitfähigkeit auf 61 %. Beim OECD-Filter war die Zunahme auf 74 % wesentlich stärker als beim RMW-Filter. Die Nitrifikations- und die CSB-Reinigungsleistung wurden dagegen durch das Trockenfallen des Filters nicht beeinflusst (siehe Kap. 5.3.1 und 5.3.2).

5.3.4 Partikelmessung

Bei Stichproben vor der Beaufschlagung wurden im OECD-Abwasser keine Partikel gefunden. Beim RMW-Abwasser wurden mittlere Partikelkonzentrationen von $3,1 \cdot 10^6$ Partikel/ml gemessen. Die höchsten Partikelkonzentrationen wurden bei der Filterspülung mit demineralisiertem Wasser ausgetragen. Bei dieser Filterspülung, die vor der ersten Beaufschlagung durchgeführt wurde, lag die Partikelkonzentration zwischen $1,1 \cdot 10^8$ und $6,5 \cdot 10^7$ Partikeln/ml.

Bei den OECD-Filtern gingen innerhalb von elf Tagen die mittleren Partikelkonzentrationen in den Eluaten auf unter $4,0 \cdot 10^6$ Partikel/ml zurück (Abb. 21). Nach 25 Versuchstagen lag der Partikelaustrag deutlich unter $3,0 \cdot 10^6$ Partikel/ml und blieb bis zum Versuchsende auf diesem Niveau. Am Ende der Messungen wurden lediglich $1,1 \cdot 10^6$ Partikel/ml in den Eluaten der OECD-Filter gefunden. Dies entspricht einem Partikelrückgang im Versuchsverlauf von > 99 %.

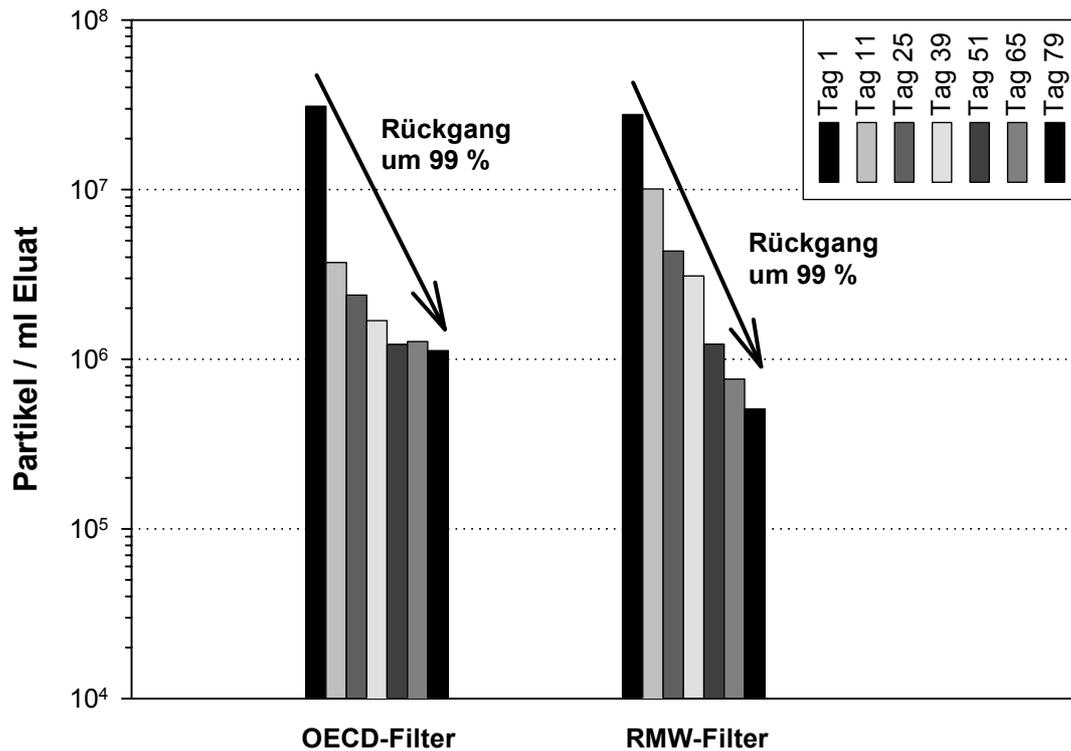


Abb. 21: Partikelkonzentrationen in den Eluaten der OECD- und RMW-Filter im zeitlichen Verlauf (Mittelwerte aus jeweils vier Filtern).

Bei den RMW-Filtern war der Rückgang der Partikelkonzentrationen nicht so abrupt, dennoch wurden auch hier nach 25 Versuchstagen mittlere Partikelkonzentrationen von weniger als $5,0 \cdot 10^6$ Partikel/ml gefunden. Besonders gegen Versuchsende wurden aus den RMW-Filtern weniger Partikel ausgetragen als aus den OECD-Filtern. Die Partikelkonzentrationen des RMW-Eluats betragen am Versuchsende $5,1 \cdot 10^5$ Partikel/ml, was einem Partikelrückgang von $> 99\%$ entspricht.

Die mittleren Partikelkonzentrationen von $3,1 \cdot 10^6$ Partikel/ml im RMW-Abwasser führten zu keinen höheren Partikelkonzentrationen in den Eluaten. In diesen Eluaten wurden sogar weniger Partikel gefunden als in den Filtern, die mit dem partikelfreien OECD-Abwasser beaufschlagt wurden.

Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung in den OECD- und den RMW-Filtern waren nahezu identisch. Bei den OECD-Filtern waren $98 \pm 1\%$ der ausgetragenen Partikel $2,5 \mu\text{m}$ oder kleiner (vier Filter mit insgesamt 63 Messungen). Bei den RMW-Filtern waren $98 \pm 1\%$ der ausgetragenen Partikel $2,0 \mu\text{m}$ oder kleiner (vier Filter mit insgesamt 64 Messungen).

Der KBE- und Partikelaustrag aus den mit OECD-Abwasser beaufschlagten Filtern von Säulenversuch 1 und 2 stimmte nach den ersten Beaufschlagungen mit Werten um 10^6 Partikel bzw. KBE sehr gut überein (vgl. Abb. 14 und 21). Bei der ersten Messung und den anschließenden Beaufschlagungen bis zur zweiten Messung ist aufgrund der großen Diskrepanz zwischen Partikel- und KBE-Zahl von einem verstärkten Ton- und Schluffaustrag auszugehen. Danach erfolgte ein Austrag von einzelnen Zellen oder kleineren Zellaggregaten. Größere Biofilmteile wurden dagegen nicht ausgeschwemmt, wie die Partikelgrößenverteilung zeigt.

5.3.5 Vertikale Nucleinsäureverteilung

OECD-Filter ohne Trockenstress

In Abb. 22 (links) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen der OECD-Filter dargestellt, die während der gesamten Versuchsdauer intermittierend beaufschlagt wurden (Mittelwerte aus zwei Filtern; siehe Anhang 6). In diesen Filtern wurden die höchsten Nucleinsäurekonzentrationen gefunden. Sie betragen $19,8 \mu\text{g/g TG}$ für tRNA, $35,3 \mu\text{g/g TG}$ für rRNA und $63,6 \mu\text{g/g TG}$ für DNA (pro Tiefenstufe wurde wegen geringer Standardabweichung jeweils nur eine Probe analysiert).

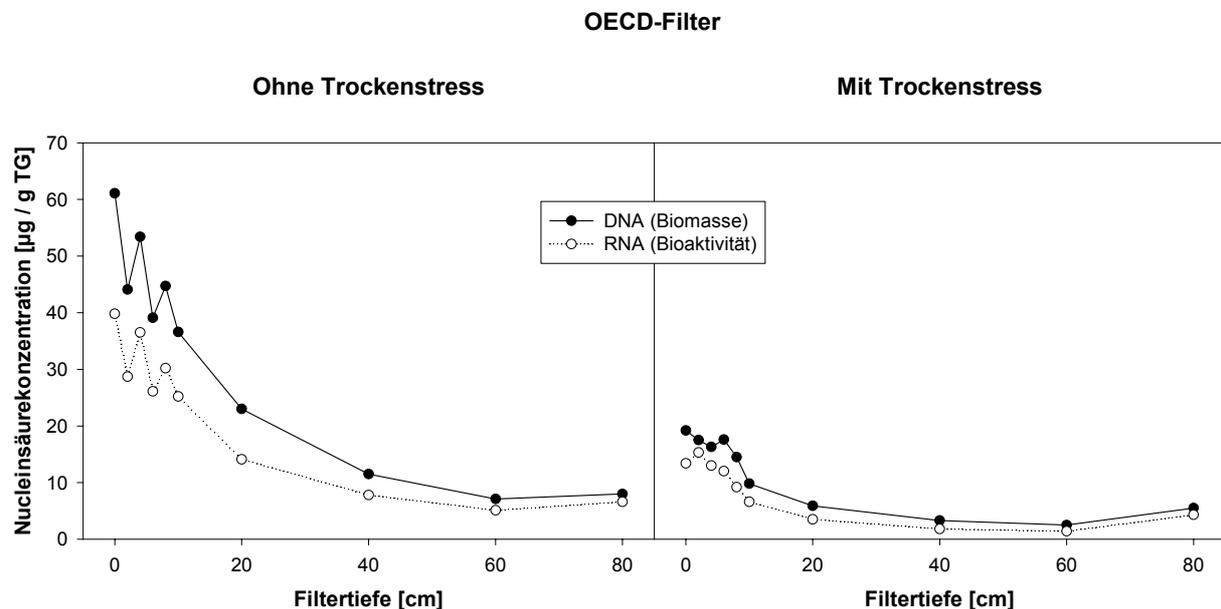


Abb. 22: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den OECD-Filtern (Mittelwerte aus zwei Filtern zusammengefasst). Links: Jeweils 36 Beaufschlagungen ohne Trockenfallen der Filter. Rechts: 27 bzw. 28 Beaufschlagungen und anschließendes Trockenfallen der Filter.

Die Biomasse und die Bioaktivität zeigen einen ähnlichen Verlauf: Eine langsame Abnahme mit zunehmender Tiefe. Bei der DNA konnte zwischen 0 und 80 cm eine etwa sechsfache

Abnahme der DNA-Konzentration und eine etwa vierfache Abnahme der RNA-Konzentration festgestellt werden. In den oberen 10 cm schwankten die Nucleinsäurekonzentrationen sehr stark. Dies konnte darauf zurückgeführt werden, dass es bei einem Filter während einer Beaufschlagung zur Umlagerung des Filtermaterials in den oberen Filterschichten kam. Ansonsten stimmte der Verlauf der DNA- und RNA-Konzentrationen weitgehend mit dem des OECD-Filters aus Säulenversuch 1 überein (siehe Abb. 17).

OECD-Filter mit Trockenstress

In Abb. 22 (rechts) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen in den Filtern dargestellt, die 27- bzw. 28-mal mit OECD-Abwasser beaufschlagt wurden und vor der Probenahme drei Wochen trockenfielen (Mittelwerte aus zwei Filtern; siehe Anhang 6). Über die komplette Filtertiefe wurden etwa drei- bis vierfach geringere DNA- und RNA-Konzentrationen festgestellt als bei den ständig beaufschlagten OECD-Filtern. Besonders die Konzentrationen im Filterzulaufbereich waren deutlich geringer. Die DNA-Konzentration nahm bei deutlich geringeren Konzentrationen mit zunehmender Filtertiefe in vergleichbarer Weise ab wie die OECD-Filter ohne Trockenstress. Eine Ausnahme stellte der Bereich von 6-10 cm dar. Dort wurde ein DNA-Tiefenmaximum und auch leicht höhere RNA-Konzentrationen gefunden. Ein ähnlicher Verlauf der DNA-Konzentration mit einem DNA-Tiefenmaximum konnte auch im trockengefallenen RBF Langenalb festgestellt werden (siehe Abb. 24). Die Ursache für die im Vergleich zum ständig beaufschlagten OECD-Filter etwa dreifach geringeren DNA-Konzentrationen in den obersten Filterschichten sind nicht alleine auf die geringere Anzahl an Beaufschlagungen zurückzuführen. Im Vergleich zu den tieferliegenden Filterschichten wirkte sich der Trockenstress in den oberen Filterschichten am stärksten aus und führte dort zu einer starken Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse, verbunden mit einer starken Abnahme der DNA-Konzentrationen. Die Ausbildung des DNA-Tiefenmaximums, das in beiden trockengefallenen OECD-Filtern beobachtet wurde, ist sowohl auf die Mineralisierung infolge der Austrocknung als auch auf die zu Versuchsende nochmals durchgeführte Beaufschlagung bei einem der Filter zurückzuführen. Diese nochmalige Beaufschlagung am Versuchsende transportierte einen Teil der Biomasse bzw. der DNA in tiefere Filterschichten und führte dort ebenfalls zu einem Anstieg der DNA-Konzentration.

Im Filterablaufbereich, in 80 cm Tiefe, waren die DNA- und RNA-Konzentrationen zwischen den unterschiedlich beaufschlagten OECD-Filtern fast identisch (siehe Abb. 17 und 22). Aufgrund des höheren Wassergehalts in diesem Filterbereich waren die Mikroorganismen einem geringeren oder keinem Trockenstress ausgesetzt (vgl. Kap. 5.2.2). Sie konnten die

Abwasserinhaltsstoffe in diesem Filterbereich während den Beaufschlagungspausen verwerten und Nucleinsäuren produzieren.

RMW-Filter ohne Trockenstress

In Abb. 23 (links) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen der RMW-Filter dargestellt, die während der gesamten Versuchsdauer intermittierend beaufschlagt wurden (Mittelwerte aus zwei Filtern; siehe Anhang 7).

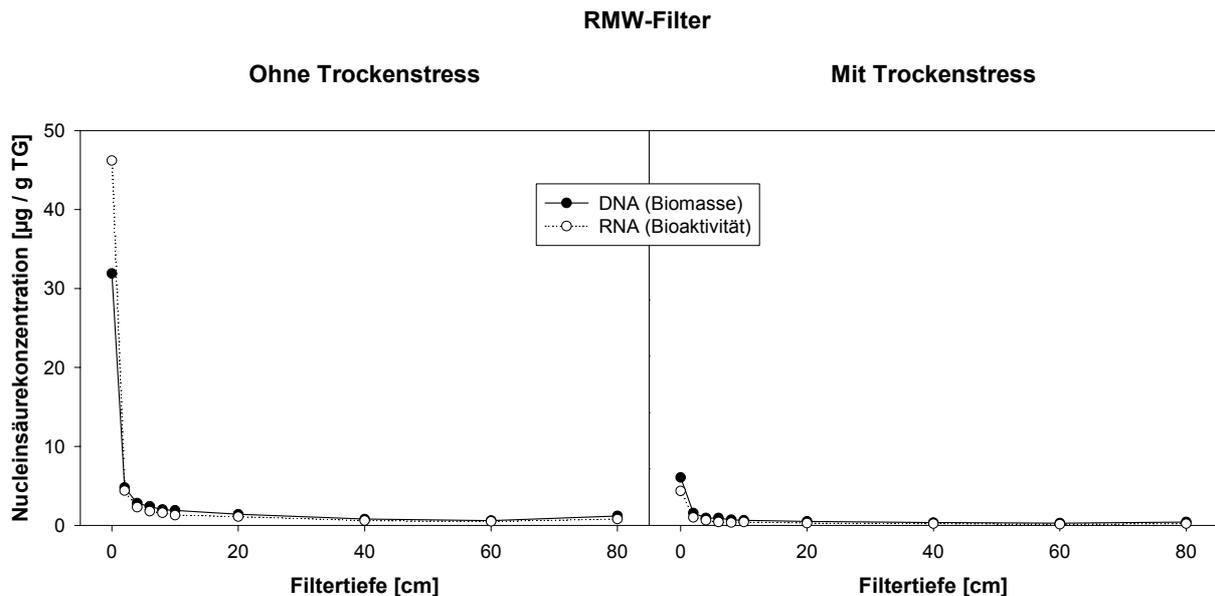


Abb. 23: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den RMW-Filtern (Mittelwerte aus zwei Filtern zusammengefasst). Links: Jeweils 36 Beaufschlagungen ohne Trockenfallen der Filter. Rechts: 27 bzw. 28 Beaufschlagungen und anschließendes Trockenfallen der Filter.

Beim RMW-Abwasser waren die Abwasserinhaltsstoffe sehr stark partikelassoziiert, was dazu führte, dass sie direkt an der Filteroberfläche abfiltriert wurden (siehe Kap. 6.2). In diesen RMW-Filtern wurden deshalb für die DNA- und RNA-Konzentrationen steile Gradienten in der obersten Schicht (0-2 cm) festgestellt. Die RNA-Konzentration nahm innerhalb von 2 cm etwa zehnfach und die DNA-Konzentration etwa sechsfach ab. In den restlichen Tiefenstufen waren die DNA- und RNA-Konzentrationen sehr gering. Die RNA-Konzentration war in der obersten Filterschicht höher als die DNA-Konzentration, was sonst nur noch im KMW(-)Filter aus Säulenversuch 1 beobachtet werden konnte (siehe Abb. 17). Dies führte zu einem sehr hohen RNA/DNA-Verhältnis von 1,6.

RMW-Filter mit Trockenstress

In Abb. 23 (rechts) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen dargestellt, die nur 27- bzw. 28-mal mit RMW-Abwasser beaufschlagt wurden und vor der Probenahme drei

Wochen trockenfielen (Mittelwerte aus zwei Filtern; Anhang 7). Auch hier wurde der steile Gradient bei den DNA- und RNA-Konzentrationen im Filterzulaufbereich, in den ersten Zentimetern, gefunden. Wie bei den trockengefallenen OECD-Filtern wurden auch hier deutlich geringere DNA- und RNA-Konzentrationen festgestellt. Die DNA-Konzentration war etwa sechsfach und die RNA-Konzentration etwa neunfach geringer als die der ständig beaufschlagten Filter. Im Gegensatz zu den OECD-Filtern mit Trockenstress und dem dekolmatierten RBF Langenalb (siehe Kap. 5.4.1) konnte bei den RMW-Filtern mit Trockenstress lediglich eine starke Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse in der obersten Filterschicht festgestellt werden. Ein Transport von Nucleinsäuren bzw. mikrobieller Biomasse in tiefere Filterschichten konnte bei dem trockengefallenen und zu Versuchsende nochmals beaufschlagten RMW-Filter nicht beobachtet werden. Dies deutet darauf hin, dass die mikrobielle Biomasse in der obersten Filterschicht in eine Matrix aus organischen und anorganischem Material eingebettet war, so dass eine Verlagerung nicht stattfinden konnte.

Da sich die DNA fast komplett in der obersten Filterschicht akkumulierte, lässt sich für die RMW-Filter der DNA-Verlust durch den Trockenstress gut abschätzen: Die mittlere DNA-Konzentration der ständig beaufschlagten RMW-Filter betrug $31,9 \pm 8,3 \mu\text{g/g TG}$, die der trockengefallenen RMW-Filter $8,5 \pm 0,4 \mu\text{g/g TG}$ (siehe Abb. 23). Wird eine lineare Biomassezunahme von Beaufschlagung zu Beaufschlagung zugrundegelegt, ergibt sich, nach Abzug der geringeren Beaufschlagungen, eine DNA-Konzentration von $13 \mu\text{g/g TG}$ für die oberste Filterschicht. Daraus errechnet sich eine Abnahme der DNA-Konzentration bzw. der Biomasse um 35 %.

5.4 Anwendungsbeispiel: Retentionsbodenfilter Langenalb

Aufgrund der erfolgreichen Nucleinsäurebestimmung im Labormaßstab wurde die entwickelte Methode im Freiland angewendet. In diesem Kapitel werden die vertikalen und horizontalen Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen im totalkolmatierten und dekolmatierten Retentionsbodenfilter Langenalb aufgezeigt.

5.4.1 Vertikale Nucleinsäureverteilung

In Abb. 24 sind die Verteilungen der Biomasse und der Bioaktivität im Retentionsbodenfilter Langenalb während der Totalkolmation und drei Monate nach der Totalkolmation dargestellt. Dazu sind die Ergebnisse aus drei Beprobungen (Zulauf, Mitte, Ablauf) zu einem Mittelwert zusammengefasst (Anhang 8 und 9). Die Nucleinsäureverteilungen der beiden Probenahmen werden zunächst getrennt beschrieben und dann miteinander verglichen.

Totalkolmatierter Retentionsbodenfilter

In der Abb. 24 (links) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen während der Totalkolmation dargestellt. Bei diesen Messungen wurden mit $167,6 \pm 17,6 \mu\text{g/g}$ TG bzw. $94,0 \pm 52,6 \mu\text{g/g}$ TG die höchsten DNA- und RNA-Konzentrationen aller Messungen gefunden (siehe Anhang 3-9). Sie waren mehr als doppelt so hoch wie die Maximalwerte aus den Sandsäulen von Säulenversuch 2. Die Standardabweichungen waren bei den Freilandbeprobungen deutlich höher als bei den Säulenversuchen, da die Nucleinsäurekonzentrationen an den einzelnen Probenahmestellen (Zulauf, Mitte, Ablauf) sehr unterschiedlich waren. Auf diese Unterschiede wird im nachfolgenden Kap. 5.4.2 eingegangen.

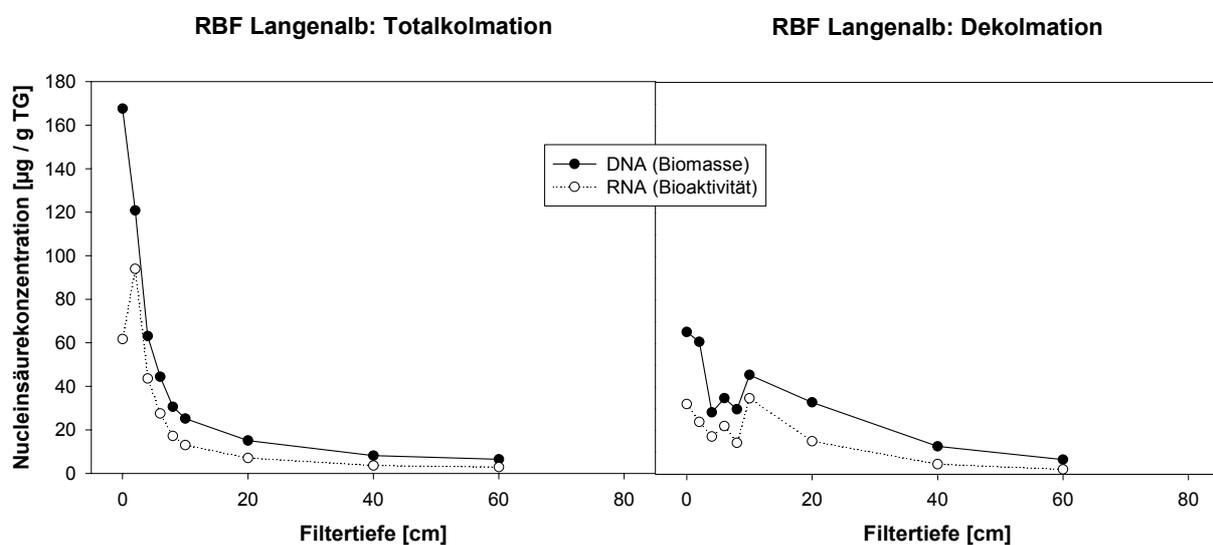


Abb. 24: Verteilung von Biomasse und Bioaktivität im Retentionsbodenfilter Langenalb während einer Totalkolmation (links) und nach drei Monaten (rechts). Zwischen den Probenahmen wurde der Bodenfilter nicht mit Mischwasser beaufschlagt. (Mittelwerte aus drei Beprobungen).

Der Vertikalverlauf der DNA war im totalkolmatierten RBF sehr gleichmäßig und nahm mit zunehmender Filtertiefe exponentiell ab. Im Vergleich zur obersten Schicht war die DNA-Konzentration in 60 cm Tiefe 25-fach geringer. In den Tiefen ab 20 cm war die DNA-Konzentration etwa zehnfach geringer als in den oberen 10 cm. Mit Ausnahme der obersten Filterschicht nahm auch die RNA-Konzentration mit zunehmender Tiefe gleichmäßig und exponentiell ab.

Dekolmatierter Retentionsbodenfilter

In der Abb. 24 (rechts) ist die Verteilung der DNA- und RNA-Konzentrationen der Proben dargestellt, die drei Monate nach der Totalkolmation entnommen wurden. Die maximalen DNA- und RNA-Konzentrationen hatten sich, verglichen mit der Totalkolmation, mehr als

halbiert. Die exponentielle Abnahme der DNA- und RNA-Konzentrationen konnte beim dekolmatierten RBF nicht mehr gefunden werden. In den oberen 6 cm waren die DNA- und RNA-Konzentrationen, verglichen mit den Konzentrationen während der Totalkolmation, wesentlich geringer. Demgegenüber hatten die DNA- und RNA-Konzentrationen in den Tiefen zwischen 10 und 40 cm zugenommen. Der Verlauf der RNA-Konzentration war dem Verlauf der DNA-Konzentration sehr ähnlich. In 60 cm-Tiefe waren die Nucleinsäurekonzentrationen beim dekolmatierten RBF im Vergleich zum totalkolmatierten RBF unverändert. Diese geringen DNA- und RNA-Konzentrationen in 60 cm Filtertiefe zeigen, dass in dieser Tiefe kaum stoffliche Umsetzungen stattfanden, die zu hohen mikrobiellen Biomassen und Bioaktivitäten führten. Stattdessen ist sehr deutlich zu sehen, dass die hohen stofflichen Umsetzungen im RBF überwiegend zwischen 0 und 40 cm stattfanden.

Die Außerbetriebnahme des RBFs (siehe Kap. 4.4) führte bei den Mikroorganismen zu Hungerbedingungen, Trocken- und Kältestress und verringerte deren Biomasse und Bioaktivität deutlich. Besonders in den oberen 10 cm nahmen die Biomasse und Bioaktivität sehr stark ab. In den obersten Filterschichten war die Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse aufgrund des geringeren Schutzes vor der Austrocknung besonders stark. Daneben wurde ein Teil der Nucleinsäuren bzw. der mikrobiellen Biomasse und Bioaktivität in tiefere Filterschichten verlagert. Diese beiden Prozesse führten zu den im Vergleich zum totalkolmatierten RBF höheren Nucleinsäurekonzentrationen in 10-60 cm Filtertiefe. Die Verlagerung von mikrobieller Biomasse und Bioaktivität kann dadurch erklärt werden, dass gestresste oder abgestorbene Biomasse durch Regenereignisse und erneute Beaufschlagungen (vgl. Kap. 4.4) in tiefere Filterschichten transportiert wurde. Eine ähnliche Abnahme der mikrobiellen Biomasse bzw. der Nucleinsäurekonzentrationen in den oberen Filterschichten konnte nach dem Trockenfallen auch bei den OECD-Filtern beobachtet werden (Abb. 22).

Die unterschiedlichen Temperaturen im Filter bei den Probenahmen, von 2,5 °C bei der Totalkolmation und von 15,8 °C beim dekolmatierten RBF, führten zu keinen wesentlichen Unterschieden in den Bioaktivitäten bzw. den RNA-Konzentrationen. Auch RBF-Proben, die nach der Probenahme für 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert und dann analysiert wurden, wiesen sehr ähnliche Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse auf wie die sofort tiefgefrorenen Proben. Die DNA und die RNA in den intakten Mikroorganismen waren somit sehr robust gegenüber höheren Temperaturen. Eine Verringerung der Nucleinsäurekonzentration durch einen enzymatischen Abbau ist auszuschließen, da die Nucleinsäuren in intakten Zellen vor einem Abbau durch Nucleasen geschützt sind.

5.4.2 Horizontale Nucleinsäureverteilung

Bei der Ergebnisdarstellung wurden die oberen sechs Filterschichten von 0-10 cm und die Filterschichten in 20 cm und 40 cm Tiefe zusammengefasst. Die 60 cm-Filterschicht wurde einzeln dargestellt (Anhang 8 und 9).

Horizontale Biomasseverteilung (DNA)

Im totalkolmatierten RBF wurde im gesamten Filterkörper eine geschichtete horizontale DNA-Verteilung gefunden (Abb. 25). Die obere Filterschicht hob sich bezüglich der DNA-Konzentrationen deutlich von den darunterliegenden Filterschichten ab. Besonders in der oberen Filterschicht nahm die Biomasse in allen Filterbereichen von der Totalkolmation zur Dekolmation hin stark ab.

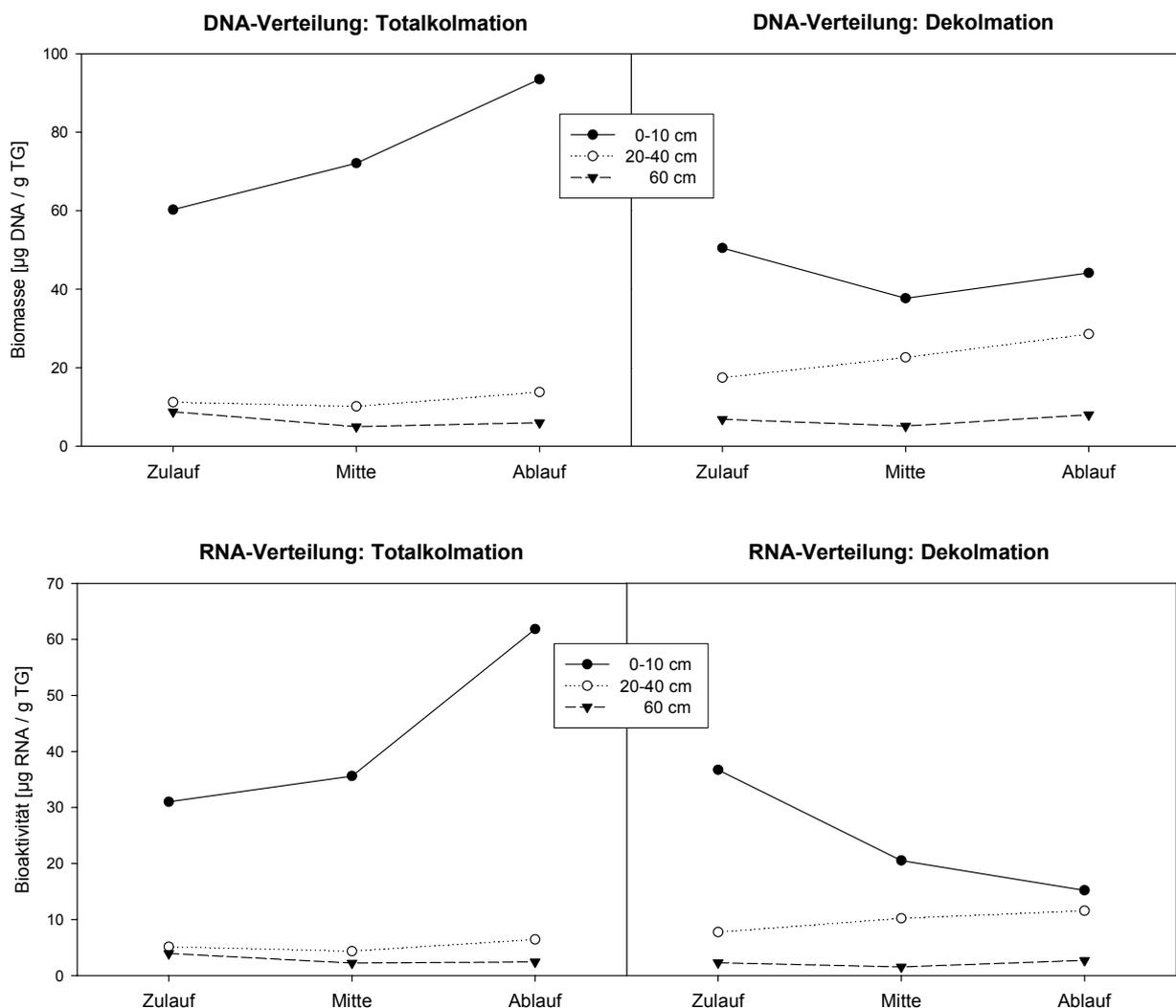


Abb. 25: Horizontale Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung in unterschiedlichen Filtertiefen des RBFs. Zum Zeitpunkt der Totalkolmation (links) und nach der Dekolmation (rechts) des RBFs (Unterschiedliche Ordinatenkalierung).

Die DNA-Konzentrationen in den oberen 10 cm stiegen bei der Totalkolmation vom Zulaufbereich zum Ablaufbereich hin an. Dies ist darauf zurückzuführen, dass im Zulaufbereich überwiegend grobpartikuläre Feststoffe aus dem Mischwasser sedimentierten und dort zu einer hohen Sediment- bzw. Streuschicht führten. Diese Streuschicht wirkte wie ein Filter und hielt viele der Abwasserinhaltsstoffe in dieser Matrix zurück. Durch das Sedimentieren grobpartikulären Materials im Zulaufbereich gelangen deshalb bei einer Beaufschlagung des RBFs relativ viel Schwebstoffe und weniger leicht sedimentierbares Material in den Ablaufbereich des RBFs. Das auf den Filtersand im Ablaufbereich treffende Mischwasser war im Vergleich zum Zulaufbereich nährstoffhaltiger und führte dort zu einer stärkeren Biomasseproduktion, die sich in höheren DNA-Konzentrationen widerspiegelte. Es ist anzunehmen, dass sich in der Streuschicht in allen Filterbereichen ebenfalls hohe Nucleinsäurekonzentrationen finden. Aufgrund der heterogenen, überwiegend organischen Matrix war eine quantitative Nucleinsäurebestimmung dieser Streuschicht nicht möglich.

Die DNA-Konzentrationen des dekolmatierten Filters lagen in der Regel deutlich unter denen des totalkolmatierten Filters. Die DNA-Konzentrationen in den oberen 10 cm waren im dekolmatierten Filter in der Mitte und im Ablaufbereich besonders niedrig. In der Mitte und besonders im Ablaufbereich führte die niedrigere Streuschicht zu einer stärkeren Austrocknung und einer damit verbundenen stärkeren Biomassereduktion. Im Zulaufbereich des Filters verhinderte die höhere Streuschicht eine starke Biomassereduktion. In der 60 cm-Filterschicht waren sowohl beim totalkolmatierten als auch beim dekolmatierten RBF die DNA-Konzentrationen in den drei Filterbereichen ungefähr gleich niedrig. Die Filterschichten ab einer Tiefe von 60 cm spielten beim RBF Langenalb für die Kolmations- und Dekolmationsprozesse im gesamten Längsverlauf keine Rolle.

Horizontale Bioaktivitätsverteilung (RNA)

Aufgrund der ungleichmäßigen Streuschicht stiegen auch die RNA-Konzentrationen der 0-10 cm-Filterschicht des totalkolmatierten Filters vom Filterzulaufbereich zum Filterablaufbereich hin stark an (Abb. 25). Bei der RNA war dieser Konzentrationsanstieg allerdings stärker als bei der DNA und weist auf vergleichsweise hohe Bioaktivitäten bzw. mikrobielle Umsätze im Filterablaufbereich hin.

Beim dekolmatierten RBF waren die RNA-Konzentrationen, wie auch die DNA-Konzentrationen, auf sehr niedrigem Niveau. Eine Ausnahme stellte die 0-10 cm-Filterschicht im Zulaufbereich dar. Dort konnten sogar höhere RNA-Konzentrationen als im totalkolmatierten Filter gefunden werden. Dies kann mit einer Verfrachtung von organischem Material aus der

Streuschicht in die Sandschicht erklärt werden, die dann, trotz der Dekolmationsprozesse in den übrigen Filterbereichen, zu erhöhten Bioaktivitäten führte. Insgesamt waren die RNA-Konzentrationen im Zulaufbereich höher als in der Mitte oder im Ablaufbereich des RBFs. Die Bioaktivitäten im RBF haben sich damit, bezogen auf die Längsachse, umgekehrt: Im totalkolmatierten RBF waren die Bioaktivitäten besonders im Ablaufbereich hoch, im dekolmatierten RBF im Zulaufbereich. Besonders die RNA-Konzentrationen der mittleren Filtertiefe zeigten in allen Filterbereichen im dekolmatierten Zustand höhere RNA-Konzentrationen als im totalkolmatierten Zustand. Im Gegensatz zu den starken Konzentrationsschwankungen in den oberen Filterbereichen wurden bei den RNA-Konzentrationen in der 60 cm-Filterschicht kaum Schwankungen festgestellt, was auf geringe mikrobielle Umsatzleistungen in dieser Schicht hinweist.

6 Auswertung der Ergebnisse

In den folgenden Kapiteln werden wichtige Zusammenhänge, die sich aus den Ergebnissen von Kap. 5 ergeben, aufgezeigt. Des weiteren werden übergreifende Ergebnisse, wie die mikroskopischen Untersuchungen und die Sauerstoffbilanzierung, dargestellt.

6.1 Einfluss der DNA-Konzentration auf die hydraulische Leitfähigkeit

In Abb. 26 ist der Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit aller untersuchten Filter, einschließlich des RBFs Langenalb, gegen die höchste gefundene DNA-Konzentration der untersuchten Filtertiefen aufgetragen. Die höchste DNA-Konzentration war fast ausschließlich in der 0-2 cm Filterschicht lokalisiert. Es wurde vorausgesetzt, dass die Filterschicht mit der maximalen DNA-Konzentration sowohl die höchste Biomassekonzentration als auch die engsten Porenkanäle besitzt. Nach dem Gesetz von Hagen und Poiseuille ist die Filterschicht mit den engsten Porenkanälen diejenige Filterschicht, welche die hydraulische Leitfähigkeit bestimmt.

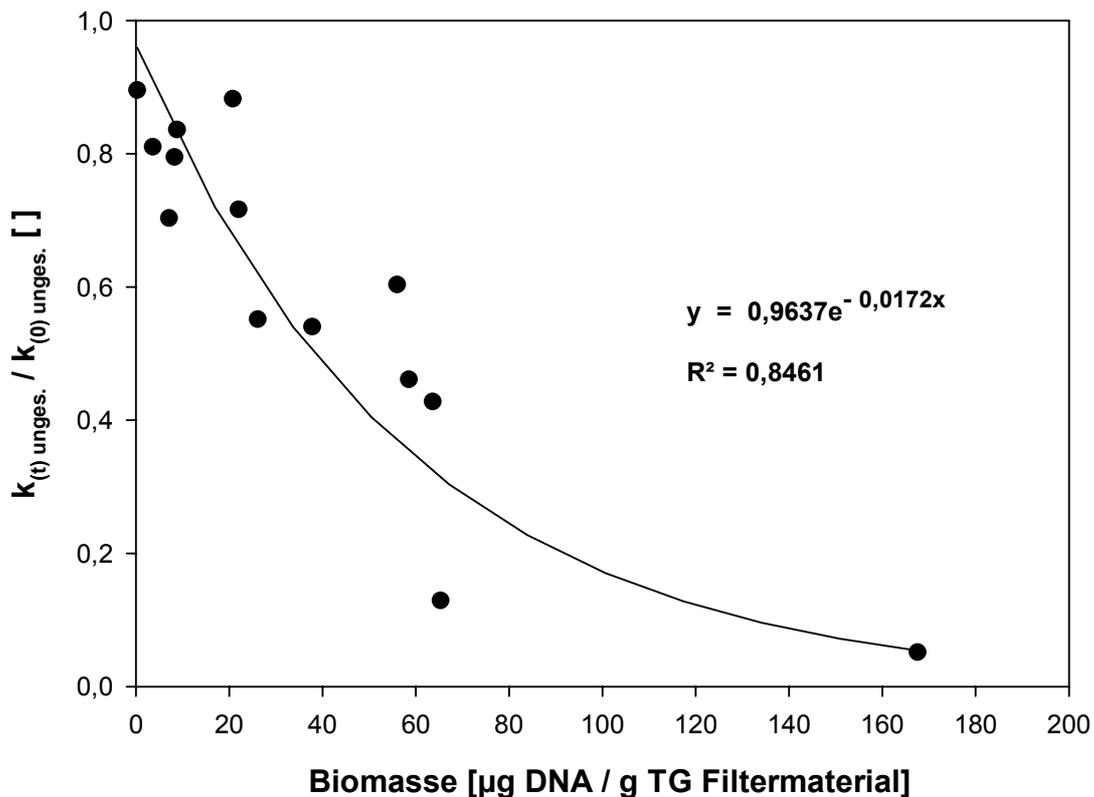


Abb. 26: Exponentielle Abnahme der relativen hydraulischen Leitfähigkeit ($k_{(t) \text{ unges.}} / k_{(0) \text{ unges.}}$) bei zunehmender Biomasse (alle Filter zusammengefasst).

In Abb. 26 ist zu sehen, dass mit zunehmender DNA-Konzentration die relative hydraulische Leitfähigkeit in den Filtern exponentiell abnimmt. Mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,85

korreliert die höchste DNA-Konzentration als Biomasseparameter gut mit der relativen hydraulischen Leitfähigkeit. Ab einer Biomassekonzentration von etwa $40 \mu\text{g DNA/g TG}$ Filtermaterial halbiert sich die relative hydraulische Leitfähigkeit. Ab einer Biomassekonzentration von etwa $100 \mu\text{g DNA/g TG}$ Filtermaterial ist mit erheblich verminderter hydraulischer Leitfähigkeit oder mit einer Totalkolmation des Filters zu rechnen.

6.2 Einfluss des Abwassers auf die DNA-Verteilung

Die Unterschiede in der Nucleinsäureverteilung in den verschiedenen Filtern konnten auf die Feststoffe in den verwendeten Abwässern zurückgeführt werden. Die BSB_5 -Konzentration des Abwassers ist zwar entscheidend für die Biomasseproduktion, für die Eindringtiefe bzw. für den Entstehungsort der Biomasse ist aber das Fehlen oder Vorhandensein organischer Feststoffe ausschlaggebend.

Im Folgenden werden exemplarisch die relativen DNA-Verteilungen von Filtern, die mit partikelfreiem und partikelhaltigem Abwasser beaufschlagt wurden, miteinander verglichen (Abb. 27).

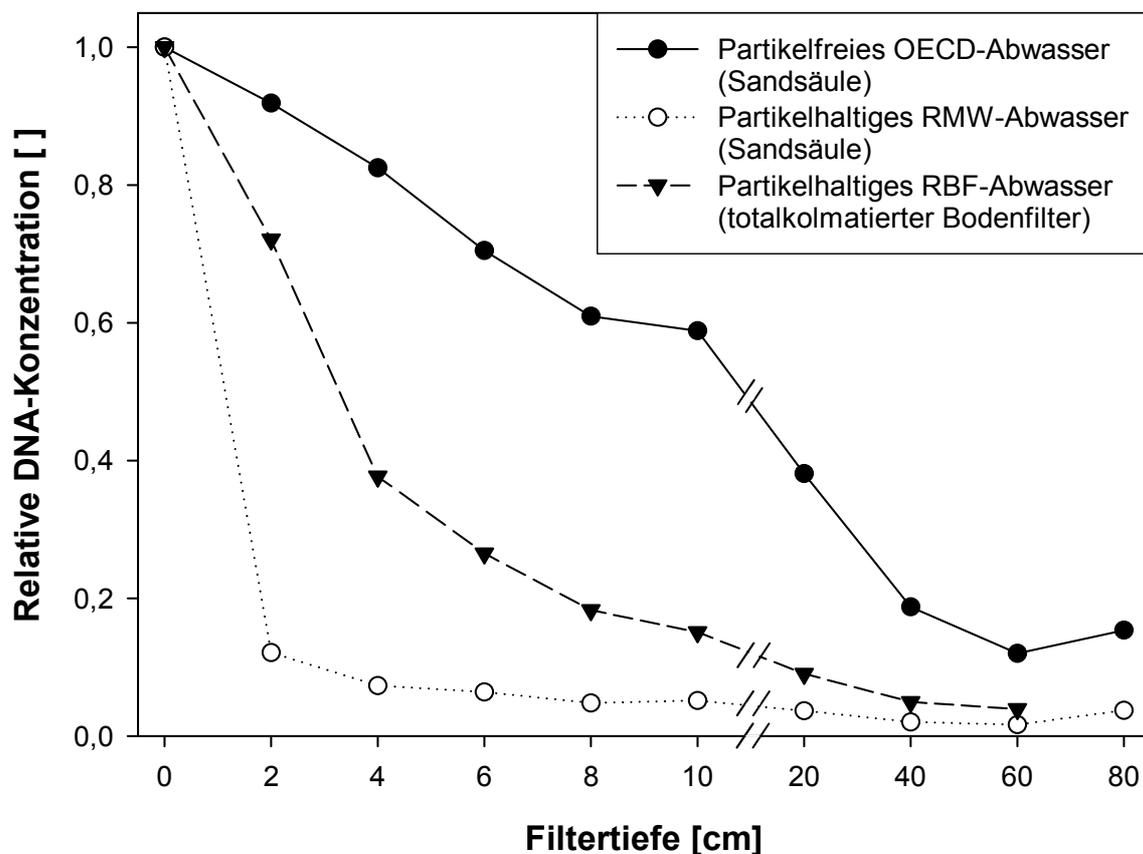


Abb. 27: Einfluss von partikelhaltigem und partikelfreiem Abwasser auf die vertikale Biomasseverteilung (DNA) in den Filtern (Nichtlineare Abszissenskalierung).

In dem mit partikelfreiem OECD-Abwasser beaufschlagten Filter aus Säulenversuch 2 wurde eine gleichmäßige Abnahme der DNA-Konzentration festgestellt (höchste Konzentration: 63,6 $\mu\text{g DNA/g TG}$; Anhang 6). Die DNA-Konzentration in dem ständig mit partikelhaltigem RMW-Abwasser beaufschlagten Filter aus Säulenversuch 2 wies eine sehr starke Abnahme auf (höchste Konzentration: 37,8 $\mu\text{g DNA/g TG}$; Anhang 7), wobei die Abnahme fast ausschließlich auf die ersten beiden Zentimeter beschränkt war. Die gemessenen DNA-Konzentrationen im totalkolmatierten RBF Langenalb (höchste Konzentration: 167,6 $\mu\text{g DNA/g TG}$; siehe Abb. 24) lagen jeweils zwischen den Werten der beiden Sandsäulen. Das Mischwasser des RBFs Langenalb enthielt während der Wintermonate mit einer Zulaufkonzentration von 46 mg/l AFS sehr wenige organische Feststoffe bzw. AFS, wobei die Hälfte der CSB-Konzentration von 37 mg O_2/l im Mischwasser gelöst war (siehe Kap. 4.4 und FUCHS & SCHNABEL 2002). Die tatsächliche Konzentration an partikulären organischen Feststoffen, die auf den Sandfilter gelangte, war jedoch deutlich geringer, da die über dem Sandfilter liegende Streuschicht einen Großteil der partikulären Fracht zurückhielt (Stockwerksedimentation und Auskämmungseffekt, siehe FUCHS & SCHNABEL 2002). Folglich lag der Partikelgehalt des Mischwassers zwischen dem partikelfreien OECD-Abwasser und dem des RMW-Abwassers, das etwa eine mittlere AFS-Konzentration von 37 mg/l und eine mittlere CSB_{part} -Konzentration von 15 mg O_2/l aufwies (siehe Tab. 9).

Die Partikelkonzentration bzw. der organische Feststoffgehalt im Abwasser hat einen fundamentalen Einfluss auf die Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den Filtern. Je partikelhaltiger das Abwasser ist bzw. je mehr organische Feststoffe es enthält, umso größer ist die DNA-Konzentration bzw. die Biomasse in den oberen Zentimetern des Filters. Dieser Vorgang führt zur äußeren Kolmation. Bei einem partikelfreien Abwasser bildet sich die Biomasse auch in tieferen Filterschichten und führt zur inneren Kolmation. Die BSB_5 -Konzentration des Abwassers spielt bei der vertikalen Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung eine wesentlich geringere Rolle als der Gehalt an organischen Feststoffen.

6.3 *BSB₅-Reinigungsleistung und akkumulierte Biomasse*

In diesem Kapitel wird die in den Sandsäulen akkumulierte BSB_5 -Fracht mit der akkumulierten Biomasse verglichen. Zusätzlich wird der Einfluss des Trockenfallens auf die Filter beleuchtet.

In Abb. 28 ist die Korrelation zwischen der akkumulierten BSB_5 -Fracht und der mittleren DNA-Konzentration als Parameter für die Biomasse in den Sandsäulen dargestellt. Die akkumulierte BSB_5 -Fracht wurde aus der CSB-Zulauf Fracht des jeweiligen Filters berechnet.

Von dieser CSB-Zulaufkraft wurde anhand der mittleren CSB-Reinigungsleistung (siehe Kap. 5.2.2 bzw. 5.3.2) und dem Verhältnis zwischen BSB_5 und CSB des jeweiligen Abwassers (siehe Tab. 9) die akkumulierte BSB_5 -Fracht im Filter errechnet.

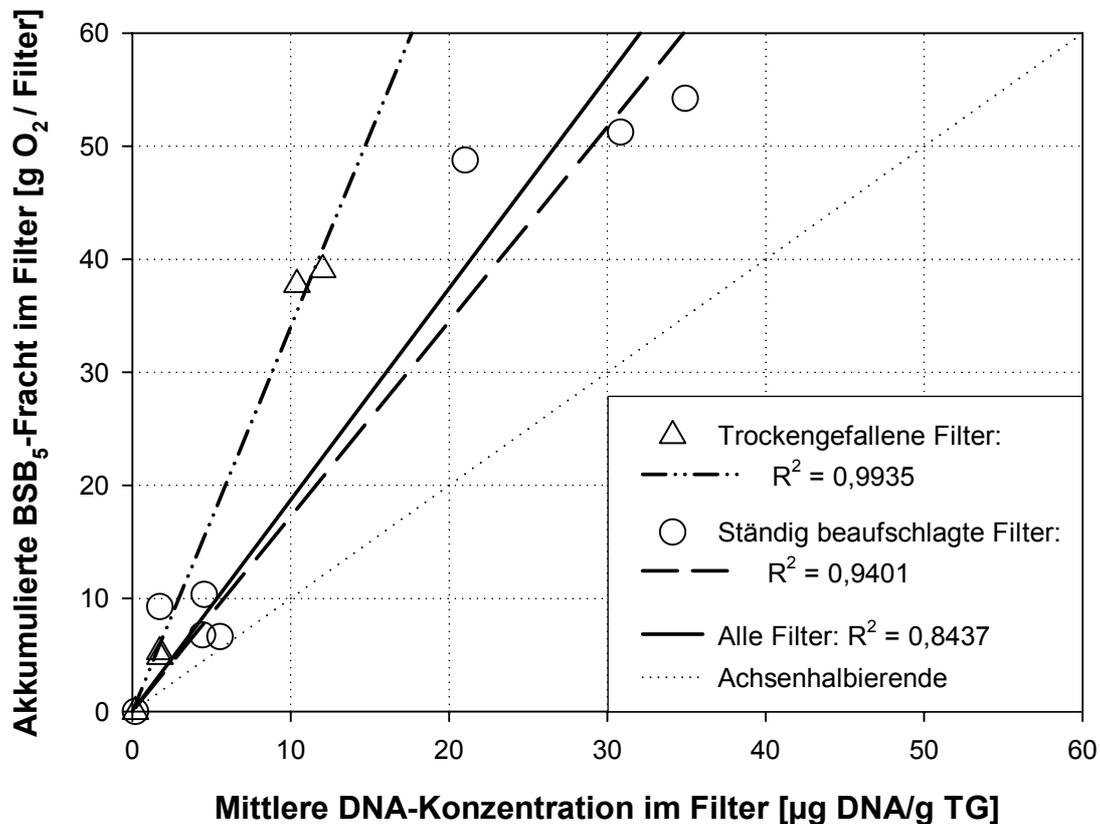


Abb. 28: Korrelation zwischen der akkumulierten BSB_5 -Fracht und der mittleren DNA-Konzentration als Parameter für die akkumulierte Biomasse in allen Filtern von Säulenversuch 1 und 2 (durchgezogene Linie). Zusätzlich sind die Trendlinien der trockenengefallenen Filter (Strichpunktlinie) aus Säulenversuch 2 und der ständig beaufschlagten Filter (gestrichelte Linie) aus Säulenversuch 1 und 2 dargestellt.

Die akkumulierte BSB_5 -Fracht in den Filtern korrelierte mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,84 gut mit der mittleren DNA-Konzentration (siehe Abb. 28). Die Korrelation wird mit Bestimmtheitsmaßen von 0,94 bzw. 0,99 straffer, wenn zwischen den ständig beaufschlagten und den trockenengefallenen Filtern unterschieden wird. Die etwas schwächere Korrelation bei den ständig beaufschlagten Filtern im Vergleich zu den trockenengefallenen Filtern ist darauf zurückzuführen, dass Filter aus den Säulenversuchen 1 und 2 mit unterschiedlichen Versuchsbedingungen (z. B. Beaufschlagungshäufigkeit) korreliert wurden. Je nach Versuchsbedingungen wird bei gleicher BSB_5 -Akkumulation unterschiedlich viel Biomasse in den Filtern gebildet. Bei den ständig beaufschlagten Filtern des Säulenversuchs 1 (Kreise oberhalb der gestrichelten Linie) wurde aufgrund der vergleichsweise längeren Beauf-

schlagungspausen, die sich bereits wie ein Trockenstress auswirkten, weniger Biomasse gebildet als in den Filtern aus Säulenversuch 2 (Kreise unterhalb der gestrichelten Linie).

Erwartungsgemäß wurde in den trockengefallenen Filtern im Vergleich zu den ständig beaufschlagten Filtern weniger Biomasse gefunden. Der Rückgang der mittleren DNA-Konzentration in den trockengefallenen Filtern wurde vom verwendeten Abwasser beeinflusst. Der Unterschied in den mittleren DNA-Konzentrationen war zwischen den ständig beaufschlagten OECD-Filtern (siehe Abb. 28: Zwei Kreise über 30 µg DNA/g TG) und den trockengefallenen OECD-Filtern (siehe Abb. 28: Zwei Dreiecke bei 10 µg DNA/g TG) wesentlich stärker als zwischen den ständig beaufschlagten RMW-Filtern (siehe Abb. 28: Zwei überlappende Kreise bei 6 µg DNA/g TG) und den trockengefallenen RMW-Filtern (siehe Abb. 28: Zwei überlappende Dreiecke bei 2 µg DNA/g TG). Bei den trockengefallenen RMW-Filtern waren die mittleren DNA-Konzentrationen nur unwesentlich geringer als bei den ständig beaufschlagten RMW-Filtern. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch die äußere Kolmation in den RMW-Filtern die DNA-Verteilung auf eine Filterschicht von wenigen Zentimetern beschränkt war (siehe Abb. 27). Diese kompakte Schicht, die sich aus organischem und anorganischem partikulärem Material des AFS-haltigen RMW-Abwassers zusammensetzte, bot einen wesentlich besseren Schutz vor dem Trockenfallen der Filter als dies bei den OECD-Filtern der Fall war, bei denen diese Schicht weniger kompakt war und lediglich aus mikrobieller Biomasse bestand (siehe Abb. 22).

6.4 Mikroskopische Untersuchungen

Mit Hilfe der licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen sollte der Anteil der Bakterien, Pilze und tierischen Ein- oder Mehrzeller an der gesamten mikrobiellen Biomasse festgestellt werden. Ein hoher Anteil eukaryotischer Zellen hätte Auswirkungen auf die Ergebnisse der Nucleinsäurebestimmungen, da sie deutlich höhere Nucleinsäuregehalte aufweisen als Bakterien. Darüber hinaus sollte die räumliche Ausdehnung der Biofilme auf den Sandkörnern untersucht werden.

Lichtmikroskopische Befunde

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Proben aus dem Säulenversuch 2 ergab eine ähnliche mikrobielle Zusammensetzung in dem OECD- und dem RMW-Filter. In allen untersuchten Proben bestand die mikrobielle Biomasse zu etwa 95 % aus Bakterien. Es handelte sich dabei hauptsächlich um kokkenförmige Bakterien. Stäbchenförmige Bakterien kamen in weitaus geringeren Abundanzen vor. Nur selten wurden kugelförmige Protozoen oder fadenförmige Strukturen, die für Pilze charakteristisch sind, gefunden.

Die Bakterien kamen meist in Haufenstrukturen vor, die durch extrazelluläre polymere Substanzen (EPS), eine gelartige Matrix, zusammengehalten wurden. Der EPS-Anteil an den Haufenstrukturen machte dabei anhand des lichtmikroskopischen Bildes etwa 20 % des Volumens aus.

Der Vergleich zwischen den Filterschichten zeigte keinen Unterschied in der mikrobiellen Zusammensetzung. Die Abundanz der Mikroorganismen nahm aber mit zunehmender Filtertiefe merklich ab.

Rasterelektronenmikroskopische Befunde

Bei den REM-Aufnahmen wurden die Proben des Säulenversuchs 2 und Proben aus dem RBF Langenalb zunächst auf ihre Besiedlungsstruktur hin untersucht. Dabei fiel auf, dass das Filtermaterial äußerst spärlich besiedelt war – auf den meisten Sandkörnern konnten keine Mikroorganismen oder Spuren davon gefunden werden. Daneben wurden Sandkörner gefunden, die von einem gleichmäßigen Biofilm überzogen waren oder auf denen sich bakterielle Haufenstrukturen befanden (Abb. 29 und 30). Die abgebildeten REM-Aufnahmen stammen vom Filtermaterial eines OECD-Filters aus Säulenversuch 2, der über den gesamten Versuchszeitraum beaufschlagt wurde. Das Filtermaterial wurde aus dem peripheren Bereich der obersten Filterschicht (0-2 cm) entnommen. Durch die verwendete Präparationsmethode konnten einzelne Bakterienzellen nur in Ausnahmefällen in ihrer ursprünglichen Form abgebildet werden. Diese hatten eine Größe $< 5 \mu\text{m}$, was den Ergebnissen der Partikelgrößenverteilung in etwa entspricht (vgl. Abb. 29 und 30 mit Kap. 5.2.4 und 5.3.4). Aufgrund der Ausprägung des Biofilms kann von einer überwiegend bakteriellen Besiedlung ausgegangen werden. Es konnten keine mycelartigen oder filamentösen Strukturen und keine Proto- oder Metazoen gefunden werden.

Die auf dem Filtermaterial gewachsenen Biofilme waren zum Teil sehr voluminös (vgl. Abb. 31). Der Biofilm in Abb. 31 war trotz der methodisch notwendigen Dehydrierung zwischen $30\text{-}60 \mu\text{m}$ mächtig, wie der Abbildungsmaßstab in der Legende zeigt. Die REM-Aufnahme veranschaulicht sehr gut, wie der Biofilm die Bodenpore ausfüllt. Diese bakterielle Porenraumverstopfung verringert ganz entscheidend den Querschnitt des Porenkanals und damit die hydraulische Leitfähigkeit.

Alle untersuchten Biofilme wiesen mehr oder weniger große anorganische Bestandteile in der Biofilmmatrix auf (Abb. 31, Schluffpartikel am linken Bildrand). Meist handelte es sich bei den Einschlüssen um Schluff- oder Tonpartikel.

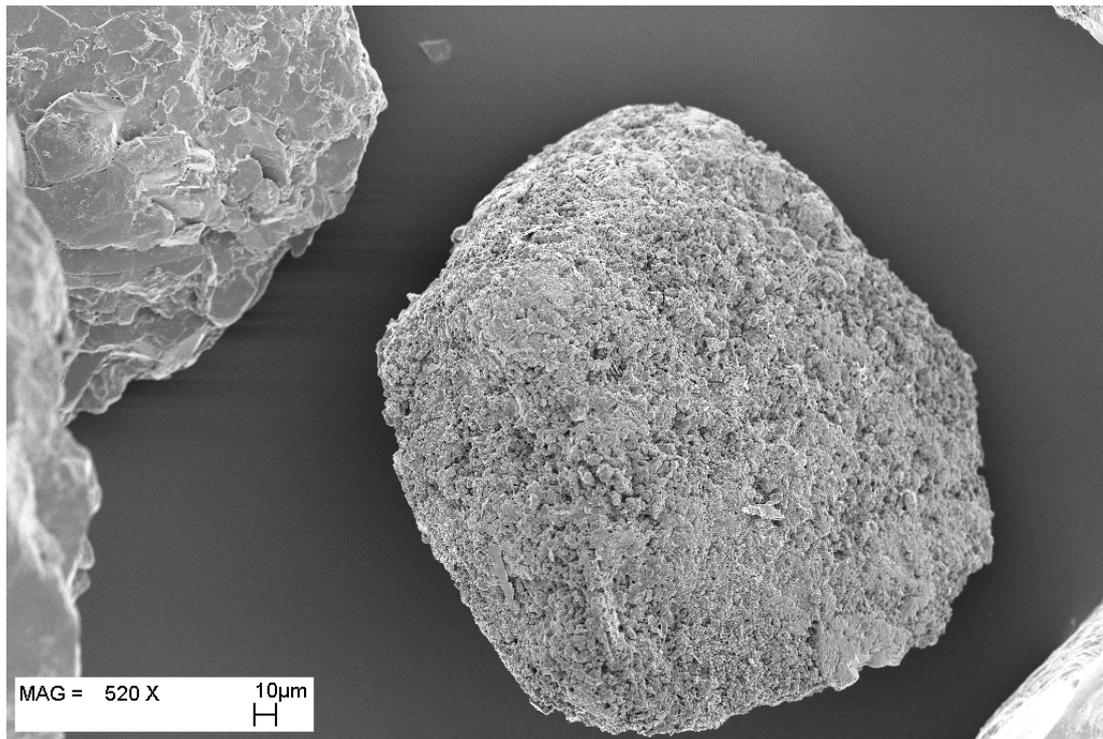


Abb. 29:REM-Aufnahme eines unbewachsenen Sandkorns (links oben) und eines mit einem gleichmäßigen Biofilm überwachsenen Sandkorns (Bildmitte).

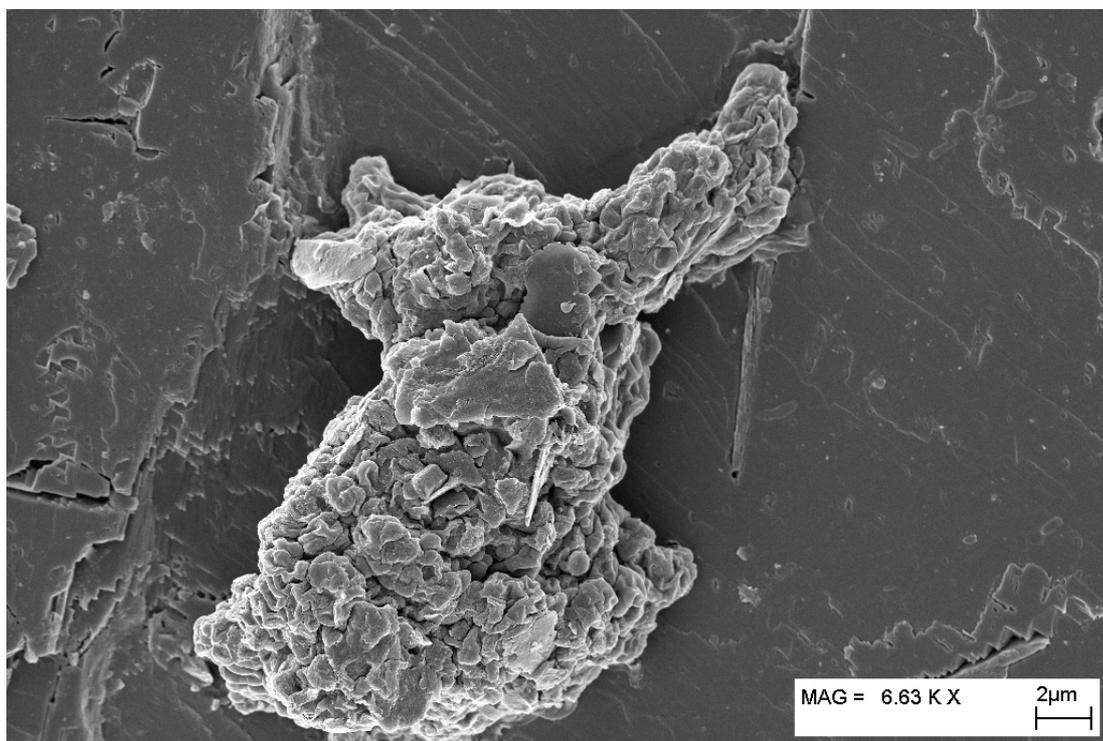


Abb. 30:REM-Aufnahme einer bakteriellen Haufenstruktur auf dem Filtermaterial.

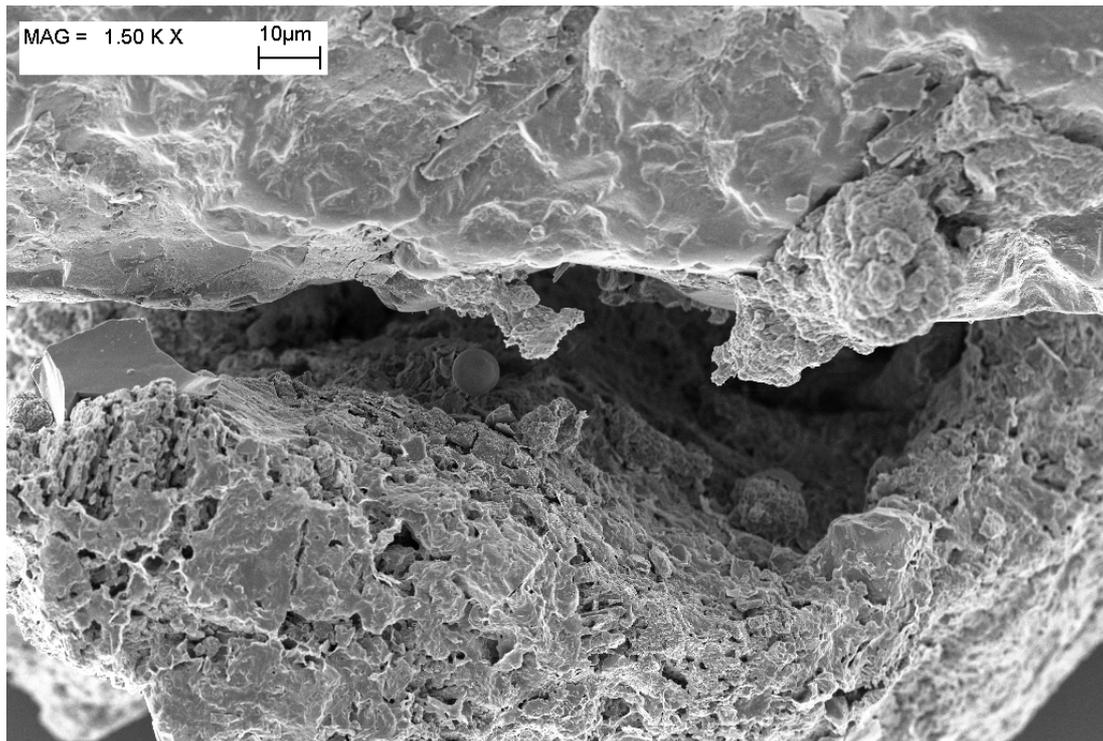


Abb. 31:REM-Aufnahme einer kolmatierten Bodenpore. Am oberen Bildrand ist das Sandkorn zu sehen. Am unteren Bildrand ist der sehr voluminöse Biofilm zu sehen. Der Biofilm hat eine Dicke von 30-60 µm. Der Biofilm verringert den Querschnitt des Porenkanals erheblich.

Die Ergebnisse der licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen ergänzen sich gegenseitig und können wie folgt zusammengefasst werden: Bei den qualitativen Untersuchungen ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung und Struktur der Biofilme in den verschiedenen Filtern. Die mikrobielle Biomasse bestand zu über 95 % aus Bakterien, wobei es sich dabei hauptsächlich um kokkenförmige Bakterien handelte. Die mikrobielle Besiedlung des Filtermaterials nahm mit zunehmender Filtertiefe ab, änderte jedoch nicht ihre Zusammensetzung. Das Filtermaterial war nicht komplett bewachsen. Neben vielen unbewachsenen Sandkörnern konnten wenige gleichmäßige und sehr dicht bewachsene Sandkörner gefunden werden. Die Biofilme waren sehr dick und voluminös. In allen Biofilmen konnten anorganische Einschlüsse in Form von mineralischen Partikeln gefunden werden.

6.5 Parametervergleich durch Regressionsanalyse

Ziel des Parametervergleichs war es, die Nucleinsäurebestimmung mit herkömmlichen Methoden zur Biomasse- und Bioaktivitätsbestimmung zu vergleichen.

In Tab. 14 sind die Korrelationen ausgewählter Biomasse- und Bioaktivitätsparameter, sowie die Korrelation der Nucleinsäuren untereinander zusammengefasst.

Tab. 14: Korrelationen der Biomasse- und Bioaktivitätsparameter.

Korrelation	R ²	Anzahl N	Datenherkunft
Biomasse			
DNA vs KBE	0,956	20	Säulenversuch 1
DNA vs Dehydrogenaseaktivität	0,972	26	Säulenversuch 1
DNA vs CSB	0,527	125	Säulenversuch 1+2, RBF
Bioaktivität			
Dehydrogenaseaktivität vs TKN	0,974	26	Säulenversuch 1
RNA vs Dehydrogenaseaktivität	0,949	26	Säulenversuch 1
Nucleinsäuren			
DNA vs RNA	0,818	173	Säulenversuch 1+2, RBF

Bei den Parametern für die Biomasse konnte zwischen den DNA-Konzentrationen und den KBE-Zahlen die beste Korrelation festgestellt werden (Tab. 14). Die Korrelation zwischen DNA und CSB war sehr gering. Der CSB-Wert eignet sich daher nicht, um vorab die Konzentration vorhandener Biomasse in Bodenkörpern grob abschätzen zu können. Bei der Bioaktivität korrelierten die in der Tab. 14 aufgeführten Parameter sehr gut miteinander. Die gute Korrelation der DNA-Konzentration mit der Dehydrogenaseaktivität und der RNA-Konzentration macht deutlich, dass die Biomasse in den abwasserdurchsickerten Sandsäulen sehr eng mit der Bioaktivität verbunden ist.

Des Weiteren konnte eine sehr gute Korrelation zwischen der Dehydrogenaseaktivität und dem Kjeldahl-Stickstoff (TKN) gefunden werden, was auf einen engen Zusammenhang zwischen den Nitrifikationsprozessen und der Bioaktivität hinweist.

6.6 RNA/DNA-Verhältnis

Das RNA/DNA-Verhältnis in 288 untersuchten Filterproben betrug $0,60 \pm 0,10$ und zeigte damit nur geringe Schwankungen (Anhang 3-9). Deshalb wurde für die Bioaktivitätsverteilung in den Filtern, wie in Kap. 5.2.6 beschrieben, anstelle des RNA/DNA-Verhältnisses die

RNA-Konzentration verwendet. Insgesamt konnte bei den meisten Filtern eine leichte Abnahme des RNA/DNA-Verhältnisses von oben nach unten festgestellt werden.

Das geringste RNA/DNA-Verhältnis wurde mit $0,28 \pm 0,10$ im Kontroll-Filter des Säulenversuchs 1 gefunden. Die Nucleinsäuren stammten dabei, im Gegensatz zu den abwasserbeaufschlagten Filtern, von sandbürtigen Mikroorganismen. Die höchsten RNA/DNA-Verhältnisse wurden mit 1,60 in der obersten Filterschicht des KMW(-)-Filters und in einem der beiden ständig beaufschlagten RMW-Filter festgestellt. Im nicht angeimpften KMW(-)-Filter war das mittlere RNA/DNA-Verhältnis bis zur 10-12 cm Filterschicht $> 1,00$. Vergleichbar hohe RNA/DNA-Verhältnisse über eine größere Filterschicht wurden sonst bei keinem Filter beobachtet. Im Vergleich zum angeimpften KMW(+)-Filter waren die absoluten Nucleinsäurekonzentrationen im KMW(-)-Filter deutlich geringer (vgl. Abb. 17).

Die Unterschiede im RNA/DNA-Verhältnis bei den mit unterschiedlichen Abwässern beaufschlagten Filtern aus Säulenversuch 2 waren sehr gering. Selbst die dreiwöchige Nichtbeaufschlagung der OECD- und RMW-Filter führte zu keinen signifikant anderen RNA/DNA-Verhältnissen. Ebenso waren die mittleren RNA/DNA-Verhältnisse von $0,51 \pm 0,13$ im totalkolmatierten RBF mit denen des dekolmatierten RBFs von $0,48 \pm 0,15$ fast identisch. Auch die großen Temperaturunterschiede von mehr als 15 °C bei den Säulenversuchen und bei den beiden RBF-Beprobungen hatten keinen signifikanten Einfluss auf das RNA/DNA-Verhältnis der Mikroorganismen. Das RNA/DNA-Verhältnis lag in den Säulenversuchen, mit Ausnahme der Kontrolle, leicht über den Werten aus dem RBF.

6.7 Sauerstoffbilanzierung

In Kap. 6.7.1 wird zunächst der physikalische Sauerstoffeintrag in die Filter berechnet. In Kap. 6.7.2 wird der Sauerstoffbedarf für den Stoffumsatz einer Beaufschlagung des OECD-Filters aus Säulenversuch 1 berechnet. In Kap. 6.7.3 wird abschließend die Frage beantwortet, wieviel Zeit die Mikroorganismen für die Oxidation der Abwasserinhaltsstoffe benötigen.

6.7.1 Physikalischer Sauerstoffeintrag

Der Sauerstoffeintrag in den Filter erfolgt durch Konvektion und Diffusion (PLATZER 1998). Der Sauerstoffeintrag durch das Abwasser wurde vernachlässigt. Bei einem Sauerstoffgehalt der Luft von 21 % und einem Austausch von 8,5 l Wasser bzw. Luft ergibt sich durch Konvektion ein Sauerstoffeintrag in den Filter von 2,55 g O₂ (PLATZER 1998).

Bei der Diffusion über den Filterzulauf wird eine Diffusionsstrecke des Sauerstoffs bis in eine Tiefe von 30 cm zugrundegelegt. Aufgrund des Kapillarwassers im Filterablaufbereich wird eine Diffusion über den Filterablauf vernachlässigt. Nach PLATZER (1998) wird ein Sauer-

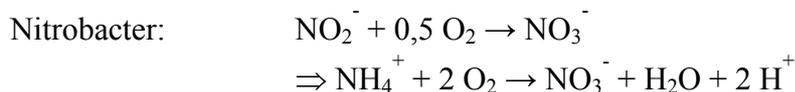
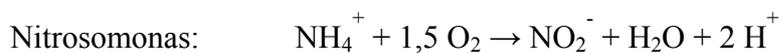
stoffeintragswert von $1,0 \text{ g O}_2/(\text{m}^2\cdot\text{h})$ angenommen. Daraus errechnet sich ein Sauerstoffeintragswert von $28,4 \text{ mg O}_2/(\text{Filterfläche}\cdot\text{h})$ für den Filter. In der ersten Stunde wird aufgrund der Perkolation und der Konvektion von keinem nennenswerten Sauerstoffeintrag durch Diffusion ausgegangen. Bei einer dreitägigen Beaufschlagungspause kann somit ca. 71 Stunden Sauerstoff in den Filter diffundieren. Daraus ergibt sich ein Sauerstoffeintrag von $2,02 \text{ g O}_2$. Aus Konvektion und Diffusion ergibt sich ein theoretischer Sauerstoffeintrag von $4,57 \text{ g O}_2$ in den Filter. Etwa 56 % des Sauerstoffs gelangt durch Konvektion in den Filter, 44 % durch Diffusion.

Da es sich bei dem Sauerstoffeintrag durch Konvektion um einen konstanten Wert handelt, ist die Diffusion der limitierende Faktor bei der Sauerstoffversorgung. Außerdem ist der durch die Diffusion entstehende Sauerstoffgradient im Filter wesentlich verantwortlich für die Stoffumsetzung und für die Verteilung der Biomasse und der Bioaktivität. Letztlich spielt auch die gebildete bzw. akkumulierte Biomasse in den oberen Filterschichten eine wichtige Rolle bei der Sauerstoffdiffusion: Je stärker die Porenkanäle von Biomasse zugewachsen sind, desto geringer wird die Durchlässigkeit und der Sauerstoffeintrag in die tieferliegenden Filterbereiche.

6.7.2 Sauerstoffbedarf für den spezifischen Stoffumsatz

Die Sauerstoffberechnung wurde für den OECD-Filter des Säulenversuchs 1 bei der 27. Beaufschlagung (64. Versuchstag) durchgeführt. Der Sauerstoffumsatz bei dieser Beaufschlagung war hoch und eignete sich deshalb besonders für die Sauerstoffbilanzierung. Bei dieser Beaufschlagung wurde die höchste Nitratkonzentration im Ablauf und eine hohe CSB-Reinigungsleistung gefunden.

Um Ammonium zu Nitrat umzusetzen werden von den Nitrifikanten 2 mol O_2 benötigt (MUDRACK & KUNST 1988):



Bei einer Nitratkonzentration von 374 mg/l errechnet sich eine Nitratfracht von $3,2 \text{ g}$ ($51,3 \text{ mmol}$). Für die Nitrifikation werden $102,5 \text{ mmol O}_2$ benötigt ($2\cdot 51,3 \text{ mmol}$). Daraus errechnet sich eine Sauerstoffmenge von 3282 mg O_2 für die Oxidation von Ammonium zu Nitrat.

Bei einer kompletten Umsetzung der DOC-Fracht [850 mg DOC (dissolved organic carbon, gelöster organisch gebundener Kohlenstoff)] ergibt sich daraus ein Sauerstoffbedarf von

1133 mg O₂ pro Beaufschlagung. Es wurde angenommen, dass die Stickstoffverbindungen zu Nitrat oxidiert wurden. Somit ist dieser Sauerstoffbedarf bereits berücksichtigt.

Für die 27. Beaufschlagung wurde die folgende Sauerstoffmenge benötigt:

Oxidation von NH ₄ ⁺ zu NO ₃ ⁻ :	3282 mg O ₂
Oxidation des organischen Materials:	+ 1133 mg O ₂
<hr/> O ₂ -Gesamtmenge für die Oxidation:	<hr/> 4415 mg O ₂

Daraus ergibt sich ein Sauerstoffbedarf von 4,42 g O₂ für die 27. Beaufschlagung des OECD-Filters aus Säulenversuch 1. Dies entspricht einem Sauerstoffbedarf von 15,4 g O₂/m² Filterfläche.

Beim Vergleich des abgeschätzten physikalischen Sauerstoffeintrags von 4,57 g O₂ aus Kap. 6.7.2 mit dem in diesem Kapitel berechneten Sauerstoffbedarf von 4,42 g O₂ fällt auf, dass sich die beiden Werte annähernd entsprechen. Die Schwankungen der Nitratlaufkonzentrationen während der Plateauphase bei den OECD-Filtern sind möglicherweise auf eine mangelnde Sauerstoffversorgung zurückzuführen.

6.7.3 Mikrobielle Sauerstoffkonsumption

In Tab. 15 ist die mittlere BSB₅-Fracht einer Beaufschlagung für die verschiedenen Filter des Säulenversuchs 1 dargestellt. Zusätzlich wurde die maximale Sauerstoffkonsumptionsrate dargestellt, die anhand der Dehydrogenaseaktivität berechnet wurde (vgl. Kap. 4.3.5). Bei allen untersuchten Filtern lag die mittlere maximale Sauerstoffkonsumptionsrate deutlich unter der eingetragenen BSB₅-Fracht.

Tab. 15: Theoretischer Zeitbedarf der Mikroorganismen zur Oxidation der BSB₅-Fracht am Ende des Säulenversuchs 1.

Filter	Mittlere sauerstoffzehrende Fracht [mg O ₂ /Filter]	Sauerstoffkonsumptionsrate [(mg O ₂)/(h·Filter)]	Theoretischer Zeitbedarf für die Oxidation [h]
KMW(-)	449	80	5,6
KMW(+)	447	88	5,1
OECD(+)	1861	510	3,6

Bei den Beaufschlagungen dauerte es weniger als eine Stunde bis 7,5 l Abwasser durch die Filter perkolierte. Selbst bei maximaler Sauerstoffkonsumptionsrate der Mikroorganismen konnte die BSB₅-Fracht in dieser kurzen Zeit nicht vollständig oxidiert werden. Je nach Filter dauerte die Oxidation der Abwasserinhaltsstoffe durch die Enzyme (Dehydrogenasen)

mindestens zwischen 3,6 und 5,6 Stunden. Das bedeutet, dass die Abwasserinhaltsstoffe während der Perkolation aktiv und/oder passiv in den oberen Filterbereichen zurückgehalten wurden und die Oxidation während der Beaufschlagungspause andauerte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Beaufschlagungspausen für die aerobe Mikroorganismenpopulation sehr wichtig sind. Trotz der biochemisch sehr schnell ablaufenden Reaktionen benötigen die Mikroorganismen zwischen den Beaufschlagungen Zeit für den Stoffumsatz der Abwasserinhaltsstoffe und damit für Wachstum und Biomasseproduktion. Der durch die Diffusion entstehende Sauerstoffgradient im Filter ist für die Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen und damit für die Biomasseverteilung von großer Bedeutung.

7 Diskussion

Zunächst wird die Methode zur Nucleinsäurebestimmung, die für abwasserdurchsickerte Filterkörper weiterentwickelt wurde, diskutiert. Im Anschluss daran erfolgt die Diskussion sämtlicher Labor- und Freilandergebnisse. Bei den Laborergebnissen werden zuerst die Reinigungsleistungen und die mikrobiellen Prozesse in den Filtern erläutert, danach wird die Verteilung der Biomasse und Bioaktivität in den Filtern diskutiert. Im folgenden Kapitel werden die Mechanismen aufgezeigt, die zur Kolmation bzw. Dekolmation führen. Aus diesen Mechanismen und Prozessen wird ein Modell abgeleitet, das die mikrobielle Kolmation und Dekolmation erklärt. Abschließend wird die Bedeutung der Ergebnisse für die Praxis herausgestellt und Empfehlungen für den Betrieb von Bodenfiltern gegeben.

7.1 Nucleinsäurebestimmung

Mit der in Kap. 4.2 vorgestellten Methode ist es erstmals möglich, die DNA, rRNA und tRNA aus Bodenkörpern simultan quantitativ zu isolieren. Damit steht eine Methode zur Verfügung, mit der die mikrobielle Kolmation detailliert untersucht werden kann.

7.1.1 HPLC-Chromatogramme

RNase-freies Arbeiten

Im Gegensatz zu den Freilanduntersuchungen von DELL'ANNO et al. (1998) und den Angaben in STOECK et al. (1998), die als Grundlage für die Methodenentwicklung verwendet wurden, waren bei den hier durchgeführten Untersuchungen zur Nucleinsäurebestimmung spezielle RNase-freie Arbeitsschritte unerlässlich. Ohne diese RNase-freien Bedingungen konnte lediglich die DNA qualitativ erfasst werden. Spezielle RNase-freie Arbeitsschritte sind in den meisten Arbeiten zu finden, die sich mit der Isolierung von RNA (und DNA) aus Sedimenten, Böden oder sonstigen Umweltproben befassen (MORAN et al. 1993; GRIFFITHS et al. 2000; HURT et al. 2001). Auch bei der Untersuchung von Abwasserproben werden stets RNase-freie Arbeitsweisen angewandt (MUTTRAY & MOHN 1998; YU & MOHN 1999; GRIFFITHS et al. 2000; HURT et al. 2001). Bei marinen Sedimenten (DELL'ANNO et al. 1998) oder Reinkulturen (COPPELLA et al. 1987) sind diese speziellen Vorkehrungen nicht obligatorisch. Die eigenen Untersuchungen haben gezeigt, dass die Nucleinsäuren in den unzerstörten Zellen auch bei mehrstündiger Lagerung bei Raumtemperatur unempfindlich gegen Nucleasen sind. Erst wenn die Nucleinsäuren aus der Zelle extrahiert sind, kann ein bedeutender Abbau durch Nucleasen erfolgen.

Mit der weiterentwickelten Methode konnten die tRNA, die rRNA und die DNA aufgetrennt und einzeln nachgewiesen werden, wie dies von COPPELLA et al. (1987) für *E. coli*-Standards publiziert wurde. Durch die getrennte Erfassung von tRNA und rRNA ist eine differenziertere Betrachtung des metabolischen Zustands der Mikroorganismen möglich (SCHWARZ et al. 2001a,b). Für die simultane Isolierung von tRNA, rRNA und DNA aus Umweltproben konnten in der Literatur keine Beispiele gefunden werden. Auch für die quantitative Isolierung von tRNA aus Umweltproben gibt es bislang keine vergleichbaren Untersuchungen.

Peakidentifikation

Die in dieser Arbeit identifizierten Nucleinsäurepeaks stimmen in ihrer Symmetrie sehr gut mit denen von COPPELLA et al. (1987) und KOK (2000)² überein. Um die Peaks eindeutig auf die Nucleinsäuren zurückführen zu können, wurden sie anhand der folgenden Parameter verifiziert:

1. Lichtabsorption bei 260 nm,
2. Adsorption an den Anionenaustauscher und Elution bei der entsprechenden Salzkonzentration bzw. Ionenstärke,
3. Peakidentifikation durch die entsprechenden Nucleinsäurestandards,
4. Enzymatischer Abbau durch DNase II bzw. RNase.

Alle drei Peaks konnten eindeutig der tRNA, rRNA und der DNA zugeschrieben werden. Die auffallende Zweigipfeligkeit des rRNA-Peaks wurde in ähnlicher Form auch bei COPPELLA et al. (1987) und KOK (2000) gefunden. Sie ist nicht auf eine Säulenüberladung oder ähnliches zurückzuführen, sondern auf die unterschiedlichen rRNA-Arten, aus denen die Ribosomen zusammengesetzt sind. Mit Hilfe der Salzkonzentrationen, bei denen die jeweiligen RNAs von der Trennsäule eluieren, können die unterschiedlichen rRNA-Arten den Peaks zugeordnet werden: Der rRNA-Doppelppeak stammt von der 16S-rRNA und der 23S-rRNA. Der kleine Peak zwischen der tRNA und der rRNA stammt von der 5S-rRNA (siehe Abb. 9).

7.1.2 Kalibrierung und Wiederfindungsraten

Die in dieser Arbeit ermittelten Bestimmungsgrenzen stimmen mit den Angaben von STOECK et al. (1998), der Werte von 10 ng für DNA und RNA angibt, sehr gut überein.

² Bei Kok (2000) handelt es sich um die originäre Methodenbeschreibung mit zahlreichen Chromatogrammen, die nach der Publikation von DELL'ANNO et al. (1998) entstand. In STOECK et al. (1998) wurde die Methode ohne Ergebnisse detaillierter beschrieben wie in DELL'ANNO et al. (1998).

Die Linearitätsbereiche für die einzelnen Nucleinsäuren reichen bis 100 µg für tRNA (COPPELLA et al. 1987), 222 µg für rRNA (COPPELLA et al. 1987) und mindestens bis 40 µg für DNA. Dennoch empfiehlt sich das Arbeiten in unteren Linearitätsbereichen, da bei der Injektion von großen Nucleinsäuremengen die Kapazitätsgrenze der Anionenaustauschersäule schnell erreicht ist.

Die Wiederfindungsraten der Nucleinsäuren waren sowohl in den geglühten wie auch in den ungeglühten Sanden hoch. Ähnlich hohe Werte, 93 % für DNA und 95 % für RNA, finden sich bei STOECK et al. (1998). In KOK (2000) finden sich bei Einwaagen von marinem Sediment bis 200 mg ebenfalls sehr hohe Wiederfindungsraten von etwa 100 % für DNA und RNA, wobei die Wiederfindungsraten bei höheren Einwaagen drastisch abnehmen.

Die insgesamt sehr hohen Wiederfindungsraten lassen sich auf den geringen Anteil an zweiwertigen Kationen (z. B. Mg^{2+} oder Ca^{2+}) in den verwendeten Sanden zurückführen. Diese zweiwertigen Kationen, die oft in Verbindung mit Karbonaten vorkommen, können sehr schnell große Mengen an Nucleinsäuren adsorbieren (ROMANOWSKI et al. 1991; BLUM et al. 1997; FROSTEGÅRD et al. 1999).

Die Wiederfindungsraten von 100 % oder höher bei den ungeglühten Sanden können auf die Absättigung des Sandes mit organischem Material zurückgeführt werden. Das organische Material besetzte zusätzliche Adsorptionsplätze und verdrängte adsorbierte Nucleinsäuren von den Sandkörnern. In den geglühten Sanden waren mehr freie Adsorptionsplätze vorhanden, was deutlich geringere Wiederfindungsraten für die DNA und die RNAs zur Folge hatte.

Die absolute Extraktionseffizienz lässt sich nur durch die Zugabe von indigenen Mikroorganismen bestimmen, wie dies von MORÉ et al. (1994) und ZHOU et al. (1996) für DNA untersucht wurde. Wie die Ergebnisse von MORÉ et al. (1994) zeigen, wurde die DNA nicht vollständig erfasst, da vor allem kleine kokkenförmige Bakterienzellen nicht aufgeschlossen wurden. Die in dieser Untersuchung angewendete Methode zur Nucleinsäurebestimmung wurde in Vorversuchen hinsichtlich der Extraktionseffizienz optimiert. Die Verbesserung wurde überwiegend durch die rigide Ultraschall-desintegration erreicht. Die Zugabe von unterschiedlichen Mengen an Lysozym und/oder Proteinase K, die häufig in den Lysispuffern enthalten sind, führte zu keiner erhöhten Extraktionseffizienz. Aufgrund der geringen Probenmenge, des sehr gut desintegrierbaren Filtersandes und der mehrmaligen Ultraschall-desintegration ist von einer weitgehenden Nucleinsäureextraktion auch aus kleinen kokkenförmigen Mikroorganismen auszugehen.

Die Werte für die rRNA und die DNA sind gut mit den Literaturdaten vergleichbar (vgl. Tab. 4 und Anhang 3-9).

7.1.3 Anwendungsbereich der HPLC-Methode

Obwohl mit einer Einwaage von etwa 200-400 mg Sand recht wenig Probenmaterial verwendet wurde, war diese Menge für reproduzierbare Messungen ausreichend. Dies macht die Methode auch für solche Untersuchungen interessant, bei denen nur wenig Probenmaterial zur Verfügung steht, oder bei denen nur wenig Probenmaterial entnommen werden soll, z. B. bei periodischen Probenahmen während eines Versuchs. Ein weiterer wichtiger Vorteil dieser Methode ist, dass die Probenanalyse sehr gut automatisierbar ist, was eine enorme Arbeitserleichterung mit sich bringt und Routineuntersuchungen ermöglicht.

Mit der entwickelten HPLC-Methode können die Nucleinsäuren in molekularbiologisch reiner Form isoliert werden und gegebenenfalls auch für andere molekularbiologische Anwendungen wie beispielsweise die Gensondentechnik oder die Polymerasekettenreaktion weiterverwendet werden.

Bislang wurden mit Hilfe der HPLC-Methode Nucleinsäuren aus folgenden Substanzen extrahiert: Bakterienreinkulturen und Bäckerhefe (eigene unveröffentlichte Daten), marine Sedimente (DELL'ANNO et al. 1998) und höhere marine Organismen (KOK 2000). Im Abwasserbereich wurden die in dieser Arbeit vorgestellten abwasserdurchsickerten Sandböden und der RBF Langenalb untersucht. Darüber hinaus wurden aus Sandböden im Umfeld von Kanalleckagen erfolgreich Nucleinsäuren extrahiert. Auch aus dem Pellet von zentrifugiertem Belebtschlamm konnten alle drei Nucleinsäuren extrahiert werden (eigene unveröffentlichte Daten). Für die Probenaufarbeitung muss den flüssigen Proben z. B. durch Zentrifugieren, Filtrieren, Gefriertrocknen oder andere Methoden das Wasser entzogen werden.

Aus der Streuschicht des RBFs Langenalb konnten aufgrund des hohen organischen Anteils und der sehr heterogenen Matrix die Nucleinsäuren nicht quantifiziert werden. Um die Nucleinsäuren in solchen Proben nachweisen zu können, ist eine veränderte Probenaufarbeitung erforderlich. Möglicherweise ist mit einem veränderten Lysispuffer und einer verstärkten Abtrennung von Schmutzpartikeln und Trübstoffen ein quantitativer Nachweis realisierbar.

7.2 Reinigungsleistung und mikrobielle Prozesse

7.2.1 Nitrifikation

Zeit bis zur vollständigen Nitrifikation

In den abwasserbeimpften Filtern war die vollständige Nitrifikation (konstant hohe Nitratkonzentrationen im Eluat) schneller erreicht als in dem nicht angeimpften Filter (siehe Abb. 11 und 18). Aufgrund der geringen Fracht an nitrifizierbaren Stickstoffverbindungen dauerte es bei dem KMW-Filter und bei den RMW-Filtern vom Versuchsbeginn bis zum Erreichen der vollständigen Nitrifikation nur etwa drei Wochen. Außerdem gelangten bei den RMW-Filtern ständig neue abwasserbürtige Nitrifikanten in die Filter. Ein Teil der nitrifizierbaren Fracht war von diesen Nitrifikanten schon vor der Beaufschlagung nitrifiziert. Mit fünf bzw. neun Wochen war das Erreichen der vollständigen Nitrifikation bei den OECD-Filtern etwa zwei- bis dreimal so lange. In allen untersuchten Filtern wurde die vollständige Nitrifikation deutlich schneller erreicht als bei den mehrmals täglich mit Abwasser beaufschlagten Sandfiltern von VAN CUYK et al. (2001), die diese erst nach 15 Wochen erreichten. Die häufigen Beaufschlagungen führten zu hohen Frachten an bioverfügbarem organischem Material. Dadurch wurde das schnelle Wachstum chemoorganotropher Mikroorganismen begünstigt. Die chemolithotrophen Nitrifikanten, die aufgrund geringerer Energieausbeute wesentlich längere Generationszeiten aufweisen, konnten sich erst später durchsetzen (SCHLEGEL 1992; REHBEIN 1998).

Die verlängerte Dauer bis zum Erreichen der vollständigen Nitrifikation bei den OECD-Filtern von Säulenversuch 1 und 2 ist zum einen auf die hohen nitrifizierbaren Stickstofffrachten und zum anderen auf die langsam wachsenden Nitrifikanten zurückzuführen. Die Ammonium- und Nitritoxidierer mussten sich aus der einmaligen Abwasser-Inokulation *de novo* vermehren, um die für die Nitrifikation erforderliche Biomasse bereitstellen zu können. Hinzu kommt, dass sich neben den höheren Stickstoffkonzentrationen bis zum Aufbau der Nitrifikantenbiomasse sehr viel Stickstoff, vor allem in Form von Ammonium, in den OECD-Filtern akkumulierte. Nur so sind die deutlich über den Ammonium-Zulaufkonzentrationen liegenden Nitrit- und Nitrat-Ablaufkonzentrationen zu erklären. Ammoniumionen können, aufgrund ihrer positiven Ladung, vollständig an den Filtersand adsorbieren. Aufgrund des zunehmenden Protonenüberschusses (siehe pH-Werte in Abb. 11) durch die Nitrifikation (siehe Kap. 6.7.2) und dem daraus resultierenden Fehlen von freien Adsorptionsplätzen werden die Ammoniumionen ausgetragen, was zu den leicht erhöhten Ammonium-Ablaufkonzentrationen führte. Diese Ammonium-Auswaschung wird generell bei leicht durchlässigen Sandböden beobachtet (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL 1998). Im Gegensatz

dazu waren die Nitritkonzentrationen im Ablauf meist unterhalb der Bestimmungsgrenze. Aufgrund der örtlichen Nähe von Ammoniumoxidierern und Nitritoxidierern im Biofilm wurde das Nitrit nach der entsprechenden Biomasseproduktion quantitativ zu Nitrat umgesetzt. Eine Nitratammonifikation im unteren Filterbereich kann für die Ammonium-Ablaufkonzentrationen nicht verantwortlich sein, da die Nitratfracht des verbleibenden Kapillarwassers zu gering war.

Nitrifikationsverlauf

Trotz der 2-3-tägigen Pausen zwischen den Beaufschlagungen waren die Verläufe der Ammonium-, Nitrit- und Nitratkonzentrationen sehr gleichmäßig. Man kann deshalb von einer gewissen „Gedächtnis- oder Speicherfunktion“ der Filter sprechen.

Nach dem Erreichen der vollständigen Nitrifikation kam es beim Nitrat-Konzentrationsverlauf zu stärkeren Schwankungen (siehe Abb. 11 und 18). Diese treten auch beim Sequencing-Batch-Reactor-Verfahren auf, sind dort aber wesentlich geringer (ARNZ 2001). Da der physikalische Sauerstoffeintrag in etwa mit dem Sauerstoffbedarf übereinstimmt, der bei hohen Umsatzraten für die Oxidation der Abwasserinhaltsstoffe benötigt wird, können Engpässe bei der Sauerstoffversorgung für die gemessenen Schwankungen verantwortlich sein.

Hohe Nitrit-Ablaufkonzentrationen

In den OECD-Filtern bzw. in den OECD-Eluaten kam es zeitweise zu hohen Nitritkonzentrationen von etwa 188 mg/l. Die chemolithotrophen Nitrifizierer *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* werden erst bei Nitritkonzentrationen von 300 mg/l bzw. 4000 mg/l gehemmt (FRITSCH 1998). Für andere, chemoorganotrophe Mikroorganismen waren die hohen Nitritkonzentrationen jedoch toxisch und führten zu deren Austrag aus den Filtern. Dies erklärt die Verfärbung der Eluate während der hohen Nitritkonzentrationen und den zunächst verstärkten Austrag von KBE aus dem OECD-Filter des Säulenversuchs 1. Die erhöhten KBE-Zahlen im Filtereluat und die verringerten Abbauleistungen der chemoorganotrophen Mikroorganismen führten zu höheren CSB-Ablaufkonzentrationen (siehe Kap. 5.2.2 und 5.2.4). Dadurch kam es zu stark reduzierten CSB-Reinigungsleistungen. In den OECD-Filtern des Säulenversuchs 2 war die Phase hoher Nitritkonzentrationen länger als im OECD-Filter des Säulenversuchs 1. Dies führte bei den OECD-Filtern des Säulenversuchs 2 neben geringeren CSB-Reinigungsleistungen auch zu einem bislang in der Literatur nicht beschriebenen Anstieg der hydraulischen Leitfähigkeit (siehe Kap. 7.4.2).

Einfluss der Temperaturabsenkung auf die Nitrifikationsleistung

Trotz der schnellen und starken Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C für die letzten ca. drei Versuchswochen war die Nitrifikationsleistung in den OECD- und RMW-Filtern unverändert. Diese Temperaturunempfindlichkeit der Nitrifikationsleistung wurde auch von DONTA (1997) und VON FELDE & KUNST (1996) gefunden. Die Ergebnisse der Bioaktivitätsuntersuchungen in Kap. 5.3.5 und Kap. 5.4.1 zeigen ebenfalls, dass sich niedrigere Temperaturen nicht nachteilig auf die Bioaktivität und somit auf die Stoffumsetzungen auswirken. Die gute Sauerstoffversorgung aufgrund der intermittierenden Beaufschlagungsweise und die vergleichsweise geringe Konzentration an organischen Abwasserinhaltsstoffen begünstigten die hohe Nitrifikationsleistung (OBST et al. 1990; REHBEIN 1998). Hinzu kommt, dass die langsamwachsenden Nitrifikanten während den 70 Versuchstagen bis zur Temperaturabsenkung genügend Biomasse gebildet hatten, um auch unter suboptimalen Bedingungen die Stickstofffrachten zu nitrifizieren.

7.2.2 CSB-Reinigungsleistung

CSB-Reinigungsleistung bei den unterschiedlichen Abwässern

Bereits bei den ersten Beaufschlagungen wurden aufgrund des Rückhalts von Abwasserinhaltsstoffen in den Filtern sehr hohe CSB-Reinigungsleistungen erreicht. Dabei spielte die abiotisch bedingte CSB-Elimination durch Adsorption an den Sand lediglich während der ersten Beaufschlagungen eine wichtige Rolle. Viel bedeutsamer war die über den gesamten Versuchszeitraum betrachtete biotisch bedingte CSB-Reinigungsleistung durch die Mikroorganismen. Aufgrund der hohen bioverfügbaren Anteile in den einzelnen Abwässern (s. Tab. 9) nahmen die Mikroorganismen die bioverfügbaren Abwasserinhaltsstoffe auf und produzierten Biomasse. Dies zeigte sich bereits nach den ersten Beaufschlagungen bei den OECD-Filtern, bei denen die biotisch bedingte hohe CSB-Reinigungsleistung zu einer starken Biomasseproduktion und einer damit verbundenen schnellen Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit führte (vgl. Abb. 12 und 13). Die biotisch bedingten CSB-Reinigungsleistungen korrelierten mit den parallel ablaufenden Nitrifikationsprozessen: Bei beginnender Ammoniumoxidation, also ansteigenden Nitrit-Ablaufkonzentrationen, nahm die CSB-Reinigungsleistung ab. Zum einen sank durch die toxisch wirkenden Nitritkonzentrationen die Reinigungskapazität der chemoorganotrophen Mikroorganismen, zum anderen wurden zusätzlich geschwächte oder abgestorbene Mikroorganismen aus den Filtern gespült, die dann zu einer Erhöhung der CSB-Konzentration im Eluat führten.

Aufgrund der unterschiedlichen Zulaufkonzentrationen schwankten die CSB-Reinigungsleistungen beim Säulenversuch 1 und bei den RMW-Filtern des Säulenversuchs 2 stärker als bei den OECD-Filtern des Säulenversuchs 2, die mit gleichbleibenden Zulaufkonzentrationen beaufschlagt wurden.

Einfluss der Temperaturabsenkung auf die CSB-Reinigungsleistung

Bei den OECD-Filtern konnte nach der Temperaturabsenkung ein leichter Anstieg der CSB-Reinigungsleistung festgestellt werden. Dies kann auf die längere Kontaktzeit des Abwassers mit den Filtern aufgrund der höheren Viskosität des Abwassers zurückgeführt werden. Die geringeren CSB-Reinigungsleistungen bei den RMW-Filtern nach der Temperaturabsenkung wurden durch die neu verwendete Abwassercharge und nicht durch die Temperaturabsenkung verursacht.

Die anhand der CSB-Messung gefundenen Reinigungsleistungen in den Filtern lagen teilweise höher als die Werte der BSB₅-Messungen der frisch hergestellten Abwässer (vgl. Abb. 12, 19 und Tab. 9). Die Ursache dafür ist, dass die Mikroorganismen im Biofilm (MARTIENSSEN 2001) besser an hohe Reinigungsleistungen adaptiert sind als die suspendierten Mikroorganismen des BSB₅-Versuchs. Bei den künstlichen Abwässern konnten dadurch gegen Versuchsende CSB-Reinigungsleistungen um 90 % erreicht werden. Ähnlich hohe Reinigungsleistungen bei den organischen Frachten wurden auch in anderen Untersuchungen gefunden (VON FELDE & KUNST 1996; VAN CUYK et al. 2001).

7.2.3 Sauerstoffbilanzierung

Bei dem physikalischen Sauerstoffeintrag in die Filter durch Konvektion handelt es sich um einen konstanten Wert. Somit stellt die Diffusion, die während der Beaufschlagungspausen stattfindet, den limitierenden Faktor für den physikalischen Sauerstoffeintrag in die Filter dar.

Die Sauerstoffmenge, die für den physikalischen Sauerstoffeintrag in den Filter errechnet wurde, stimmt sehr gut mit der Sauerstoffmenge überein, die tatsächlich für die Oxidation der Abwasserinhaltsstoffe benötigt wurde. Die Oxidation der Stickstoffkomponenten zu Nitrat ist sehr stark von der Sauerstoffverfügbarkeit im Filter abhängig. Deshalb können die Schwankungen bei hohen Nitratlaufkonzentrationen auf die Sauerstofflimitierung zurückgeführt werden (siehe Kap. 6.7).

Die Sauerstoffdiffusionsrate in die Filter ist kein konstanter Wert. Bei der mikrobiellen Kolmation wird durch das Biomassewachstum der Querschnitt der Bodenporen kleiner, was die Diffusionsrate herabsetzt. Je mehr Biomasse im Zulaufbereich akkumuliert, desto

schlechter wird der Sauerstoffeintrag und desto geringer werden die oxidativen Umsetzungen in den tieferen Filterschichten.

Für die enzymatische Oxidation der Abwasserinhaltsstoffe durch Dehydrogenasen konnten in diesen Untersuchungen Zeiträume von mindestens 4-6 Stunden berechnet werden. Da es sich dabei um die maximal möglichen enzymatischen Umsetzungsraten handelt, liegen die Zeiten für den Stoffumsatz unter realen Filterbedingungen höher.

Die Untersuchungen von GUILLOTEAU et al. (1993) zeigten, dass zwar die Sauerstoffkonzentration während der Perkolation drastisch abnimmt, die Kohlenstoffdioxidkonzentration bei der Perkolation aber unverändert bleibt. Dies deutet auf eine sofortige Sauerstoffaufnahme hin, verbunden mit einer späteren Sauerstoffumsetzung während des Trockenfallens des Filters. Auf die besondere Bedeutung von Pausen zwischen den Beaufschlagungen zum Abbau der Abwasserinhaltsstoffe wird in vielen Publikationen hingewiesen (GUILLOTEAU et al. 1993; FELDE & KUNST 1996; PLATZER 1998).

Der durch die mikrobielle Sauerstoffkonsumption entstehende Sauerstoffgradient im Filter hat einen wesentlichen Einfluss auf die Verteilung von Biomasse und Bioaktivität in den Filtern. Die Biomasse richtet sich entlang des Sauerstoffgradienten aus, soweit dies nicht von anderen Faktoren überlagert wird (vgl. Kap. 6.2). Die Sauerstoffversorgung im Filter, die neben dem Abbau von Kohlenstoff wesentlich von der Nitrifikation bestimmt wird, wurde auch von GUILLOTEAU et al. (1993), VON FELDE & KUNST (1996) und PLATZER (1998) als zentrale Größe für die mikrobiellen Umsetzungen in Filtern zur Abwasserreinigung identifiziert.

7.2.4 Austrag von KBE und mikrobielle Sukzession

Austrag von KBE und Partikeln aus den Filtern

Die KBE-Zahlen in den Eluaten des Säulenversuchs 1 sind sehr gut mit denen von anderen Labor- und Freilanduntersuchungen vergleichbar (KRISTIANSEN 1981b; SAURBIER 1991; CORDING 2000; VAN CUYK et al. 2001). Die KBE-Zahl im Eluat hängt sehr stark von der BSB-Konzentration des beaufschlagten Abwassers ab. Dies gilt zumindest für die Einfahrphase der Filter. In dieser Phase werden vermehrt KBE ausgetragen. Schwankungen bei der Nitrifikation – z. B. sehr hohe Nitritkonzentrationen – oder andere für die Mikroorganismen negativen Umweltbedingungen können ebenfalls dafür verantwortlich sein, dass verstärkt Mikroorganismen ausgetragen werden. In diesem Zusammenhang kann nur eingeschränkt von einer Filterwirkung bzw. einem Netto-Rückhalt an KBE durch den Sand gesprochen werden, wie das am Beispiel des OECD-Filters sehr deutlich wird.

Die ausgetragenen „Partikel“, die mittels der Partikelmessung gemessen wurden, waren überwiegend $\leq 5 \mu\text{m}$ (siehe Kap. 5.2.4 und 5.3.4). Dies deutet darauf hin, dass es sich bei den ausgeschwemmten Mikroorganismen hauptsächlich um Einzelzellen und nicht um abgerissene Biofilme handelt. Zu Versuchsbeginn wurden aus allen Filtern enorm hohe Mengen an anorganischen sandbürtigen Partikeln ausgetragen. Ein geringer Anteil an ausgetragenen sandbürtigen Mikroorganismen ist aufgrund der hohen KBE-Werte beim Säulenversuch 1 wahrscheinlich. Nach diesen hohen Partikelkonzentrationen pendelten sich die Partikelkonzentrationen gegen Versuchsende bei etwa $1,0 \cdot 10^6$ Partikel/ml ein. Diese Partikelkonzentration stimmte sehr gut mit der KBE-Zahl überein. Damit lassen sich die ausgetragenen Partikel eindeutig als Bakterienzellen identifizieren. Auch KRISTIANSEN (1981b) fand in vergleichbaren Filtern fast ausschließlich kleine Bakterien mit geringen Zellvolumina. Die licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigen diese Bakteriengröße. Damit kann bei ähnlichen Versuchen nach dem erfolgten Austrag von Schluffpartikeln die Partikelzahl als vergleichsweise schnell und einfach zu bestimmender Parameter zur Abschätzung der Zellzahl herangezogen werden.

Zusammenfassend lässt sich der Austrag von Partikeln bzw. Mikroorganismen aus den Filtern wie folgt erklären: Mit den ersten Beaufschlagungen setzte ein sehr starker Austrag von Partikeln ein. Der größte Anteil war anorganischer Herkunft und stammte vom Sand. Ein weitaus geringerer Anteil bestand aus sandbürtigen Mikroorganismen, die aus dem Filtermaterial ausgeschwemmt wurden. Nach dieser Phase wurden immer weniger Partikel und KBE aus den Filtern ausgetragen. Die Vermehrung von Mikroorganismen in den Filtern führte zu einem ständigen Austrag von KBE, der aber im Vergleich zu den anfänglichen Partikelkonzentrationen sehr gering war. Selbst bei der Zufuhr von Mikroorganismen durch das beaufschlagte RMW-Abwasser blieb die KBE- und Partikelzahl im Eluat nach dem Einfahren der Filter klein. Dies hängt damit zusammen, dass die Mikroorganismen an der Filteroberfläche zurückgehalten bzw. „abfiltriert“ wurden. Diese Abnahme des Biomasseaustrags aus den Filtern konnte auch in anderen Untersuchungen gefunden werden (OKUBO & MATSUMOTO 1983; VAN CUYK et al. 2001).

Mikrobielle Sukzession

Im Gegensatz zum OECD-Filter konnte bei der Kontrolle und den KMW-Filtern keine eindeutige Beziehung zwischen der mikrobiellen Sukzession und den Abbauprozessen in den Filtern hergestellt werden.

Ab dem 44. Tag kann im OECD-Filter von einer stabilen Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen ausgegangen werden, da sich die relativen Anteile der KBE-Zahlen auf den jeweiligen Nährboden kaum änderten. Die konstant hohen Nitrat-Ablaufkonzentrationen zeigen, dass sich die Nitrifikanten zu diesem Zeitpunkt optimal etabliert hatten. Aufgrund der komplexen Zusammensetzung konnten auf dem DEV-Nährboden die meisten Mikroorganismen gezählt werden. Werden die ausgeschwemmten Mikroorganismen als repräsentativ für die gesamte Filterpopulation angenommen, so wurde lediglich im OECD- und nicht im angeimpften KMW(+)-Filter eine stabile Zusammensetzung der physiologischen Mikroorganismengruppen erreicht. Damit spielen die Nitrifikationsprozesse bei der Stabilisierung der mikrobiellen Prozesse und somit der mikrobiellen Sukzession in den Filtern eine entscheidende Rolle.

7.3 Biomasse und Bioaktivität

In den ersten beiden Teilen dieses Kapitels wird die Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung in den Filtern anhand der Nucleinsäurebestimmung mit den parallel dazu durchgeführten herkömmlichen Methoden und mit Literaturangaben verglichen. Im dritten Teil wird die Besiedlung des Filtermaterials durch die Mikroorganismen anhand der mikroskopischen Untersuchungen diskutiert.

Bei den Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen in den Filtern wurde der Ein- und Austrag von Biomasse und Bioaktivität, mit Ausnahme der Partikel- und KBE-Zahlen, aus methodischen Gründen nicht weiter quantifiziert und in die Berechnungen einbezogen.

7.3.1 Biomasseverteilung in den Filtern

Die CSB-Werte, die Glühverlust- und die TKN-Werte korrelierten nur unbefriedigend mit den Biomasseparametern (Kap. 6.5). Dies deutet darauf hin, dass sich neben den Mikroorganismen auch abgestorbenes organisches Material in den Filtern, besonders im RBF Langenalb, akkumulierte. Die Korrelation zwischen der DNA- und der CSB-Konzentration zeigt sehr deutlich, dass hohe CSB-Werte nicht automatisch zu hohen Biomassekonzentrationen führen. Deshalb können die Parameter TKN- und CSB-Wert für die Biomassebestimmung bei einer mikrobiellen Kolmation nur bedingt und allenfalls für eine grobe Abschätzung möglicher Biomassekonzentrationen eingesetzt werden. Für eine exakte Quantifizierung der kolmationsauslösenden Biomasse müssen aufwändigere Methoden, wie z. B. die Bestimmung der KBE oder der Nucleinsäuren, herangezogen werden.

Die Bioaktivitätsparameter Dehydrogenaseaktivität und die RNA-Konzentration korrelieren sehr gut mit der DNA-Konzentration. Die Ursachen und Gründe für diese gute Übereinstimmung werden in Kap. 7.3.2 diskutiert.

Die sehr gute Korrelation zwischen der DNA-Konzentration und der KBE-Zahl belegt, dass es sich bei der DNA in den Filtern um die DNA lebender Mikroorganismen handelt und nicht um refraktäre DNA von abgestorbenen Mikroorganismen (DELL'ANNO et al. 1998). Bei einem mittleren DNA-Gehalt von $3 \cdot 10^{-15}$ g DNA pro Bakterienzelle (DELL'ANNO et al. 1998) errechnet sich für die oberste Filterschicht des OECD-Filters aus Säulenversuch 1 mit $56 \mu\text{g DNA/g TG}$ eine Bakterienzahl von $19 \cdot 10^9$ Bakterienzellen/g TG. Die KBE-Zahl ergab für diese Filterschicht einen Wert von $8,7 \cdot 10^6$ KBE/g TG. Die KBE liegen damit um drei Zehnerpotenzen unter den anhand der DNA-Konzentration ermittelten Zellzahlen. Die Bakterienzahl, die anhand der DNA-Konzentration berechnet wurde, kommt den tatsächlichen Verhältnissen im Filter deutlich näher als die gemessene KBE-Zahl. Bei der KBE-Ermittlung wird nur ein Bruchteil der Mikroorganismen erfasst: Die Ablösung der Mikroorganismen vom Filtermaterial muss schonend erfolgen, da sich die Mikroorganismen vermehren sollen. Eine zu sanfte Probenaufarbeitung führt jedoch zu einer geringen Ausbeute, da weniger Zellen abgelöst werden und Zellaggregate bestehen bleiben. Des Weiteren führen das verwendete Nährmedium und die Inkubationsbedingungen zu einer starken Selektion von Mikroorganismen (PREUB & HUPFER 1998). Außerdem werden ausschließlich vermehrungsfähige Mikroorganismen erfasst. Im Gegensatz dazu wird bei der Nucleinsäurebestimmung die gesamte mikrobielle Biomasse quantifiziert. Zur quantitativen Biomassebestimmung ist die direkte Zerstörung der Mikroorganismen durch den Lysispuffer und die Ultraschallbehandlung in der Probe, wie sie bei der Nucleinsäurebestimmung eingesetzt wurde, wesentlich besser geeignet.

Bei sehr geringen Bakterienzahlen, wie z. B. beim Kontroll-Filter des Säulenversuchs 1, ist die Ermittlung der KBE gegenüber der Nucleinsäurebestimmung zu bevorzugen. Im Gegensatz zur Nucleinsäurebestimmung, bei der Nucleinsäuren aus relativ vielen Mikroorganismen extrahiert werden müssen, ist über die Ermittlung der KBE noch eine Quantifizierung von wenigen vermehrungsfähigen Keimen möglich. Für die Nucleinsäurebestimmung sollte das Probenmaterial mindestens 10^4 KBE/g TG enthalten. Für Kolmationen sind solche geringen KBE-Zahlen anhand der Untersuchungsergebnisse jedoch irrelevant. Außerdem kann die KBE-Methode bei Filtermaterial, das von realem Abwasser durchsickert wurde, aufgrund der heterogenen Matrix nicht eingesetzt werden.

Bei den Filtern, die über einen längeren Zeitraum mit Abwasser beaufschlagt wurden, ergab sich eine mit zunehmender Filtertiefe exponentiell abnehmende Biomasseverteilung. Eine Ausnahme bildeten die KMW-Filter und die trockenengefallenen OECD- und RMW-Filter. Bei diesen waren entweder die Zulauffrachten für die Ausbildung einer entsprechend aussagekräftigen Biomasse nicht groß genug oder die Biomasseverteilung wurde durch negative Umwelteinflüsse gestört. Eine exponentielle Abnahme von mikrobieller Biomasse mit zunehmender Tiefe wird auch in zahlreichen anderen Umweltkompartimenten beobachtet (DELL'ANNO et al. 1998; PREUB & HUPFER 1998). Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die Abnahme der Biomassekonzentration mit zunehmender Tiefe vor allem vom Partikelgehalt und der Partikelgrößenverteilung des verwendeten Abwassers abhängig ist (siehe Kap. 7.5).

Der leichte Anstieg der DNA- und RNA-Konzentrationen im Ablaufbereich (80 cm) des OECD-Filters ist darauf zurückzuführen, dass aufgrund von Kapillarkräften Abwasser im Filterablauf zurückgehalten wurde (Anhang 10). Dadurch hatten die Mikroorganismen längere Kontaktzeiten mit dem Abwasser und den darin enthaltenen bioverfügbaren Inhaltsstoffen.

GUILLOTEAU et al. (1993) fanden in abwasserbeaufschlagten Sandsäulen eine Adenosinribosephosphat (ATP)-Verteilung vor, die mit der DNA- und RNA-Verteilung in den OECD-Filtern fast identisch war. Im Ablaufbereich der Säulen wurde ein leichter Anstieg der ATP-Konzentration festgestellt, wie auch in den meisten Filtern der vorliegenden Untersuchung. Nach Untersuchungen von STOTTMEISTER (1989) korrelieren in Belebtschlammern die ATP- und die DNA-Gehalte sehr gut miteinander. Die hohen Nährstoffkonzentrationen führen zu einer sehr großen Biomassebildung und damit zu einem ähnlichen Verlauf von mikrobieller Biomasse und Bioaktivität.

Die sehr gleichmäßige Abnahme der DNA-Konzentrationen impliziert zunächst eine homogene Besiedlung des Filtermaterials in der entsprechenden Filterschicht. Die Auswertung der mikroskopischen Untersuchungen in Kap. 6.4 zeigte aber, dass es sich um eine heterogene Besiedlung handelte, wobei die von den Mikroorganismen besiedelte Filterfläche besonders in den Porenkanälen sehr gleichmäßig besiedelt wurde. Dies wird durch die geringen Standardabweichungen innerhalb derselben Filterschicht aus unterschiedlichen Filterbereichen (Filtermitte, Filterperipherie) bestätigt.

Die Schwankungen der DNA-Konzentrationen in den oberen 10 cm des OECD-Filters aus Säulenversuch 2 (36-mal beaufschlagt) können auf Umlagerungen in den obersten Filterschichten zurückgeführt werden. Zu diesen Umlagerungen kam es dadurch, dass bei einem Filter bei einer Beaufschlagung die Filterbrause nicht eingehängt wurde. Mit der

Nucleinsäurebestimmung können offensichtlich auch Störungen nachgewiesen werden, die z. B. durch turbulente Wasserströmungen auftreten und zu Sandumlagerungen führen.

7.3.2 Bioaktivitätsverteilung in den Filtern

Bei der Betrachtung der Bioaktivitäten muss berücksichtigt werden, dass es sich um ganz unterschiedliche Arten von Aktivität handelt. Die Dehydrogenaseaktivität ist eine enzymatische Aktivität, welche die maximale Aktivität eines zentralen Stoffwechsellzyms erfasst. Bei der absoluten RNA-Konzentration handelt es sich um einen Parameter, der die Aktivität der Proteinbiosynthese (Ribosomen und tRNA) widerspiegelt.

Die beste Korrelation konnte zwischen der Dehydrogenaseaktivität und der TKN-Konzentration und außerdem zwischen der RNA-Konzentration und der Dehydrogenaseaktivität festgestellt werden (siehe Tab. 14). Da es sich um nitrifizierende Biofilme handelte, kann der TKN-Wert als recht einfach zu bestimmender Parameter für die Bioaktivität herangezogen werden. Zwischen den RNA-Werten und der Dehydrogenaseaktivität konnten keine großen Unterschiede festgestellt werden.

Die gute Übereinstimmung in den Konzentrationsverläufen, besonders zwischen den RNA- und den DNA-Konzentrationen, ist bemerkenswert. Proben mit hohen DNA-Konzentrationen und sehr niedrigen RNA-Konzentrationen konnten nur in Ausnahmefällen, wie z. B. im RBF während der Winterbeprobung, gefunden werden. Die geringeren RNA-Konzentrationen sind möglicherweise auf ungünstige Umweltbedingungen an der Filteroberfläche zurückzuführen (z. B. starke Temperaturschwankungen, Schneedecke). Auch methodische Probleme sind nicht auszuschließen, da das Substrat in der obersten Schicht einen höheren organischen Anteil aufwies als die weiter unten liegenden Schichten.

Beim Säulenversuch 2, bei dem die Filter einem Temperatur- und Trockenstress ausgesetzt waren, konnten keine wesentlichen Unterschiede im RNA/DNA-Verhältnis festgestellt werden. Hohe DNA- und geringe RNA-Konzentrationen, die z. B. absterbende Biomasse anzeigen, konnten in keiner Filterschicht gefunden werden. Der Umsatz der Nucleinsäuren in diesen Umweltkompartimenten war so hoch, dass keine refraktären Nucleinsäuren akkumulierten. Demgegenüber kann die Akkumulation von refraktären Nucleinsäuren sehr groß sein. DELL'ANNO et al. (1998) stellten in einzelnen Proben aus Meeressedimenten refraktäre DNA-Anteile von bis zu 87 % fest.

Insgesamt stimmen die RNA/DNA-Verhältnisse dieser Untersuchung gut mit der Größenordnung der Werte aus marinen Sedimenten überein, bei denen das RNA/DNA-Verhältnis mit zunehmender Tiefe kleiner wurde (DELL'ANNO et al. 1998). Bei den Mikro-

organismen in diesen Sedimenten handelte es sich, wie bei den eigenen Untersuchungen, um Mischkulturen. Die konstant hohen CSB-Reinigungs- und Nitrifikationsleistungen während den letzten Versuchswochen zeigen, dass sich die Mikroorganismen überwiegend in der statischen Wachstumsphase befanden. Dies führte zu den relativ kleinen RNA/DNA-Verhältnissen in den Filtern über die gesamte Filtertiefe. Im Gegensatz dazu weisen Bakterienreinkulturen, die sich in einer exponentiellen Wachstumsphase befinden, höhere RNA/DNA-Verhältnisse auf (KERKHOF & WARD 1993; MUTTRAY & MOHN 1998).

Im Gegensatz zu den tiefenabhängigen Unterschieden im RNA/DNA-Verhältnis bei DELL'ANNO et al. (1998) sind die Unterschiede in dieser Untersuchung sehr gering. Eine solche vergleichsweise einheitliche Verteilung des RNA/DNA-Verhältnisses bzw. der spezifischen Bioaktivität ist bislang für Bodenkörper nicht bekannt. Dies führt zu der Schlussfolgerung, dass die Mikroorganismen in den Labor- und Freilanduntersuchungen über die gesamte Filtertiefe einen sehr ähnlichen metabolischen Zustand aufwiesen, auch wenn die absoluten Konzentrationen stellenweise um das 25-fache voneinander abwichen. Als mögliche Ursache für die geringen Unterschiede ist die relativ gleichmäßige Versorgung der Mikroorganismen mit Nährstoffen zu nennen. Auch die zum Teil recht langen Pausen zwischen den Beaufschlagungen waren für die Mikroorganismen im Filter gleich lang. Die Mikroorganismen waren außerdem relativ unempfindlich gegenüber starken Schwankungen in der Nährstoffzufuhr. Im Falle des Retentionsbodenfilters wurden aufgrund von Beaufschlagungspausen mehrere Tage bis einige Wochen keine Nährstoffe zugeführt.

Die beobachtete Speicherung des metabolischen Zustands deckt sich sehr gut mit der Tatsache, dass die Reinigungsleistung in den Filtern durch die Mikroorganismen von Beaufschlagung zu Beaufschlagung sehr gleichmäßig verlief. Diese „Konservierung“ wird durch das Filtermedium, das einen guten Schutz vor schädlichen Umwelteinflüssen darstellt, und durch die positiven Eigenschaften von Biofilmen unterstützt (MARTIENSEN 2001).

Da die Bioaktivitätsverteilungen im wesentlichen den Biomasseverteilungen entsprechen, wird hier auf die Ausführungen in Kap. 7.3.1 verwiesen.

7.3.3 Besiedlung des Filtermaterials

Bei den REM-Untersuchungen war die Anzahl an Sandkörnern, die mit Mikroorganismen besiedelt waren, äußerst gering. Die Präparationsmethode kann als Ursache für die sehr spärliche Besiedlung ausgeschlossen werden. Obwohl die Gefriertrocknung weniger schonend ist als eine Glutardialdehydfixierung [Dehydrierung in einer Ethanol- oder Acetonreihe und kritische Punkttrocknung (VANDEVIVERE & BAVEYE 1992b; ELLIS & AYDIN

1995)] wiesen die Sandkörner keinerlei Spuren eines ehemaligen Bewuchses oder Präparationsartefakte auf. Eine grobe Abschätzung zur Besiedlung des Filtermaterials bestätigt dies. Die höchste gefundene KBE-Zahl in den Filtern betrug etwa $1 \cdot 10^7$ KBE/g TG (siehe Abb. 16). Dieser Wert stimmt gut mit anderen Untersuchungen überein (KRISTIANSEN 1981b, ELLIS & AYDIN 1995, DELEO & BAVEYE 1997). Bei einer angenommenen Mikroorganismenfläche von $4 \mu\text{m}^2$ ergibt dies bei einem einschichtigem Bewuchs eine spezifische Besiedlungsfläche von $4 \cdot 10^7 \mu\text{m}^2/\text{g}$ oder $40 \text{mm}^2/\text{g}$. Legt man beim Sand eine spezifische Oberfläche von $0,01 \text{m}^2/\text{g}$ oder $1 \cdot 10^4 \text{mm}^2/\text{g}$ zugrunde (nach SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL (1998) beträgt die spezifische Oberfläche bei Sanden weniger als $0,1 \text{m}^2/\text{g}$), so ergibt sich eine spezifische Besiedlung von $0,004 \%$ bezogen auf die Sandoberfläche. Obwohl die tatsächliche Zellzahl aufgrund der unvollständigen Ablösung höher war als die ermittelte KBE-Zahl, so errechnet sich aus der Zellzahl, die anhand der DNA-Konzentration in Kap. 7.3.1 berechnet wurde, eine einschichtig besiedelte Filterfläche von $7,6 \%$. Ähnlich geringe oder deutlich geringere Besiedlungsdichten konnten auch in Grundwasser-Simulationsfiltern (DELEO & BAVEYE 1997; KOCH 2000), in marinen Sedimenten (WEISE & RHEINHEIMER 1978), im Grundwasserbereich (TUSCHEWITZKI & GRUBERT 1988) und in Langsandsfiltern (ELLIS & AYDIN 1995) gefunden werden. Solche geringen Besiedlungsdichten bei abwasserdurchsickerten Bodenkörpern bzw. Bodenfiltern sind in der Literatur bislang nicht beschrieben.

Obwohl der überwiegende Teil des Filtermaterials nicht besiedelt war, wurden Stellen mit besonders dichter mikrobieller Besiedlung gefunden. Das bedeutet, dass von einer sehr großen Mikroheterogenität bei der Besiedlung des Filtermaterials auszugehen ist. Auch DELEO & BAVEYE (1997) fanden in Sandfiltern eine heterogene Besiedlung. Die Mikroorganismen besiedeln demnach sehr gezielt die für sie optimalen Mikrohabitate. Es ist davon auszugehen, dass sich die Mikroorganismen in den Porenkanälen in den Zwickelräumen, besonders an den Grenzflächen zwischen Filtermaterial, Wasser und Luft aufhalten, wie dies von SCHÄFER et al. (1998) für eine ungesättigte Sandsäule experimentell gezeigt werden konnte. An solchen für die Mikroorganismen optimalen Stellen werden Mikrokolonien, Haufenstrukturen oder Biofilme ausgebildet. Die Besiedlung der Sandkörner mit bakteriellen Haufenstrukturen und Biofilmen in solchen Porenkanälen ist als Hauptursache für die mikrobielle Kolmation anzusehen.

Das Filtermaterial kann auch homogen besiedelt sein, was besonders bei hohen Fracht-Oberflächen-Verhältnissen auftritt. Im Gegensatz zur heterogenen Besiedlung gibt es für die homogene Besiedlung des Filtermaterials durch Biofilme zahlreiche Modelle zur

Abschätzung der Kolmation (TAYLOR & JAFFÉ 1990; TAYLOR et al. 1990; RITTMANN 1993; COOKE & ROWE 1999). Dennoch führt die Anwendung solcher Modelle in der Praxis meist zu keinen präzisen Vorhersagen über die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit (VANDEVIVERE et al. 1995).

Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen konnten im Filtermaterial sehr geringe Abundanzen an Protozoen festgestellt werden. Pilze, Cyanobakterien und Metazoen wurden nicht gefunden. Das bedeutet, dass das Filtermaterial fast ausschließlich bakteriell besiedelt war. Dies ist bezüglich einer exakten Nucleinsäurebestimmung wichtig, da die einzelnen Organismengruppen unterschiedliche Nucleinsäuregehalte besitzen (KLEINIG & SITTE 1999).

Anders als bei RINCK-PFEIFFER et al. (2000), bei denen die Sandkörner nach der Abwasserinjektion von dichten Kalzit-Präzipitationen umgeben waren und eine chemische Kolmation stattfand, kam es bei den eigenen Untersuchungen lediglich zu vereinzelt Einschlüssen von Schluffpartikeln. Dieser Einschluss von Schluffpartikeln in die Biofilmmatrix wurde auch von ELLIS & AYDIN (1995) in Langsamsandfiltern beobachtet.

7.4 Mikrobielle Kolmation und Dekolmation

Die Zu- und Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit durch mikrobielle Biomasse in den verschiedenen Filtern kann durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst werden. Sie werden in Kap. 7.4.1 und Kap. 7.4.2 diskutiert und bewertet. In Kap. 7.5 werden die untersuchten Kolmations- und Dekolmationsprozesse anhand von Modellen zusammenfassend dargestellt.

Bei den Säulenversuchen wurden ausschließlich leichte Kolmationen erzeugt. Deshalb war die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit im zeitlichen Verlauf weniger stark als in ALLISON (1947) und OKUBO & MATSUMOTO (1979) beschrieben (vgl. Kap. 2.2.3). Dies ist vor allem auf die viel geringere Nährstofffracht und die intermittierende Beaufschlagungsweise zurückzuführen. Die erzeugten Kolmationen waren so gering, dass die Temperaturabsenkung auf 4 °C beim Säulenversuch 2 zwar zu einem starken Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit führte, jedoch nicht zu einer Totalkolmation des Filters.

In den hier durchgeführten Untersuchungen konnte die mikrobielle Biomasse als die zentrale Ursache für die Kolmation identifiziert werden. Darüber hinaus konnte in den Kapiteln 5.3.5, 5.4.1 und 6.3 erstmals der Einfluss des Trockenfallens der Filter auf die Biomasse und die hydraulische Leitfähigkeit quantifiziert werden.

Neben der mikrobiellen Kolmation konnte speziell beim Kontroll-Filter aus Säulenversuch 1 eine schwache physikalische Kolmation beobachtet werden, die sehr wahrscheinlich auch in den anderen Filtern stattfand. Diese physikalische Kolmation ist auf das Aufquellen von Ton- und Schluffpartikeln und auf die Verlagerung des Filtermaterials zurückzuführen. Sie war nach etwa 35 Tagen abgeschlossen.

Die geringen AFS-Frachten des RMW-Abwassers führten in Verbindung mit der mikrobiellen Biomasse zu einem Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit, wobei der Anteil der physikalischen Kolmation nicht quantifizierbar ist. Neben physikalischen und mikrobiellen Ursachen wurde mit den toxischen Nitritkonzentrationen auch eine in der Literatur bislang nicht beschriebene (bio-) chemische Ursache gefunden, die sich auf die Kolmation bzw. die Dekolmation der Filter auswirkte (Kap. 5.3.1 und Kap. 5.3.3).

7.4.1 Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit

Zwischen dem Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit und der maximalen DNA-Konzentration in den Sandsäulen und dem RBF besteht mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,85 eine enge Korrelation. Diese zeigt, dass die Mikroorganismen durch die Biomasseproduktion das Kolmationsverhalten der Filter wesentlich beeinflussten. WU et al. (1997) konnten eine noch engere Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,94 zwischen der Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit und der Biomasse finden. Eine noch stärkere Korrelation ist unwahrscheinlich, da neben der mikrobiellen Biomasse (DNA) auch andere Faktoren, wie beispielsweise die Ausbildung von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) oder die räumliche Struktur der Biofilme (Biofilmdicke und Biofilmdichte), Einfluss auf die hydraulische Leitfähigkeit haben (VANDEVIVERE & BAVEYE 1992b; WU et al. 1997, DERONT et al. 1998). Die Biomasse kann aber eindeutig als die zentrale Einflussgröße auf die hydraulische Leitfähigkeit bezeichnet werden. Bei verschiedenen Untersuchungen wurden sehr enge Beziehungen zwischen der Biomasse und der hydraulischen Leitfähigkeit gefunden. Dies wird durch die Abb. 32 verdeutlicht. Die Biomassebestimmung bei WU et al. (1997) erfolgte durch sehr zeitaufwändiges mikroskopisches Auszählen von einzelnen Bakterienzellen. Bei VANDEVIVERE & BAVEYE (1992b) wurden die Phospholipide extrahiert und mit Hilfe bestimmter Faktoren in Biomasse umgerechnet. Bei beiden Untersuchungen handelt es sich um Laborexperimente, zum Teil mit speziellen Bakterienstämmen (VANDEVIVERE & BAVEYE 1992b). Die Methoden sind daher für eine Anwendung unter Freilandbedingungen nicht geeignet.

Es ist davon auszugehen, dass auch weitere Parameter, wie z. B. die EPS, sehr eng mit der Biomasse korrelieren, da diese von den Mikroorganismen produziert werden (WU et al. 1997).

Die enge Korrelation zwischen der Biomasse und der hydraulischen Leitfähigkeit wurde für die oberste Filterschicht, in der sich die höchste Biomassekonzentration befindet, festgestellt. Aufgrund der guten Korrelation kann der Verlauf der Biomassekonzentration auch für den Verlauf der hydraulischen Leitfähigkeit, zumindest in grober Annäherung, herangezogen werden.

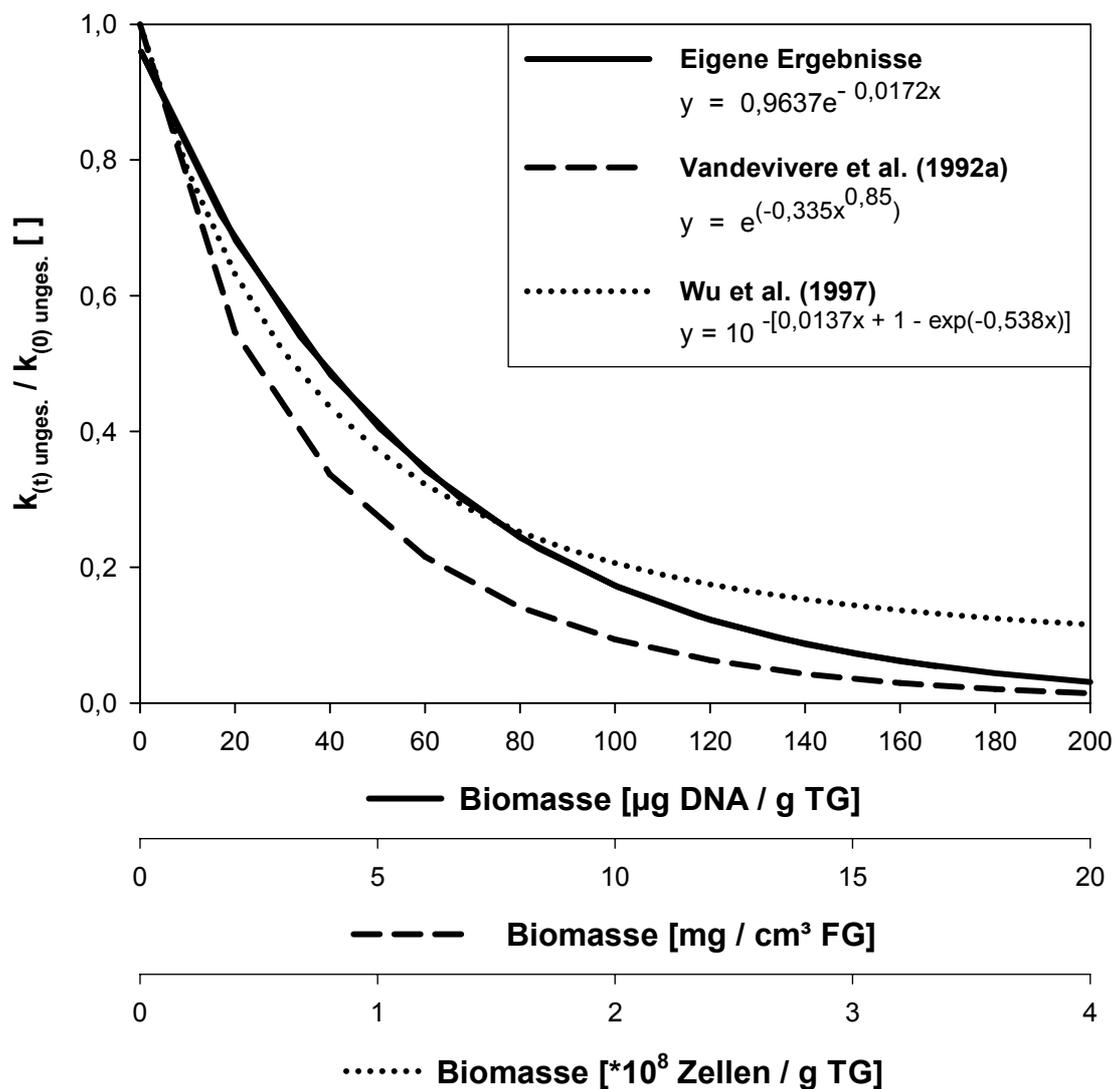


Abb. 32: Einfluss der Biomasse auf die hydraulische Leitfähigkeit bei verschiedenen Untersuchungen.

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen ist ab einer Biomassekonzentration von etwa $100 \mu\text{g DNA/g TG}$ mit erheblichen Problemen bei der hydraulischen Leitfähigkeit der Filter

zu rechnen. Dieser Grenzwert ist jedoch z. B. von der Korngrößenzusammensetzung des eingesetzten Filtermaterials abhängig.

In allen Filtern konnte über den gesamten Untersuchungszeitraum ein Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit festgestellt werden. Auf die intermittierend auftretenden Zunahmen der hydraulischen Leitfähigkeit wird im nachfolgenden Kap. 7.4.2 eingegangen.

Die schnelle Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit war beim OECD-Filter aus Säulenversuch 1 annähernd exponentiell. Eine vergleichbar schnelle und exponentielle Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit innerhalb der ersten Versuchswochen konnte bei zahlreichen Untersuchungen festgestellt werden (siehe Kap. 2.2.3). Der exponentielle Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit korrelierte mit dem exponentiellen Wachstum der Mikroorganismen in der obersten Filterschicht und mit der exponentiellen Verteilung der Mikroorganismen im Filter. In den OECD-Filtern des Säulenversuchs 2 konnte der Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit in dieser ausgeprägten Form nicht beobachtet werden. Aufgrund der lang anhaltenden toxischen Nitritkonzentrationen dauerte es länger, bis sich in den Sandsäulen eine exponentielle Verteilung der Mikroorganismen einstellen konnte. Bei den KMW-Filtern konnte aufgrund der vergleichsweise geringen Abwasserfracht kein exponentieller, sondern ein überwiegend linearer Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit festgestellt werden.

Die gleichmäßigste Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit über die gesamte Versuchsdauer wurde bei den RMW-Filtern gefunden. In diesen Filtern kam es im Gegensatz zu den OECD-Filtern zu einem geringeren Biomassewachstum. Anorganische und organische Feststoffe aus dem RMW-Abwasser wurden in der obersten Filterschicht zurückgehalten. Die Abnahme der hydraulischen Leitfähigkeit beim RMW-Filter ist somit neben der mikrobiellen Biomasse auch auf physikalische Ursachen zurückzuführen. Dies wird durch den sehr geringen Anstieg der hydraulischen Leitfähigkeit bei dem trockengefallenen Filter nach der Wiederbeaufschlagung bestätigt.

Sowohl bei den OECD-Filtern als auch bei den RMW-Filtern führte die Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C zu einer Verringerung der hydraulischen Leitfähigkeit um etwa 25 %. Damit hatte die Temperaturabsenkung den gravierendsten Einfluss auf den Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit. Die Ursache hierfür liegt in der höheren Viskosität des Wassers, so dass die gemessenen und die berechneten Änderungen der hydraulischen Leitfähigkeiten gut übereinstimmen (Anhang 11; GUJER 1999; LITTY 2001). Neben der Viskosität beeinflusst auch die Dichte des (Ab-) Wassers die hydraulische Leitfähigkeit (siehe

Glg. 2 und 3). Die Dichte ist wiederum von der Temperatur und dem Salzgehalt des Wassers abhängig (GUJER 1999).

Die Temperatur bzw. die Temperaturabsenkung ist demzufolge auch im Freiland ein nicht zu unterschätzender Faktor bei den Kolmationsvorgängen. Nach Untersuchungen von HONDA & MATSUMOTO (1983) bewirken höhere Temperaturen außerdem ein schnelleres Wachstum, eine schnellere Autolyse der Biomasse und ein schnelleres Ablösen der Biofilme vom Filtermaterial. Im Gegensatz dazu wachsen die Biofilme bei niedrigeren Temperaturen langsamer, sie können aber mehr Biomasse an das Filtermaterial anlagern. Gefördert wird dies durch die geringere Autolyse der Bakterien bei niedrigen Temperaturen und das wesentlich spätere Ablösen der Biofilme vom Filtermaterial.

Von starken Abnahmen der hydraulischen Leitfähigkeit durch niedrige Temperaturen berichten auch LE BIHAN & LESSARD (2000) bei einem Biofilter zur biologischen Abwasserreinigung. Während der kalten Periode (Schneesmelze im März und April) kam es bei Zulauftemperaturen zwischen 7,5-13,5 °C besonders schnell zur Kolmation.

7.4.2 Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit

In diesem Kapitel sollen die Faktoren dargestellt werden, die zu einer Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit führten. Nicht nur in den trockengefallenen Filtern, sondern auch in den ständig beaufschlagten Filtern stieg die hydraulische Leitfähigkeit zeitweise deutlich an.

Der Einfluss der Temperatur auf die hydraulische Leitfähigkeit wurde bereits in Kap. 7.4.1 besprochen. Aufgrund der physikalischen Ursachen kann dieser Effekt bei einer Temperaturerhöhung auch zur Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit führen.

Bei den OECD-Filtern beeinflusste der Nitrifikationsprozess wegen des hohen Sauerstoffbedarfs für die Oxidation und wegen der toxischen Nitritkonzentrationen sowohl die CSB-Reinigungsleistung als auch die hydraulische Leitfähigkeit. Aufgrund der geringeren Gesamtstickstoffkonzentrationen und den Unterschieden in der Zusammensetzung der stickstoffhaltigen Inhaltsstoffe in den KMW- und RMW-Abwässern konnten diese Prozesse bei den KMW- und RMW-Filtern nicht beobachtet werden.

Vor allem bei den OECD-Filtern aus Säulenversuch 2 wurde während der langen Phase hoher Nitritkonzentrationen eine Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit festgestellt. Die hohen, für die meisten Nicht-Nitrifikanten toxischen, Nitritkonzentrationen führten entweder zu enormen Stressbedingungen oder zum Absterben dieser Mikroorganismen. Diese bakterizide oder bakteristatische Wirkung auf den Biofilm, die zu einer Dekolmation führte, wurde in der

Literatur bislang nicht beschrieben. Dort ist lediglich zu lesen, dass von außen zugegebene Chemikalien wie Natriumazid (SEKI et al. 1998), Chlor (FOX et al. 1998) oder Pentachlorphenol (ROSS et al. 1998) zu einer Schwächung oder zum Absterben der Biofilme führten. Somit kann die Selbstvergiftung der Biofilme als neuer Aspekt bei den Kolmations- bzw. Dekolmationsprozessen in Bodenkörpern betrachtet werden.

Die Zunahmen der hydraulischen Leitfähigkeit bei den OECD-Filtern aus Säulenversuch 2 traten nach zwei Tagen Beaufschlagungspause auf. Die längere Beaufschlagungspause der ansonsten sehr kurzen und gleichmäßigen Intervalle und das damit verbundene Trockenfallen der Filter führte bei den Mikroorganismen zu Hunger- oder Stressbedingungen. Nach MACLEOD et al. (1988) können diese zu einer Verringerung der Zellgröße und der Biofilmmatrix (EPS) führen. Daraus ergibt sich eine geringe Erhöhung des Porenquerschnitts, verbunden mit einer Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit.

Bei der Beaufschlagung der trockengefallenen Filter war die Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit beim RMW-Filter im Vergleich zum OECD-Filter gering. Beim RMW-Filter waren die Mikroorganismen und die organischen und anorganischen Bestandteile des RMW-Abwassers überwiegend in der obersten Filterschicht akkumuliert. Aufgrund der Kompaktheit waren sie gut vor dem Austrocknen geschützt. Das bedeutet, dass bei dem RMW-Filter das Trockenfallen nicht zu einer wesentlichen Dekolmation beitrug.

Im Gegensatz dazu wurde die Biomasse in den OECD-Filtern durch das Trockenfallen sehr stark verringert. Dies konnte auch in der Großanlage festgestellt werden. Das Trockenfallen der Filter führte zum Austrocknen der Biofilme und schließlich zum Absterben der Biomasse. Durch die Mineralisierung der abgestorbenen Biomasse kam es zu einer starken Verringerung der Biomasse in den obersten Filterschichten. Bei der Wiederbeaufschlagung nach längerem Trockenfallen wurde abgestorbene Biomasse in tiefere Filterschichten transportiert. In diesen Filterschichten stieg die Biomasse und Bioaktivität stark an. Dies konnte erstmalig im Rahmen der eigenen Untersuchungen sowohl im Labor (OECD-Filter, siehe Abb. 22) als auch im Freiland (RBF Langenalb, siehe Abb. 24) beobachtet werden. NOVITSKY (1986) konnte zeigen, dass die DNA und die RNA aus abgestorbener Biomasse sehr labil ist und innerhalb von wenigen Tagen abgebaut bzw. von anderen Mikroorganismen aufgenommen wird. Obwohl die RNA schneller abgebaut wurde als die DNA, war der Anteil an abgebauten Nucleinsäuren bei DNA und RNA mit 60-70 % gleich hoch. Dies erklärt den nach der Beaufschlagungspause nach wie vor sehr ähnlichen Verlauf von DNA und RNA.

Die starke Biomasseverringerng in den obersten Filterschichten nach dem Trockenfallen führte zu einer deutlichen Zunahme der hydraulischen Leitfähigkeit bei den OECD-Filtern

und dem RBF. Das Tiefenmaximum der Biomasse hatte dabei keinen Einfluss auf die hydraulische Leitfähigkeit, da die Biomasse der obersten Filterschicht nach wie vor höher und damit der limitierende Faktor für die hydraulische Leitfähigkeit war.

Die Ergebnisse zur Biomasseverringern in den Filtern zeigen, dass die Biomasse unter aeroben Bedingungen zu CO_2 und H_2O abgebaut wird. Somit ist die mikrobielle Kolmation reversibel, und die hydraulische Leitfähigkeit kann wieder ihren Ausgangswert erreichen.

7.5 Modell zur mikrobiellen Kolmation

Bei den durchgeführten Versuchen wurden bestimmte Gesetzmäßigkeiten festgestellt, die es ermöglichen, den Ablauf der mikrobiellen Kolmation erstmals in zwei graphischen Modellen darzustellen. Die Beaufschlagung mit partikelfreiem bzw. mit partikelhaltigem (organische Feststoffe) Abwasser führen zu unterschiedlichen Formen von Kolmation, die im Folgenden als innere und äußere mikrobielle Kolmation bzw. Dekolmation bezeichnet werden.

Bei feinkörnigerem Filtermaterial ist mit einer geringeren Eindringtiefe und einem steileren Biomassegradienten zu rechnen. Bei grobkörnigerem Filtermaterial ist das Gegenteil zu erwarten, wie die Messungen von DE VRIES (1972) zeigten. Da die Verteilung der Biomasse über die Filtertiefe stark von den Versuchsbedingungen abhängt (siehe Tab. 1), wurde eine normalisierte Achsenskalierung verwendet. In den dargestellten Modellen entspricht dem 100 %-Kriterium der Biomasse die maximal mögliche Biomassekonzentration in einem Filter. Bei diesen 100 % ist der Filter totalkolmatiert und funktionsunfähig. Beim RBF Langenalb entsprach dem 100 %-Kriterium bei der Biomasse ein Höchstwert von $183 \mu\text{g DNA/g TG}$ bei einer Filtertiefe von 60 cm (siehe Anhang 8).

Die Bioaktivitätsverteilung (RNA) ist in den nachfolgenden Modellen mit der Biomasseverteilung (DNA) weitgehend identisch. Aus Abb. 26 ist ersichtlich, dass der DNA-Konzentrationsverlauf weitgehend dem Verlauf der hydraulischen Leitfähigkeit entspricht (vgl. auch DE VRIES 1972). Die Modelle können als Vorhersage für die weiteren Kolmations- bzw. Dekolmationsprozesse in einem Filter verwendet werden.

Ablauf der äußeren mikrobiellen Kolmation und Dekolmation

Bei häufiger Beaufschlagung mit stark partikelhaltigem Abwasser steigt die Biomasse in den obersten Zentimetern des Filters steil an und der Filter beginnt zu kolmatieren (Abb. 33, „Beginnende äußere Kolmation“). Innerhalb der ersten Zentimeter finden sich steile Biomassegradienten. In den darunterliegenden Filterschichten ist die Biomasse sehr gering. Bei der äußeren (Total-) Kolmation bleibt dieser steile Gradient erhalten und die Biomassekonzentration erreicht nach weiterer Biomasseakkumulation einen Maximalwert (Abb. 33,

„Äußere (Total-) Kolmation“). Dabei kann es auch zur Ausbildung einer Streu- oder Sedimentationsschicht bzw. einer „Schmutzdecke“ an der Filteroberfläche kommen.

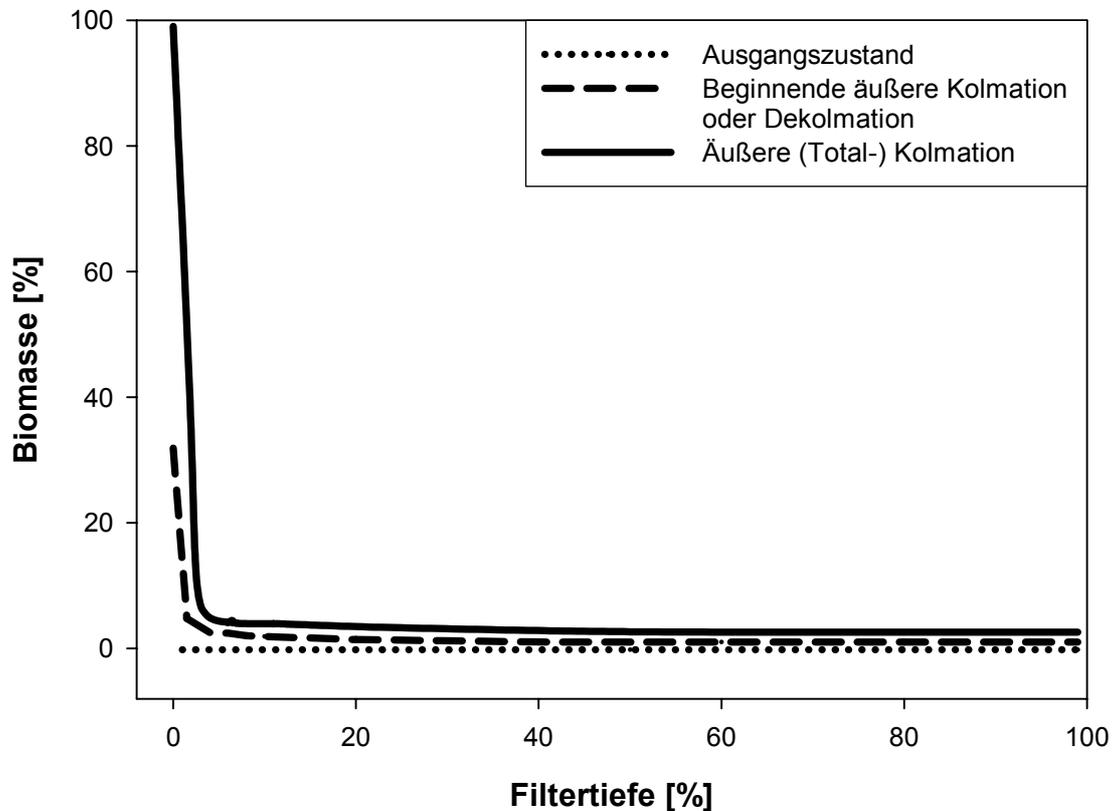


Abb. 33: Graphisches Modell, das den Verlauf der äußeren mikrobiellen (Total-) Kolmation und Dekolmation darstellt. Angegeben ist die jeweilige prozentuale Verteilung der mikrobiellen Biomasse mit zunehmender Filtertiefe.

Im **Ausgangszustand** (gepunktete Linie) enthält der Filter keine oder wenig mikrobielle Biomasse. Durch die Beaufschlagungen nimmt die mikrobielle Biomasse zu und führt zur **beginnenden äußeren Kolmation** (gestrichelte Linie). Die zunehmende Akkumulation von mikrobieller Biomasse in den oberen Filterschichten führt schließlich zur **äußeren (Total-) Kolmation** (durchgezogene Linie). Durch die Abnahme der mikrobiellen Biomasse in den oberen Filterschichten findet eine **äußere Dekolmation** (gestrichelte Linie) des Filters statt.

Bei einem längeren Austrocknen des Filters nimmt die Biomasse infolge der Mineralisierung innerhalb des steilen Gradienten der oberen Filterschichten sehr stark ab, und der Filter dekolmatisiert (Abb. 33, „Äußere Dekolmation“). Neben einem längeren Austrocknen des Filters können auch andere für die Mikroorganismen ungünstigen Umweltbedingungen (z. B. Kältstress, Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen) zu einem Absterben von Biomasse und deren Mineralisierung führen. Da die mikrobielle Biomasse bei der äußeren Kolmation in den obersten Filterschichten sehr stark in eine Matrix aus organischen und ggf. anorganischen Partikeln eingebunden ist, kommt es zu keinem oder nur zu einem unwesentlichen Transport von Biomasse in tiefere Filterbereiche.

Ablauf der inneren mikrobiellen Kolmation und Dekolmation

Bei Beaufschlagungen mit einem partikelfreien Abwasser spielen sich die Kolmations- und Dekolmationsprozesse nicht nur in den obersten, sondern auch in tieferen Filterschichten ab (Abb. 34). Im Vergleich zur äußeren Kolmation nimmt die Biomassekonzentration mit zunehmender Tiefe gleichmäßiger ab. Die maximale Biomassekonzentration ist sowohl bei der Kolmation, als auch bei der Dekolmation, in den oberen Filterschichten zu finden.

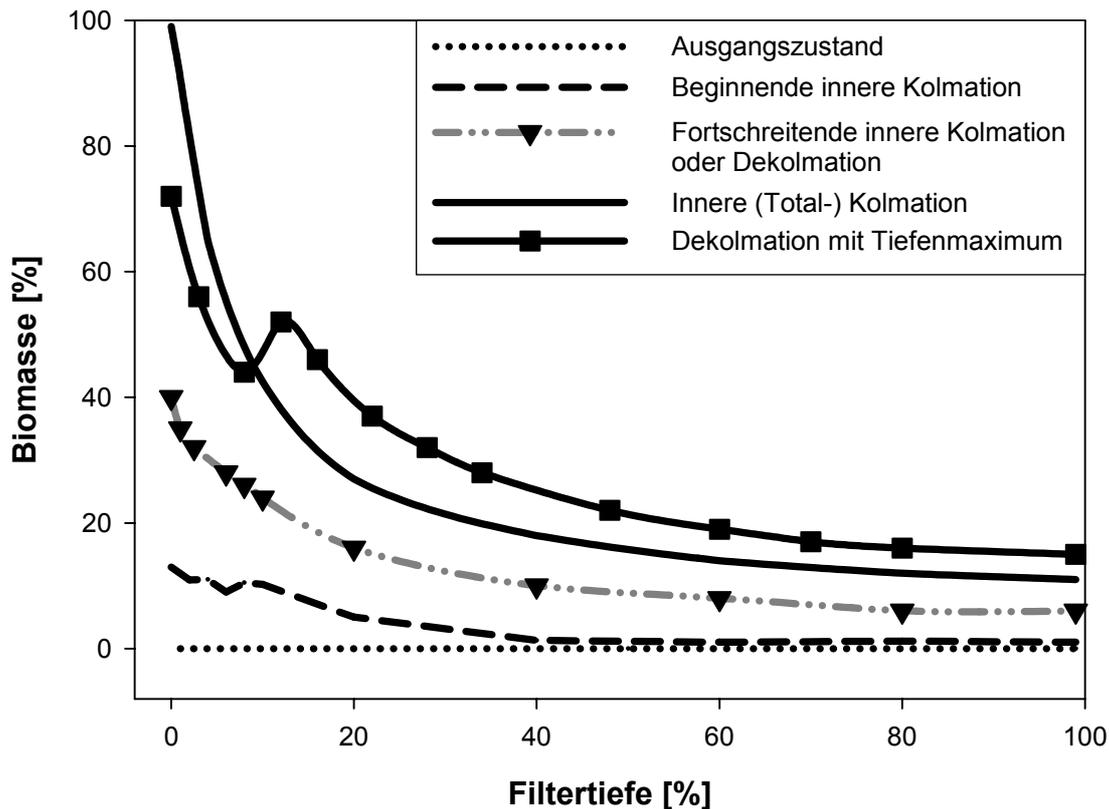


Abb. 34: Graphisches Modell, das den Verlauf der inneren mikrobiellen (Total-) Kolmation und Dekolmation darstellt. Angegeben ist die jeweilige prozentuale Verteilung der mikrobiellen Biomasse mit zunehmender Filtertiefe.

Im **Ausgangszustand** (gepunktete Linie) enthält der Filter keine oder wenig mikrobielle Biomasse. Durch die Beaufschlagungen nimmt die mikrobielle Biomasse aufgrund der noch nicht etablierten Biozönose zunächst ungleichmäßig zu und führt zur **beginnenden äußeren Kolmation** (gestrichelte Linie). Mit zunehmender Etablierung der Biozönose bildet sich eine **fortschreitende innere Kolmation** (Linie mit Dreiecken) mit einer exponentiellen Abnahme der Biomasse mit zunehmender Filtertiefe heraus. Die zunehmende Akkumulation von mikrobieller Biomasse auch in tieferen Filterschichten führt schließlich zur **inneren (Total-) Kolmation** (durchgezogene Linie). Durch die Abnahme der mikrobiellen Biomasse in den oberen Filterschichten kommt es zur **inneren Dekolmation** (Linie mit Dreiecken) des Filters. Bei einem Wassertransport im Filter während der Dekolmation kommt es zu einer Verfrachtung von Biomasse in tiefere Filterschichten, die zur **inneren Dekolmation mit einem Tiefenmaximum** an mikrobieller Biomasse führt (Linie mit Quadraten).

Nach einigen Beaufschlagungen mit partikelfreiem Abwasser bildet sich zunächst ein ungleichmäßiger Verlauf der Biomassekonzentration im oberen Filterbereich aus (Abb. 34, „Beginnende innere Kolmation“). Dieser nähert sich dann mit zunehmender Filtertiefe dem Ausgangszustand an. Der ungleichmäßige Biomasseverlauf im oberen Filterbereich ist auf eine noch nicht etablierte Biozönose zurückzuführen. Nach weiteren Beaufschlagungen bildet sich über die gesamte Filtertiefe ein exponentieller Verlauf der Biomassekonzentration heraus (Abb. 34, „Fortschreitende innere Kolmation“). Bei weiter fortschreitender Kolmation steigt sowohl die Biomassekonzentration an der Filteroberfläche wie auch in den darunterliegenden Filterschichten an, was schließlich zur Totalkolmation führt (Abb. 34, „Innere (Total-) Kolmation“).

Bei der inneren mikrobiellen Dekolmation können zwei Fälle unterschieden werden:

1. Beim Trockenfallen des Filters ohne nachfolgenden Wassertransport durch Beaufschlagungen oder Niederschlag nimmt die Biomassekonzentration über die gesamte Filtertiefe gleichmäßig ab (Abb. 34, „Innere Dekolmation“). Die Mineralisierung der Biomasse ist in den oberen Filterschichten stärker als in den vor Austrocknung besser geschützten tieferen Filterschichten.
2. Beim Trockenfallen des Filters mit nachfolgendem Wassertransport wird zunächst, vor allem an der Filteroberfläche, ein Teil der Biomasse abgebaut und mineralisiert. Kommt es dann zu einem Wassertransport durch den Filter, z. B. durch Niederschlag oder erneute Beaufschlagung, so wird ein Teil der nicht mineralisierten mikrobiellen Biomasse in tiefere Filterschichten transportiert. Die Folge ist eine besonders starke Akkumulation von Biomasse im oberen bis mittleren Filterbereich, was zu einem Biomasse- bzw. DNA-Tiefenmaximum in dieser Filtertiefe führt. In den darunterliegenden Filterschichten sind aufgrund der Verfrachtung von Biomasse höhere Biomassekonzentrationen zu finden als in den entsprechenden Filterschichten des (total-) kolmatierten Filters (Abb. 34, „Innere Dekolmation mit Tiefenmaximum“).

Sowohl bei der äußeren Dekolmation als auch bei der inneren Dekolmation ist die Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse derjenige Prozess, der zu der effektivsten Verringerung von mikrobieller Biomasse in den obersten Filterschichten führt. Bei der inneren Kolmation spielt daneben der Transport von Biomasse in tiefere Filterschichten eine wichtige Rolle. In diesem Fall verringert sich die mikrobielle Biomasse im oberen Filterbereich stark und akkumuliert in tieferen Filterschichten.

Bei einer rein mikrobiellen Kolmation ist sowohl die äußere wie auch die innere Kolmation voll reversibel. Durch die komplette Mineralisierung oder den Austrag der Biomasse aus dem Filter wird der Ausgangszustand wieder erreicht.

7.6 Praktische Bedeutung der Ergebnisse

7.6.1 Labor- und Freilandversuche

Bei dem Vergleich der Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung in den unbepflanzten Sandsäulen und dem mit Schilf bepflanzten RBF konnten keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden. Das bedeutet, dass die Schilfbepflanzung keinen wesentlichen Einfluss auf die Verteilung von Biomasse und Bioaktivität hatte. Obwohl auch Pflanzenwurzeln eine Kolmation auslösen können (siehe Tab. 3), kommen sie bei diesen Untersuchungen als Kolmationsursache nicht in Betracht. Den Schilfpflanzen kommt im RBF dennoch eine wichtige Funktion beim Rückhalt von partikulären Substanzen durch die Ausbildung einer Streuschicht zu (FUCHS & SCHNABEL 2002). Weitere Vorteile wie z. B. der Sauerstoffeintrag oder die Auflockerung des Filtermaterials können eine mikrobielle Kolmation nicht verhindern.

Bei allen Sandsäulen konnte in den unteren 10-15 cm eine Zone mit Kapillarwasser festgestellt werden (siehe Kap. 5.2.2 und 5.2.5). Diese Stauschicht wirkte sich bei intermittierender Beaufschlagung negativ auf die Sauerstoffversorgung der Filter aus. Während des Trockenfallens war eine Sauerstoffdiffusion von unten in den Filter nicht möglich. Wenn diese Stauschicht in (Retentions-) Bodenfiltern auftritt, ist die Sauerstoffversorgung durch Drainagerohre in solchen Systemen nicht möglich.

Die in Kap. 5.2.6 aufgeführten geringen Standardabweichungen der Biomassekonzentrationen in unterschiedlichen Entfernungen zum Rand zeigen, dass die Randeffekte in den durchgeführten Säulenversuchen vernachlässigbar sind. Für zukünftige Untersuchungen, die mit gleichen Korngrößen durchgeführt werden, sind demnach Filterdurchmesser von 15 cm oder 10 cm ausreichend. Solche kleinen und eventuell auch kürzeren Filter vereinfachen die Handhabung und verringern den Materialbedarf, insbesondere beim Abwasser.

Dem Filtermaterial und dem Abwasser kommen bei der mikrobiellen Kolmation eine besondere Bedeutung zu, ebenso der Beaufschlagungshöhe und der -häufigkeit. Das OECD-Abwasser ist aufgrund der komplexeren Zusammensetzung als Ersatz für ein kommunales (Misch-) Abwasser besser geeignet als das KMW-Abwasser. Bei speziellen Abbauprozessen oder Biomasseuntersuchungen hat das KMW-Abwasser den Vorteil, dass es nur eine einzige

Kohlenstoffquelle enthält und Bilanzierungen leichter durchgeführt werden können als mit dem komplexen OECD-Abwasser.

7.6.2 Empfehlungen für den Betrieb von Bodenfiltern

Die Untersuchungen wurden in erster Linie durchgeführt, um grundlegende Erkenntnisse über die Verteilung der Biomasse und Bioaktivität bei der Kolmation und Dekolmation in abwasserdurchsickerten Filtern zu gewinnen. Darüber hinaus kann ein Teil der an den Sandsäulen gewonnenen und am RBF Langenalb überprüften Ergebnisse verwendet werden, um Empfehlungen für den Betrieb von Bodenfiltern zu geben. Die Empfehlungen lassen sich in Maßnahmen zur Vorbeugung einer Filterkolmation und in Maßnahmen bei einer Filterkolmation einteilen (SCHWARZ et al. 2003).

Maßnahmen zum Vorbeugen einer Kolmation

Der Anteil an partikulären Stoffen im Abwasser beeinflusst wesentlich die vertikale Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung. Das Abwasser sollte nach Möglichkeit wenige organische Feststoffe enthalten, damit die Biomasseproduktion auch in tieferen Filterschichten erfolgen kann. Dies trägt zu einer deutlichen Entlastung der oberen Filterschichten bei, die aufgrund der hohen Biomassekonzentrationen der limitierende Faktor für die hydraulische Leitfähigkeit sind.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen die große Bedeutung der organischen Feststoffe für das Kolmationsverhalten der Filter auf. Bei einer Filterkolmation durch mikrobielle Biomasse ist die Netto-Biomasseakkumulation in den obersten Filterschichten sehr hoch. Dies ist hauptsächlich auf eine große Biomasseproduktion oder einen geringen Biomasseabbau durch Mineralisierung zurückzuführen (siehe Glg. 4). Soll in den Bodenfiltern eine mikrobielle Kolmation vermieden werden, so müssen Biomasseproduktion und Mineralisierung der Biomasse im Gleichgewicht zueinander stehen. Nachfolgend sind einige Faktoren aufgeführt, die zu einer Störung des Gleichgewichts beitragen und das Kolmationsrisiko erhöhen.

Besonders während einer Kälteperiode (Winter/Frühjahr) steigt das Kolmationsrisiko aufgrund der geringen Temperaturen und den im Vergleich zu den Sommermonaten häufigen Beaufschlagungen stark an. Die niedrigen Temperaturen führen aufgrund der höheren Viskosität des Wassers zu einer deutlich verringerten hydraulischen Leitfähigkeit. Außerdem akkumuliert die Biomasse bei niedrigeren Temperaturen im Filter stärker als bei höheren Temperaturen. Zum einen wird die Biomasseproduktion aufgrund der auch bei niedrigen Temperaturen hohen Reinigungsleistungen und der hohen Stofffrachten stark gefördert.

Zusätzlich wachsen bei niedrigeren Temperaturen die Biofilme kompakter. Das führt dazu, dass die Porenkanäle dichter zuwachsen und die Biofilme später vom Filtermaterial abreißen und in tiefere Filterschichten gelangen. Zum anderen führen ein fehlender Trockenstress, wie er im Sommer häufig auftritt, und niedrige Temperaturen zu einer geringen Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse.

Um sowohl eine hohe mikrobielle Umsatzleistung der Stofffrachten als auch die Mineralisierung der mikrobiellen Biomasse durch aerobe Prozesse sicherzustellen, sollte der Zeitraum zwischen zwei Beaufschlagungen ausreichend lang sein, um einen maximalen Sauerstoffeintrag zu gewährleisten. Der Sauerstoffeintrag in den Filter kann durch die Abwassermenge beeinflusst werden (PLATZER 1998). Im Vergleich zu einem trockengefallenen Filter ist die Sauerstoffdiffusion durch das Wasser etwa 10.000-fach geringer (LFU 2002). Vor allem durch längeres Trockenfallen (mehrere Wochen bis Monate) des Filters findet ein effektiver Abbau der kolmationsauslösenden mikrobiellen Biomasse durch Mineralisierung statt. Aus diesen dargestellten Einflussgrößen ergeben sich zahlreiche anlagenspezifische Möglichkeiten zur Minimierung des Kolmationsrisikos.

Maßnahmen bei einer (Total-) Kolmation

(Total-) kolmatisierte Bodenfilter werden zur Dekolmation meist mehrere Wochen bis zu einigen Monaten außer Betrieb genommen, um die hydraulische Leitfähigkeit zu erhöhen. Die dabei ablaufenden Dekolmationsprozesse sind in Kap. 7.5 dargestellt. Dabei kann ein Niederschlag oder eine Beaufschlagung nach einer längeren Phase der Nichtbeaufschlagung den Transport von abgestorbener Biomasse in tiefere Filterschichten unterstützen. Wichtig für die Dekolmation ist das Austrocknen und die Gewährleistung der Sauerstoffdiffusion in den Filter. Ein längerer Filtereinstau sollte verhindert werden, da anoxische oder anaerobe Bedingungen einen schnellen aeroben Abbau verhindern und die für den Filterbetrieb notwendige aerobe Biozönose schwächen.

Das Austrocknen der Biomasse wird oft durch eine Streuschicht oder Schmutzdecke auf der Filteroberfläche verzögert. Dies wird anhand der horizontalen Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung im RBF sehr deutlich. Im Zulaufbereich mit einer größeren Streuschicht werden aufgrund des geringeren Trockenstress die Biomasse und Bioaktivität weniger verringert als im Filterablaufbereich, wo diese Streuschicht geringer ist.

Theoretisch denkbar ist auch der Einsatz bakterizider Substanzen (z. B. Zugabe von H_2O_2 , Chlorierung, zellwandschädigende Detergenzien, Antibiotika). Dabei ist allerdings darauf zu achten, dass negative Folgen (z. B. eine Kontamination des Vorfluters) nicht größer sind als

der Nutzen der eingesetzten Methode. Außerdem muss in besonderem Maße auf die Filterbepflanzung Rücksicht genommen werden. Diese ist zum einen wichtig für die Filterbelüftung und zum anderen für den partikulären Stoffrückhalt, der durch die Stockwerk-sedimentation und den Auskämmungseffekt gefördert wird (FUCHS & SCHNABEL 2002).

8 Ausblick

Die HPLC-Methode zur Nucleinsäurebestimmung ermöglicht exakte Untersuchungen in Bereichen der Siedlungswasserwirtschaft, in denen Biomasse- und Bioaktivitätsbestimmungen wichtig sind. Neue und interessante Anwendungsgebiete sind beispielsweise Kolmationsprozesse im Umfeld von Kanalleckagen und die Kolmation von Sandfiltern und Gewässersedimenten. Bezüglich der Untersuchung von Abwässern in unterschiedlichen Stufen der biologischen Reinigung von Kläranlagen sind zusätzlich Untersuchungen des metabolischen Zustands der Mikroorganismen anhand des RNA/DNA-Verhältnisses von Bedeutung.

Die mittels Anionenaustauschchromatographie isolierten und hochreinen Nucleinsäuren können mit einem Probensammler aufgefangen und gelchromatographisch analysiert werden. So könnten beispielsweise die unterschiedlichen Nucleinsäurearten, der Informationsgehalt der Nucleinsäuren und die Kettenlänge detaillierter untersucht werden.

In dieser Arbeit wurden die isolierten Nucleinsäuren ausschließlich für quantitative Messungen herangezogen. Der Informationsgehalt der Nucleinsäuren, der beispielsweise zur Identifizierung der Mikroorganismenzusammensetzung herangezogen werden kann, blieb ungenutzt. Mit einer qualitativen Analyse, mit Hilfe der Gensondentechnik, können spezielle, kolmationsauslösende Mikroorganismen wie beispielsweise *Bacillus* sp. (DELEO & BAVEYE 1997), *Arthrobacter* sp. (VANDEVIVERE & BAVEYE 1992a), *Methanosarcina barkeri* (SANCHEZ DE LOZADA et al. 1994) identifiziert werden.

Bei jeder Kolmation spielt der Porenkanaldurchmesser eine zentrale Rolle. Neben der Partikelgrößenverteilung des Abwassers ist die Korngrößenzusammensetzung die entscheidende Einflussgröße bei der Entstehung einer inneren oder äußeren mikrobiellen Kolmation oder Dekolmation. Ein Vergleich von Filtern mit unterschiedlich großem Filterkorn kann zusätzliche Informationen hinsichtlich der Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen liefern.

Um im Labor stärkere mikrobielle Kolmationen auszulösen, sind kleinere Filterdurchmesser und ggf. höhere Nährstofffrachten notwendig. Je nach Fragestellung ist der Einsatz von inertem Filtermaterial, beispielsweise Glaskugeln, sinnvoll. Da die Nitrifikanten nur langsam wachsen, und die einzelnen Kolmationsversuche somit viel Zeit in Anspruch nehmen, ist die Verwendung von Bakterienarten mit kürzerer Generationszeit vorteilhaft. Mit solchen modellhaften Versuchsanordnungen können weitere Erkenntnisse über die Biomasse- und

Bioaktivitätsverteilung und den Transport der Biomasse in tiefere Filterschichten gewonnen werden. Des Weiteren kann mit solchen vereinfachten Systemen die Besiedlung der Porenkanäle durch die Mikroorganismen eingehender untersucht werden. Über den Vorgang der Besiedlung und die Anordnung der Mikroorganismen in den Porenkanälen des Filtermaterials ist bislang nur wenig bekannt.

Durch Probenahmen zu verschiedenen Zeitpunkten des Filterbetriebs können interessante Einzelheiten zur Besiedlung und zur Biomasse- und Bioaktivitätsverteilung aufgedeckt werden. Auf diese Weise kann der metabolische Zustand der Mikroorganismen mit Hilfe des RNA/DNA-Verhältnisses besser beurteilt werden.

Von praktischem Interesse sind Folgeuntersuchungen zum Dekolmationsprozess. Die für viele Mikroorganismen toxischen Nitritkonzentrationen führten in dieser Untersuchung zu einer deutlichen Dekolmation. Bei überwiegend mikrobieller Kolmation könnten in der Zukunft auch bakterizid oder bakteristatisch wirkende Chemikalien zum Einsatz kommen, die in Analogie zu den hohen Nitritkonzentrationen zu einer Dekolmation führen. Somit könnte eine schnellere Dekolmation und Wiederinbetriebnahme der Filter möglich gemacht werden.

9 Schlussfolgerungen

In diesem Kapitel werden die in Kap. 3 formulierten Fragen aufgegriffen und die wichtigsten Ergebnisse in Form von Kernaussagen zusammengefasst. In den Klammern ist der Verweis zum jeweiligen Kapitel angegeben.

1. Mit der HPLC-Methode können die Nucleinsäuren DNA, rRNA und tRNA quantitativ aus Bodenkörpern isoliert werden. Damit ist es möglich, den Einfluss der mikrobiellen Biomasse (DNA) und Bioaktivität (RNAs) auf die Kolmation von Bodenkörpern zu untersuchen. Für eine quantitative Nucleinsäurebestimmung sind spezielle, RNase-freie Arbeitsschritte bei der Probenaufarbeitung erforderlich (siehe Kap. 4.2.1 und 5.1).
2. Zwischen der in den Sandfiltern akkumulierten BSB₅-Fracht und der mittleren Biomassekonzentration besteht eine enge Korrelation. Die zurückgehaltenen bioverfügbaren Abwasserinhaltsstoffe werden im Sandfilter in Biomasse umgewandelt und akkumuliert (siehe Kap. 6.3).
3. Zwischen dem Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit und der Zunahme der mikrobiellen Biomasse in den Sandfiltern besteht eine sehr enge Korrelation. Mikrobielle Biomasse kann abwasserdurchsickerte Bodenkörper schnell und effektiv verstopfen. (siehe Kap. 6.1 und 7.4.1).
4. Im Filtermaterial werden vornehmlich die Porenkanäle besiedelt, was teilweise zu einem schnellen Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit führt. Wegen der quadratischen Abhängigkeit des Porenkanalquerschnitts zur hydraulischen Leitfähigkeit wirkt sich die in den Porenkanälen gebildete mikrobielle Biomasse besonders wirksam auf die Kolmation aus (siehe Kap. 6.4 und 7.3.3).
5. Die höchste Biomassekonzentration ist in der obersten Filterschicht lokalisiert. Diese Schicht ist daher bei einem Wassertransport durch den Sandfilter geschwindigkeitsbestimmend und für die Kolmation entscheidend (siehe Kap. 6.1).
6. Eine Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C führt zu einer höheren Viskosität des Wassers und dadurch zu einem beträchtlichen Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit. Daher ist bei Bodenfiltern in der kalten Jahreszeit das Kolmationsrisiko erheblich höher. Die CSB-Reinigungsleistung, die Nitrifikation und der metabolische Zustand der Mikroorganismen werden durch eine Temperaturabsenkung nur unwesentlich beeinflusst, so dass das Kolmationsrisiko aufgrund der unvermindert hohen Biomassebildung zusätzlich ansteigt (siehe Kap. 5.3 und 6.6).

7. Die vertikale Verteilung der mikrobiellen Biomasse und Bioaktivität in den Sandfiltern wird sehr stark vom Gehalt an organischen Feststoffen im Abwasser beeinflusst. Beaufschlagungen mit stark partikelhaltigem Abwasser führen zu einer äußeren mikrobiellen Kolmation, Beaufschlagungen mit partikelfreiem Abwasser führen zu einer inneren mikrobiellen Kolmation (siehe Kap. 5.3.5, 6.2 und 7.5).
8. Das Austrocknen eines mikrobiell kolmatierten Sandfilters bewirkt, besonders in den oberen Filterschichten, eine Mineralisierung der Biomasse (innere mikrobielle Dekolmation). Bei der Mineralisierung wird die Biomasse abgebaut und entweicht bei vollständiger Umsetzung in Form von Kohlenstoffdioxid und Wasser aus dem Filter. Verlängerte Intervalle zwischen den Beaufschlagungen bewirken eine geringere Biomassebildung (siehe Kap. 5.3.5, 6.3 und 7.5).
9. Kommt es während der inneren mikrobiellen Dekolmation zu einem erneuten Wassertransport, findet unter Umständen ein beträchtlicher Transport von mikrobieller Biomasse in tiefere Filterschichten statt. Dieser Biomassetransport führt zu deutlich höheren Biomassekonzentrationen in tieferen Filterschichten und zur Ausbildung eines Biomasse-Tiefenmaximums. Dies führt wegen der Biomasseverringering in der obersten, geschwindigkeitsbestimmenden Filterschicht zu einer Erhöhung der hydraulischen Leitfähigkeit (siehe Kap. 7.5).
10. Neben dem Trockenfallen der Sandfilter kann auch eine erstmals beschriebene Vergiftung der Mikroorganismen zu einem Biomasse- und Kolmationsrückgang während des Filterbetriebs führen. Dabei handelt es sich um zelltoxisches Nitrit, das von den Nitrifikanten im Biofilm gebildet wird und andere Mikroorganismen im Biofilm vergiftet (siehe Kap. 5.3.1 und 7.2.1).

10 Zusammenfassung

Unter Kolmation versteht man physikalische, chemische oder biologische Prozesse, die durch Porenraumverstopfung die hydraulische Leitfähigkeit von Bodenkörpern herabsetzen. Die Auswirkungen der Kolmation werden ambivalent bewertet: Da der Boden abgedichtet wird, ist die Kolmation beispielsweise bei kleineren Kanalleckagen zum Schutz des Grundwassers erwünscht. Bei Bodenfiltern zur Abwasserreinigung führt die Kolmation dagegen dazu, dass der Filter funktionsunfähig wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Bedeutung der mikrobiellen Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenfiltern zum einen in Laborversuchen und zum anderen an einem Retentionsbodenfilter im Freiland untersucht.

Unter standardisierten Laborbedingungen wurden in zwei Versuchen insgesamt zwölf Sandsäulen mit verschiedenen Abwässern jeweils drei Monate intermittierend beaufschlagt. Um die kolmationsauslösende Biomasse und die Bioaktivität messen zu können, wurde ein molekularbiologischer Ansatz gewählt. Dabei diente die DNA als Biomasseparameter und die „Gesamt“-RNA (tRNA und rRNA) als Parameter für die absolute Bioaktivität. Die Nucleinsäuren wurden nach dem Prinzip der Anionenaustauschchromatographie mit einer HPLC-Methode, die für die Kolmationsuntersuchungen weiterentwickelt wurde, aufgetrennt und photometrisch quantifiziert. Diese Methode zur Nucleinsäurebestimmung konnte bei Säulenversuchen im Labor und an einem Retentionsbodenfilter erfolgreich eingesetzt werden. Die Konzentrationsverläufe von Biomasse (DNA) und absoluter Bioaktivität („Gesamt“-RNA) waren sehr ähnlich. Das RNA/DNA-Verhältnis aller Proben schwankte mit $0,60 \pm 0,10$ nur minimal und ist für die Beurteilung der relativen oder spezifischen Bioaktivität bzw. der Wachstumsrate geeignet. Die Untersuchungen der DNA- und RNA-Verteilungen lieferten genaue und robuste Werte, die mit den Paralleluntersuchungen (KBE, Dehydrogenaseaktivität) weitgehend übereinstimmten. Die HPLC-Methode ergab sehr fein aufgelöste Verläufe der Nucleinsäurekonzentrationen im Zentimeterbereich.

Die CSB-Reinigungsleistung lag nach der Adaptation der Abwasserbiozönose in allen Sandsäulen zwischen 76-90 %. Die daraus errechnete akkumulierte BSB₅-Fracht korrelierte gut mit der mikrobiellen Biomasse in den Filtern. Die mikrobielle Biomasse, gemessen als DNA-Konzentration, korrelierte mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,85 gut mit dem Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit und konnte als Hauptursache für die Kolmation identifiziert werden. Ab einer DNA-Konzentration von etwa 100 µg/g TG ist, bei vergleichbaren

Bedingungen, mit einer starken Kolmation zu rechnen. Neben der mikrobiellen Kolmation konnte auch eine vergleichsweise unbedeutende physikalische Kolmation beobachtet werden.

Die Abwasserzusammensetzung, insbesondere der organische Feststoffgehalt, beeinflusste stark die Verteilung der mikrobiellen Biomasse und Bioaktivität. Die Beaufschlagung mit partikelhaltigem Abwasser führte zu einer äußeren mikrobiellen Kolmation, die durch einen sehr steilen exponentiellen DNA-Gradienten innerhalb der oberen 0-2 cm gekennzeichnet war. Im Gegensatz dazu führte das partikelfreie Abwasser zu einer inneren mikrobiellen Kolmation mit einem langsam exponentiell abnehmenden DNA-Gradienten bis in 60 cm Filtertiefe.

Die Biomasse- und Bioaktivitätsverteilungen der Labor- und Freilanduntersuchungen unterschieden sich in ihrem Verlauf unwesentlich. Nach einem längeren Trockenfallen wurden in den dekolmatierten Filtern deutlich geringere Nucleinsäurekonzentrationen gefunden. Aufgrund der Wiederbeaufschlagung konnte sowohl in den Sandsäulen im Labor wie auch im RBF Langenalb aufgrund von DNA- bzw. Biomassetransport in tiefere Filterschichten ein DNA-Tiefenmaximum festgestellt werden. Anhand der vertikalen Biomasseverteilung konnte ein graphisches Modell zum Verlauf des Kolmations- und Dekolmationsprozesses aufgestellt werden.

Die mikroskopischen Untersuchungen ergaben, dass das untersuchte Filtermaterial äußerst spärlich, heterogen und überwiegend von kokkenförmigen Bakterien besiedelt war. Die Biofilme waren teilweise 30-60 µm dick und damit sehr voluminös.

Mit zunehmender Kolmation wurden immer weniger KBE aus den Filtern ausgetragen. Dies führte, verglichen mit den Höchstwerten, zu einem Rückgang der KBE um 72-97 %.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass es sich bei der mikrobiellen Kolmation um einen reversiblen Prozess handelt. Durch ungünstige Lebensbedingungen, z. B. hohe Nitritkonzentrationen während der Nitrifikation oder Trockenstress, stieg die hydraulische Leitfähigkeit wieder an.

Die mikrobielle Biomasse kann Porenkanäle in Bodenkörpern effektiv und reversibel verstopfen. Damit ist sie für eine Kolmation von großer Bedeutung. Mit der hier vorgestellten Methode zur Nucleinsäurebestimmung wurde ein molekularbiologisches Werkzeug entwickelt, das die kolmationsauslösende Biomasse und Bioaktivität in abwasserdurchsickerten Bodenfiltern zuverlässig quantifiziert.

11 Literaturverzeichnis

- Agassi, M.; Kirsten, W.F.A.; Looock, A.H. & Fine, P. (1998): Percolation and leachate composition in a disturbed soil layer mulched with sewage biosolids. *Soil & Tillage Research* 45(3-4): 359-372.
- Ahmad, S.; Aslam, M. & Shafiq, M. (1996): Reducing water seepage from earthen ponds. *Agric. Wat. Man.* 30: 69-76.
- Albiker, B. (1972): Kolmatation eines Kiesgerüsts: Ein quasi-thermodynamischer Vorgang. Veröffentlichungen des Instituts für Bodenmechanik und Felsmechanik 52. Universität Karlsruhe.
- Alef, D. (1991): Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie: Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. Ecomed-Verlag, Landsberg/Lech.
- Allison, L.E. (1947): Effect of microorganisms on permeability of soil under prolonged submergence. *Soil Science* 63: 439-450.
- Arnz, P. (2001): Biological Nutrient Removal from Municipal Wastewater in Sequencing Batch Biofilm Reactors. Berichte aus der Wassergüte- und Abfallwirtschaft 164. TU München.
- ATV [Abwassertechnische Vereinigung] (1992): Arbeitsblatt A 128. Richtlinien für die Bemessung und Gestaltung von Regenentlastungsanlagen in Mischwasserkanälen. GFA, Hennef.
- ATV (1998a): Arbeitsblatt A 166. Bauwerke der zentralen Regenwasserbehandlung und -rückhaltung: Konstruktive Gestaltung und Ausrüstung. GFA, Hennef.
- ATV (1998b): Arbeitsblatt A 262. Grundsätze für Bemessung, Bau und Betrieb von Pflanzenbeeten für kommunales Abwasser bei Ausbaugrößen bis 1000 Einwohnerwerte. GFA, Hennef.
- ATV-DVWK [Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall] (2002): Arbeitsblatt A 138. Planung, Bau und Betrieb von Anlagen zur Versickerung von Niederschlagswasser. GFA, Hennef.
- Avnimelech, Y. & Nevo, Z. (1964): Biological clogging of sands. *Soil Science* 98: 222-226.
- Banscher, E. (1975): Beitrag zur Beurteilung von Kolmationserscheinungen an fließenden Gewässern. Dissertation. TU Dresden.
- Bardtke, D. & Thomanetz, E. (1976): Untersuchungen zur Erfassung der Biomasse von Belebtschlamm durch quantitative Analyse der Desoxyribonukleinsäure (DNS). *gwf Wasser Abwasser* 117(10): 451-453.
- Bast, E. (2001): Mikrobiologische Methoden: eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 2. Auflage.
- Baveye, P.; Vandevivre, P.; Hoyle, B.L.; DeLeo, P.C. & Sanchez de Lozada, D. (1998): Environmental impact and mechanisms of the biological clogging of saturated soils and aquifer materials. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28(2): 123-191.

- Bichara, A.F. (1986): Clogging of recharged wells by suspended solids. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering* 112(3): 210-224.
- Blazejewski, R. & Murat-Blazejewska, S. (1997): Soil clogging phenomena in constructed wetlands with subsurface flow. 1-7. In: Haberl, R.; Perfler, R.; Laber, J. & Cooper, P. (Eds.): *Wetland Systems for Water Pollution Control*, Vienna 1996. Pergamon Press, Oxford.
- Bleines, W. & Van Riesen, S.G. (1974): Physikalische, chemische und biologische Vorgänge bei der Selbstdichtung von Gewässersohlen. Sonderforschungsbereich 80, Ausbreitungs- und Transportvorgänge in Strömungen. Band 25. Universität Karlsruhe.
- Blum, S.A.E.; Lorenz, M.G., & Wackernagel, W. (1997): Mechanism of retarded DNA degradation and prokaryotic origin of DNases in nonsterile soils. *System. Appl. Microbiol.* 20: 513-521.
- BMI [Bundesminister des Innern] (Hrsg.) (1985): *Künstliche Grundwasseranreicherung. Stand der Technik und des Wissens in der Bundesrepublik Deutschland; Empfehlungen für weitere Untersuchungen und Anwendungsbereiche.* Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- Bouwer, H. (1996): Issues in artificial recharge. *Wat. Sci. Tech.* 33: 381-390.
- Bubela, B. (1985): Effect of biological activity on the movement of fluids through porous rocks and sediments and its application to enhanced oil recovery. *J. Geomicrobiology* 4: 313-327.
- Bucksteeg, K. (1986): Sumpflöranlage – Verfahrensvarianten, Betriebserfahrungen, Problem Bodenhydraulik. *gwf Wasser Abwasser* 127(9): 429-434.
- Busch, K.-F. & Luckner, L. (1974): *Geohydraulik für Studium und Praxis.* Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. 2. durchgesehene Auflage.
- Calaway, W.T. (1957): Intermittent sand filters and their biology. *Sewage and Industr. Wastes* 29: 1-5.
- Colpan, M. (1983): *Entwicklung und Optimierung eines Trennverfahrens für hochmolekulare Nukleinsäuren mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC).* Dissertation. TH Darmstadt.
- Cooke, A.J. & Rowe, R.K. (1999): Extension of porosity and surface area models for uniform porous media. *Journal of Environmental Engineering* 125(2): 126-136.
- Coppella, S.J.; Acheson, C.M. & Dhurjati, P. (1987): Isolation of high-molecular-weight nucleic acids for copy number analysis using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 402: 189-199.
- Cording, I. (2000): *Keimentfernung und Keimidentifizierung in der Abwasserreinigung – Vergleich der Leistungsfähigkeit von Biokreisell, Tropfkörperanlage und Pflanzenkläranlage.* Diplomarbeit. Universität Oldenburg.
- Craven, W.; Townsend, T.G.; Vogel, K. & Laux, S. (1999): Field investigation of landfill leachate collecting system clogging. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management* 3(1): 2-9.

- Daul, R. (2001): Biologische Kolmation von Bodenkörpern (Literaturarbeit). Diplomarbeit. Institut für Siedlungswasserwirtschaft. Universität Karlsruhe.
- Davis, J.B. (1967): Petroleum microbiology. Elsevier Verlag, Amsterdam.
- De Vries, J. (1972): Soil filtration of wastewater effluent and mechanism of pore clogging. *Journal Water Pollution Control Federation* 44(4): 565-573.
- DeLeo, P.C. & Baveye, P. (1997): Factors affecting protozoan predation of bacteria clogging laboratory aquifer organisms. *Geomicrobiology Journal* 14(2): 127-149.
- Dell'Anno, A.; Fabiano, M.; Duineveld, G.C.A.; Kok, A. & Danovaro, R. (1998): Nucleic acid (DNA, RNA) quantification and RNA/DNA ratio determination in marine sediments: comparison of spectrophotometric, fluorometric and high-performance liquid chromatography methods and estimation of detrital DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(9): 3238-3245.
- Deront, M.; Samb, F.M.; Adler, N. & Péringer, P. (1998): Biomass growth monitoring using pressure drop in a cocurrent biofilter. *Biotechnology and Bioengineering* 60(1): 97-104.
- Dohmann, M. (Hrsg.) (1999): Wassergefährdung durch undichte Kanäle: Erfassung und Bewertung. Springer-Verlag, Berlin.
- Donta, A.A. (1997): Der Boden als Bioreaktor bei der Aufbringung von Abwasser auf landwirtschaftlich genutzte Flächen. Veröffentlichungen des Institutes für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik der Universität Hannover. Heft 100.
- Dortch, Q.; Roberts, T.L.; Clayton, J.R. & Ahmed, S.I. (1983): RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic marine organisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 13: 61-71.
- Duarte, G.F.; Rosado, A.S.; Seldin, L.; Keijzer-Wolters, A.C. & van Elsas, J.D. (1998): Extraction of ribosomal RNA and genomic DNA from soil for studying the diversity of the indigenous bacterial community. *Journal of Microbiological Methods* 32(1): 21-29.
- Dunger, W. & Fiedler, H.J. (Hrsg.) (1997): Methoden der Bodenbiologie. G. Fischer Verlag, Jena. 2., neubearbeitete Auflage.
- Eisenmann, H.; Harms, H.; Meckenstock, R.; Meyer, E.I. & Zehnder, A.J.B. (1998): Grazing of *Tetrahymena* sp. on adhered bacteria in percolated columns monitored by in situ hybridization with fluorescent oligonucleotide probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(4): 1264-1269.
- Ellis, K.V. & Aydin, M.E. (1995): Penetration of solids and biological activity into slow sand filters. *Wat. Res.* 29(5): 1333-1341.
- Felske, A.; Engelen, B.; Nübel, U. & Backhaus, H. (1996): Direct ribosome isolation from soil to extract bacterial rRNA for community analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(11): 4162-4167.
- Fontvieille, D. & Fevotte, G. (1981): DNA content of the sediment in relation to self-purification in streams polluted by organic wastes. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 21: 221-226.

- Ford, H.W. & Beville, B.C. (1968): Chemical changes in tile-drain filters and ditch banks caused by anaerobiosis. *Trans. A.S.A.E.* 11: 41-42.
- Ford, H.W. (1982): Estimating the potential for ochre clogging before installing drains. *Trans. A.S.A.E.* 25: 1597-1600.
- Fox, P.; Wang, L.; Johnson, P.C.; Houston, S.; Houston, W.N. & Brown, P. (1998): Chlorination for control of biological activity during direct recharge of tertiary effluent. *Water Science & Technology* 38(6): 55-62.
- Fritsche, W. (1998): *Umwelt-Mikrobiologie: Grundlagen und Anwendungen*. G. Fischer Verlag, Jena. 1. Auflage.
- Frostegård, Å.; Courtois, S.; Ramisse, V.; Clerc, S.; Bernillon, D.; Le Gall, F.; Jeannin, P.; Nesme, X. & Simonet, P. (1999): Quantification of bias related to the extraction of DNA directly from soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(12): 5409-5420.
- Fuchs, S. & Schnabel, S. (2002): Betriebsüberwachung des Retentionsbodenfilters Langenalb (Gemeinde Straubenhardt) einschließlich Begleituntersuchungen am Gewässer. Abschlussbericht für das Land Baden-Württemberg, vertreten durch das Regierungspräsidium Karlsruhe.
- Geller, G. (1997): Horizontal subsurface flow systems in the german speaking countries: Summary of long-term scientific and practical experiences; recommendations. *Water Science & Technology* 35(5): 157-166.
- Gisi, U.; Schenker, R.; Schulin, R.; Stadelmann, F.X. & Sticher, H. (1997): *Bodenökologie*. Thieme Verlag, Stuttgart. 2. neubearbeitete und erweiterte Auflage.
- Gottlieb, O.J. & Blattert, R.E. (1988): Concepts of well cleaning. *American Water Works Association* 80(5): 34-39.
- Graf, G. & Bengtsson, W. (1984): Heat production, activity of the electron-transport-system (ETS), the ratio heat production/ETS-activity, and ATP-turnover as useful tools in benthic ecological field studies. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 19: 249-256.
- Gray, N.F. (1981): Percolating filters: a selected bibliography, 1969-1980. *Effl. Wat. Treat. J.* 16: 374-380.
- Griffiths, R.I.; Whiteley, A.S.; O'Donnell, A.O. & Bailey, M.J. (2000): Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5488-5491.
- Grombach, P.; Haberer, K.; Merkl, G. & Trüb, E.U. (2000): *Handbuch der Wasserversorgungstechnik*. Oldenbourg Verlag, München. 3. völlig überarbeitete Auflage.
- Guilloteau, J.A.; Lesavre, J.; Liénard, A. & Genty, P. (1993): Wastewater treatment over sand columns – treatment yields, localisation of the biomass and gas renewal. *Water Science & Technology* 28(10): 109-116.
- Gujer, W. (1999): *Siedlungswasserwirtschaft*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

- Gupta, R.P. & Swartzendruber, D. (1962): Flow-associated reduction in the hydraulic conductivity of quartz sand. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 26: 6-10.
- Hilger, H.A.; Cranford, D.F. & Barlaz, M.A. (2000): Methane oxidation and microbial exopolymer production in landfill cover soil. *Soil Biology & Biochemistry* 32: 457-467.
- Hill, S. (1983): Untersuchungen über die Wechselwirkungen zwischen Porenverstopfung und Filterwiderstand mittels Tracermessungen. *Schriftenreihe WAR 18*. TH Darmstadt.
- Hill, S. (1986): Über die Wechselwirkungen zwischen Porenverstopfung (Kolmation) und Filterwiderstand. *gwf Wasser Abwasser* 4: 174-184.
- Hilton, J. & Whitehall, K.V. (1979): Investigating reduced hydraulic throughput of sand filters. *Effl. Wat. Treat. J.* 19: 15-25.
- Holben, W.E. (1994): Isolation and purification of bacterial DNA from soils. In: Weaver, R.W. (Ed.): *Methods of Soil Analysis, Part 2*. Soil Science Society of America, Inc. 727-751.
- Holm-Hansen, O.; Sutcliffe, W.H. & Sharp, J. (1968): Measurement of deoxyribonucleic acid in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.* 13: 507-514.
- Honda, Y. & Matsumoto, J. (1983): The effect of temperature on the growth of microbial film in a model trickling filter. *Wat. Res.* 17(4): 375-382.
- Hurt, R.A.; Qiu, X.; Wu, L.; Roh, Y.; Palumbo, A.V.; Tiedje, J.M. & Zhou, J. (2001): Simultaneous recovery of RNA and DNA from soils and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 4495-4503.
- Juanico, M.; Azov, Y.; Teltsch, B. & Shelef, G. (1995): Effect of effluent addition to a freshwater reservoir on the filter clogging capacity of irrigation water. *Wat. Res.* 29(7): 1695-1702.
- Kemp, P.F.; Lee, S. & LaRoche, J. (1993): Estimating the growth rate of slowly growing marine bacteria from RNA content. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(8): 2594-2601.
- Kerkhof, L. & Ward, B.B. (1993): Comparison of nucleic acid hybridization and fluorometry for measurement of the relationship between RNA/DNA ratio and growth rate in a marine bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(5): 1303-1309.
- Kidron, G.J.; Yaalon, D.H. & Vonshak, A. (1999): Two causes for runoff initiation on microbiotic crusts: Hydrophobicity and pore clogging. *Soil Science* 164(1): 18-27.
- Kleinig, H. & Sitte, P. (1999): *Zellbiologie*. G. Fischer Verlag, Stuttgart. 4. Auflage.
- Knodel, H. & Bayrhuber, H. (Hrsg.) (1991): *Linder Biologie*. J.B. Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart. 20. Auflage.
- Koch, T. (2000): Bakterielle Besiedlungsmuster unter Huminstoff-Einfluss in Grundwasser-Simulationsfiltern. *Dissertation*. Universität Bremen.
- Kok, A. (2000): Laborprotokoll. Schriftliche Mitteilung.
- Kok, A. (1999): Mündliche Mitteilung.

- Kristiansen, R. (1981a): Sand-filter-trenches for purification of septic tank effluent: I The clogging mechanism and soil physical environment. *J. Environ. Qual.* 10(3): 353-357.
- Kristiansen, R. (1981b): Sand-filter-trenches for purification of septic tank effluent: III The microflora. *J. Environ. Qual.* 10(3): 358-360.
- Krsek, M. & Wellington, E.M.H. (1999): Comparison of different methods for the isolation and purification of total community DNA from soil. *J. Microbiol. Methods* 39: 1-16.
- Kuntze, H. (1982): Iron clogging in soils and pipes, analysis and treatment. Deutscher Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau e.V. (DVWK). Bulletin 10. Verlag Paul Parey, Hamburg.
- Lappin-Scott, H.M.; Cusack, F. & Costeron, J.W. (1988): Nutrient resuscitation and growth of starved cells in sandstone cores: a novel approach to enhanced oil recovery. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(6): 1373-1382.
- Le Bihan, Y. & Lessard, P. (2000): Monitoring biofilter clogging: Biochemical characteristics of the biomass. *Wat. Res.* 34(17): 4284-4294.
- LFU [Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg] (Hrsg.) (2002): Bodenfilter zur Regenwasserbehandlung im Misch- und Trennsystem. Reihe Handbuch Wasser 4 – Abwasser, Band 10. 2. überarbeitete Auflage.
- Litty, K. (2001): Auswirkung von Klimastress auf die Kolmation und Reinigungsleistung von Bodenfiltern (Laborexperiment). Vertiefungsarbeit. Institut für Siedlungswasserwirtschaft. Universität Karlsruhe.
- Macherey-Nagel: Operation Manual; General features and operating conditions for NUCLEOGEN[®] columns.
- MacLeod, F.A.; Lappin-Scott, H.M. & Costerton, J.W. (1988): Plugging of a model rock system by using starved bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(6): 1365-1372.
- Martienssen, M. (2001): Leistungen immobilisierter Mikroorganismen bei der Eliminierung von Umweltschadstoffen. Habilitation. Universität Halle-Wittenberg.
- Marxen, J.; Tippmann, P.; Heininger, P.; Preuß, G. & Remde, A. (1998): Enzymaktivität. 87-114. In: Remde, A. (Hrsg.): Mikrobiologische Charakterisierung aquatischer Sedimente: Methodensammlung. Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM). Oldenbourg Verlag, München.
- McIntyre, B.D. & Riha, S.J. (1991): Hydraulic conductivity and nitrogen removal in an artificial wetland system. *J. Environ. Qual.* 20(1): 259-263.
- Mikkelsen, P.S.; Jacobsen, J. & Fujita, S. (1996): Infiltration practice for control of urban stormwater. *Journal of Hydraulic Research* 34(6): 827-839.
- Miller, D.N.; Bryant, J.E.; Madsen, E.L. & Ghiorse, W.C. (1999): Evaluation and optimization of DNA extraction and purification procedures for soil and sediment samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(11): 4715-4724.

- Milner, M.G.; Saunders, J.R. & McCarthy, A.J. (2001): Relationship between nucleic acid ratios and growth in *Listeria monocytogenes*. *Microbiology* 147: 2689-2696.
- Moran, M.A.; Torsvik, V.L.; Torsvik, T. & Hodson, R.E. (1993): Direct extraction and purification of rRNA for ecological studies. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(3): 915-918.
- Moré, M.I.; Herrick, J.B.; Silva, M.C.; Ghiorse, W.C. & Madsen, E.L. (1994): Quantitative cell lysis of indigenous microorganisms and rapid extraction of microbial DNA from sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(5): 1572-1580.
- Mudrack K. & Kunst S. (1988): *Biologie der Abwasserreinigung*. G. Fischer Verlag, Stuttgart.
- Muttray, A.F. & Mohn, W.W. (1998): RNA/DNA ratio as an indicator of metabolic activity in resin acid-degrading bacteria. *Water Science and Technology* 37(4-5): 89-93.
- Muttray, A.F.; Yu, Z. & Mohn, W.W. (2001): Population dynamics and metabolic activity of *Pseudomonas abietaniphila* BKME-9 within pulp mill wastewater microbial communities assayed by competitive PCR and RT-PCR. *FEMS Microbiology Ecology* 28: 21-31.
- Novitsky, J.A. (1986): Degradation of dead microbial biomass in a marine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 52(3): 504-509.
- Oberdorfer, J.A. & Peterson, F.L. (1985): Waste-water injection: geochemical and biogeochemical clogging processes. *Ground Wat.* 23: 753-761.
- Obst, U.; Alexander, I. & Mevius, W. (1990): *Biotechnologie in der Wasseraufbereitung*. Oldenbourg Verlag, München.
- Obst, U.; Holzappel-Pschorn, A.; Weßler, A. & Wiegand-Rosinus, M. (1995): *Enzymatische Tests für die Wasseranalytik*. Oldenbourg Verlag, München. 2. Auflage.
- OECD [Organisation for Economic Cooperation and Development] (1981): Test Guideline 303A/21.
- Ogata, G. & Bower, C.A. (1965): Significance of biological sulfate reduction in soil salinity. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29: 23-25.
- Ogram, A.; Sun, W.; Brockman, F.J. & Fredrickson, J.K. (1995): Isolation and Characterization of RNA from low-biomass deep-subsurface sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(2): 763-768.
- Okubo, T. & Matsumoto, J. (1979): Effect of infiltration rate on biological clogging and water quality changes during artificial recharge. *Water Resources Research* 15(6): 1536-1542.
- Okubo, T. & Matsumoto, J. (1983): Biological clogging of sand and changes of organic constituents during artificial recharge. *Wat. Res.* 17(7): 813-821.
- Paul, E.A. & Clark, F.E. (1996): *Soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London. 2nd ed.
- Platzer, C. & Mauch, K. (1997): Soil clogging in vertical flow reed beds – mechanisms, parameters, consequences and solutions? *Water Science & Technology* 35(5): 175-181.

- Platzer, C. (1998): Entwicklung eines Bemessungsansatzes zur Stickstoffelimination in Pflanzenkläranlagen. Dissertation. TU Berlin.
- Preuß, G. & Hupfer, M. (1998): Ermittlung von Bakterienzahlen in aquatischen Sedimenten. 2-34. In: Remde, A. (Hrsg.): Mikrobiologische Charakterisierung aquatischer Sedimente: Methodensammlung. Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM). Oldenbourg Verlag, München.
- Purdy, K.J.; Embley, T.M.; Takii, S. & Nedwell, D.B. (1996): Rapid extraction of DNA and rRNA from sediments by a novel hydroxyapatite spin-column method. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(10): 3905-3907.
- Ragusa, S.R.; de Zoysa, D.S. & Rengasamy, P. (1994): The effect of microorganisms, salinity and turbidity on hydraulic conductivity of irrigation channel soil. *Irrigation Science* 15: 159-166.
- Ralph, D.E. & Stevenson, J.M. (1995): The role of bacteria in well clogging. *Wat. Res.* 29(1): 365-369.
- Rav-Acha, Ch.; Kumel, M.; Salamon, I. & Adin, A. (1995): The effect of chemical oxidants on effluent constituents for drip irrigation. *Wat. Res.* 29(1): 119-129.
- Rehbein, V. (1998): Nitrifikationsleistung belüfteter Biofilter zur kommunalen Abwasserreinigung. *Berichte aus der Wassergüte- und Abfallwirtschaft* 147. TU München.
- Rijnaarts, H.H.M.; Norde, W.; Bouwer, E.J.; Lyklema, J.; Zehnder, A.J.B. (1996a): Bacterial deposition in porous media related to the clean bed collision efficiency and to substratum blocking by attached cells. *Environmental Science and Technology* 30(10): 2869-2876.
- Rijnaarts, H.H.M.; Norde, W.; Bouwer, E.J.; Lyklema, J.; Zehnder, A.J.B. (1996b): Bacterial deposition in porous media: effects of cell-coating, substratum hydrophobicity and electrolyte concentration. *Environmental Science and Technology* 30(10): 2877-2883.
- Rinck-Pfeiffer, S.; Ragusa, S., Sztajnbock, P. & Vandvelde, T. (2000): Interrelationships between biological, chemical, and physical processes as an analog to clogging in aquifer storage and recovery (ASR) wells. *Wat. Res.* 34(7): 2110-2118.
- Rittmann, B.E. (1993): The significance of biofilm in porous media. *Water Resources Research* 29(7): 2195-2202.
- Romanowski, G.; Lorenz, M.G. & Wackernagel, W. (1991): Adsorption of plasmid DNA to mineral surfaces and protection against DNase I. *Appl. Environ. Microbiol.* 57(4): 1057-1061.
- Ross, N.; Dechênes, L.; Bureau, J.; Clément, B.; Comeau, Y. & Samson, R. (1998): Ecotoxicological assessment and effects of physicochemical factors on biofilm development in groundwater conditions. *Environmental Science and Technology* 32(8): 1105-1111.
- Ross, N.; Villemur, R.; Deschênes, L. & Samson, R. (2001): Clogging of a limestone fracture by stimulating groundwater microbes. *Wat. Res.* 35(8): 2029-2037.
- Sambrook, J.; Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (1989): *Molecular cloning: a laboratory manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 2nd ed.

- Sanchez de Lozada, D.; Vandevivere, P.; Baveye, P. & Zinder, S. (1994): Decrease of the hydraulic conductivity of sand columns by *Methanosarcina barkeri*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 10(3): 325-333.
- Saubier, D. (1991): Untersuchung über die Verwendung von Langsandsandfiltern zur Verbesserung der Wasserqualität bei der Regenwassernutzung. *Fortschr.-Ber. VDI Reihe 15*, Nr. 83. VDI-Verlag, Düsseldorf.
- Schäfer, A.; Ustohal, P.; Harms, H.; Staufer, F.; Dracos, T. & Zehnder, A.J.B. (1998): Transport of bacteria in unsaturated porous media. *Journal of Contaminant Hydrology* 33: 149-169.
- Schälchli, U. (1993): Die Kolmation von Fließgewässersohlen: Prozesse und Berechnungsgrundlagen. Dissertation Nr. 10293. ETH Zürich.
- Scheffer, F. & Schachtschabel, P. (1998): *Lehrbuch der Bodenkunde*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Schlegel, H.G. (1992): *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme Verlag, Stuttgart. 7. überarb. Auflage.
- Schnabel, S. (2002): Niederschlagsmengen am Retentionsbodenfilter Langenalb während des Betrachtungszeitraums 28.02.-22.05.2001. Schriftliche Mitteilung.
- Scholz, M. & Martin, R.J. (1997): Ecological Equilibrium on Biological Activated Carbon. *Wat. Res.* 31(12): 2959-2968.
- Schönborn, W. (1992): *Fließgewässerbiologie*. G. Fischer Verlag, Stuttgart.
- Schrumpf, G. (Hrsg.) (2002): *Gentechnische Methoden: eine Sammlung von Arbeitsanleitungen für das molekularbiologische Labor*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. 3. Auflage.
- Schwarz, M.; Fuchs, S.; Hahn, H.H. (2001a): Direct extraction of tRNA, rRNA and DNA by HPLC from soil filters to quantify microbial biomass and activity. Seite 37. *BIOspektrum Sonderausgabe* anlässlich der VAAM-Jahrestagung 2001 in Oldenburg. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Schwarz, M.; Fuchs, S.; Hahn, H. H. (2001b): Microbial biomass and activity in soil fed with different wastewaters. 235-242. In: Nehring, K.W.; Brauning, S.E. (Eds.): *Wetlands and Remediation II: Proceedings of the Second International Conference on Wetlands & Remediation*: Burlington, Vermont, September 5-6. Batelle Press, Columbia, Ohio, USA.
- Schwarz, M.; Fuchs, S.; Hahn, H. H. (2003): Mikrobielle Kolmation und Dekolmation in Bodenfiltern. *Wasser & Abfall* 10. 20-23.
- Seki, K.; Miyazaki T. & Nakano, M. (1996): Reduction of hydraulic conductivity due to microbial effects. *Journal of Japanese Society of Irrigation, Drainage, Reclamation Engineering* 181: 137-144.
- Seki, K.; Miyazaki T. & Nakano, M. (1998): Effects of microorganisms on hydraulic conductivity decrease in infiltration. *European Journal of Soil Science* 49(2): 231-236.

- Siegrist, R.L. & Boyle, W.C. (1987): Wastewater-induced soil clogging development. *Journal of Environmental Engineering* 113(3): 550-566.
- Sieker, F. (1998): On-site stormwater management as an alternative to conventional sewer systems: A new concept spreading in Germany. *Water Science & Technology* 38(10): 65-71.
- Stoeck, T.; Duineveld, G.; Kok, A. & Albers, B.P. (1998): Extraktion und Quantifizierung von Nukleinsäuren aus Sedimenten. 47-58. In: Remde, A. (Hrsg.): *Mikrobiologische Charakterisierung aquatischer Sedimente: Methodensammlung*. Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM). Oldenbourg Verlag, München.
- Stottmeister, R.-D. (1989): Untersuchungen von Belebtschlämmen zur Erfassung von Biomasse, Energieladungszustand und Populationszusammensetzung mit neuen gas- und flüssigchromatographischen Methoden. Dissertation. TU Braunschweig.
- Stryer, L. (1990): *Biochemie*. Spektrum der Wissenschaften Verlag, Heidelberg. 4. völlig neubearbeitete Auflage.
- Taylor, S.W.; & Jaffé, P.R. (1990): Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium. 3. Dispersivity and Model Verification. *Water Resources Research* 26(9): 2171-2180.
- Taylor, S.W.; Milly, P.C.D. & Jaffé, P.R. (1990): Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium. 2. Permeability. *Water Resources Research* 26(9): 2161-2169.
- Tollner, E.W.; Hill, D.T. & Busch, C.D. (1983): Manure effects on model lagoons treated with residues for bottom sealing. *Trans. A.S.A.E.* 26: 430-435.
- Tuschewitzki G.-J. & Grubert L. (1988): Rasterelektronenmikroskopische und kulturelle Untersuchungen zur mikrobiellen Besiedlung von Sandkörnern und Geröllen aus dem Grundwasserbereich. *Z. dt. Geol. Ges.* 139: 321-329.
- Van Beek, C.G.E.M. (1989): Rehabilitation of clogged discharge wells in the Netherlands. *Quarterly Journal of Engineering Geology* 22(1): 75-80.
- Van Cuyk, S.; Siegrist, R.; Logan, A.; Masson, S.; Fischer, E. & Figuero, L. (2001): Hydraulic and purification behaviors and their interactions during wastewater treatment in soil infiltration systems. *Wat. Res.* 35(4): 953-964.
- Van Riesen, S.G. (1975): Uferfiltratverminderung durch Selbstdichtung an Gewässersohlen. Dissertation. Universität Karlsruhe.
- Vandevivere P.; Baveye, P.; Sanchez de Lozoda, D. & DeLeo, P. (1995): Microbial clogging of saturated soils and aquifer materials: Evaluation of mathematical models. *Water Resources Research* 31(9): 2173-2180.
- Vandevivere, P. & Baveye, P. (1992a): Saturated hydraulic conductivity reduction caused by aerobic bacteria in sand columns. *Soil Science of America Journal* 56(1): 1-13.
- Vandevivere, P. & Baveye, P. (1992b): Effect of bacterial extracellular polymers on the saturated hydraulic conductivity of sand columns. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(5): 1690-1698.

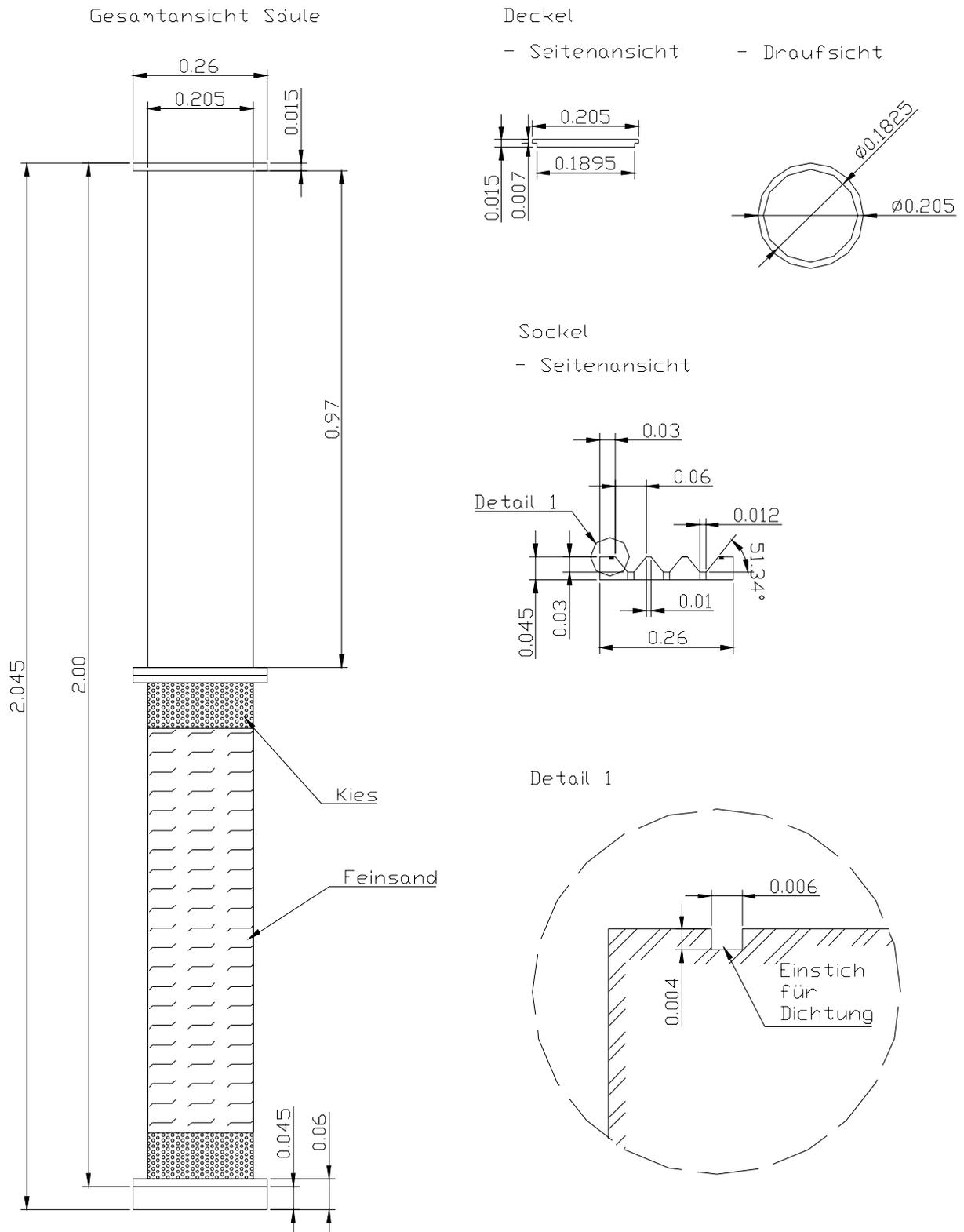
- Von Felde, K. & Kunst S. (1996): N- und CSB-Abbau in vertikal durchströmten Bodenfiltern. *gwf Wasser Abwasser* 137(8): 401-408.
- Weise, W. & Rheinheimer, G. (1978): Scanning electron microscopy and epifluorescence investigation of bacterial colonization of marine sand sediments. *Microbial Ecology* 4: 175-188.
- Wheeler Alm, E. & Stahl, D.A. (1996): Extraction of microbial DNA from aquatic sediments. 1-29. [Supplement 3, Section 1.1.5.] In: Akkermans, A.D.L.; Van Elsas, J.D. & De Bruijn, F.J. (Eds.): *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Winter, K.-J. & Goetz, D. (2001): Kolmation in Bewachsenen Bodenfiltern. *Wasser & Boden* 53(3): 19-22.
- Wittmann, L. (1980): Filtrations- und Transportphänomene in porösen Medien. *Veröffentlichungen des Instituts für Bodenmechanik und Felsmechanik* 86. Universität Karlsruhe.
- Wu, J.; Gui, S.; Stahl, P. & Zhang, R. (1997): Experimental study on the reduction of soil hydraulic conductivity by enhanced biomass growth. *Soil Science* 162(10): 741-748.
- Yamaguchi, T.; Moldrup, P.; Rolston, D.E.; Ito, S. & Teranishi, S. (1996): Nitrification in porous media during rapid, unsaturated water flow. *Wat. Res.* 30(3): 531-540.
- Yordanov, R.V.; Melvin, M.A.L.; Littlejohn, J. & Lamb, A.J. (1999): Effect of ozone pre-treatment of colored upland water on some biological parameters of sand filters. *Ozone Science & Engineering* 21(6): 615-628.
- Yu, Z. & Mohn, W.M. (1999): Killing two birds with one stone: simultaneous extraction of DNA and RNA from activated sludge biomass. *Can. J. Microbiol.* 45: 269-272.
- Zhang, X.C. & Norton, L.D. (2002): Effect of exchangeable Mg on saturated hydraulic conductivity, disaggregation and clay dispersion of disturbed soils. *Journal of Hydrology* 260: 194-205.
- Zhou, J.; Bruns, M.A. & Tiedje, J.M. (1996): DNA recovery from soils of diverse composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(2): 316-322.

Anhang

Anhangverzeichnis

Anhang 1: Bauplan 1 der verwendeten Plexiglassäulen.	142
Anhang 2: Bauplan 2 der verwendeten Plexiglassäulen.	143
Anhang 3: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der Säulenmitte).....	144
Anhang 4: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der linken Säulenperipherie, ca. 3 cm vom Säulenrand entfernt).	145
Anhang 5: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der rechten Säulenperipherie, ca. 3 cm vom Säulenrand entfernt).	146
Anhang 6: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den OECD-Filtern von Säulenversuch 2 (Probenahme in der Säulenmitte).	147
Anhang 7: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den RMW-Filtern von Säulenversuch 2 (Probenahme in der Säulenmitte).	148
Anhang 8: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse im Retentionsbodenfilter Langenalb zum Zeitpunkt der Totalkolmation.	149
Anhang 9: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse im Retentionsbodenfilter Langenalb zum Zeitpunkt der Dekolmation.	150
Anhang 10: Berechnung der kapillaren Steighöhe in den Sandsäulen.	151
Anhang 11: Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit aufgrund der Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C.	152

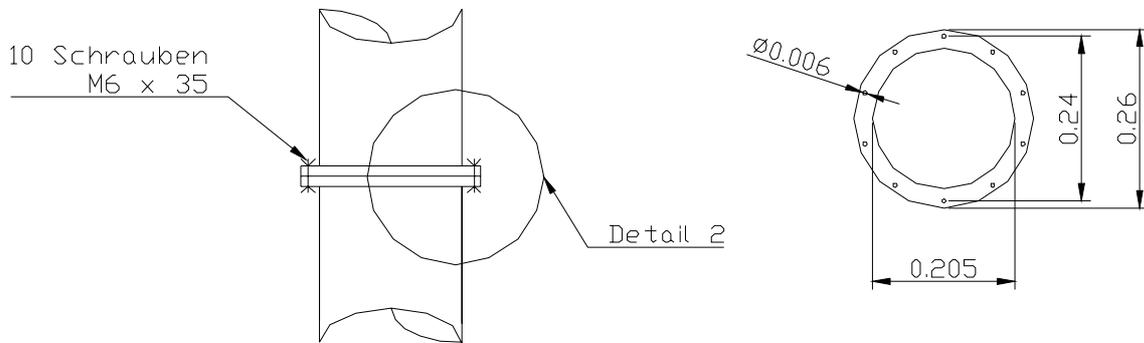
Anhang 1: Bauplan 1 der verwendeten Plexiglassäulen.



Anhang 2: Bauplan 2 der verwendeten Plexiglassäulen.

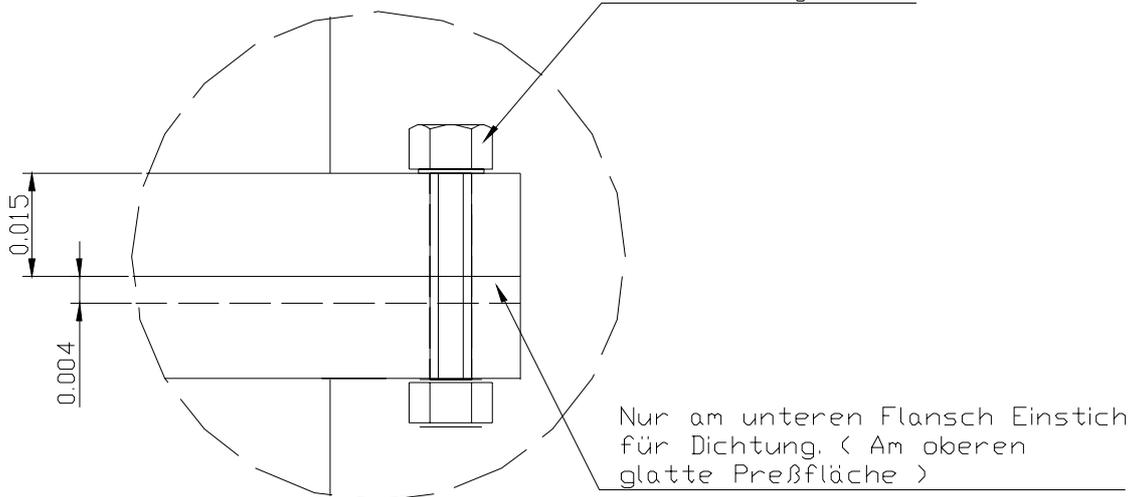
Übergang der 2 Segmente
Ansicht

Draufsicht auf Flansch



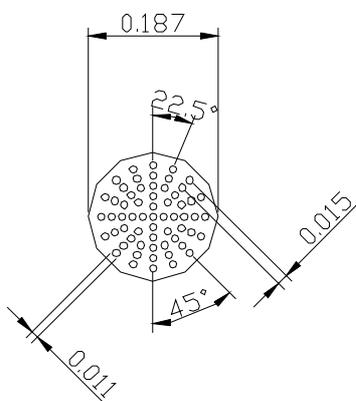
Detail 2

Schraube M6 x 35
mit Unterlegscheibe

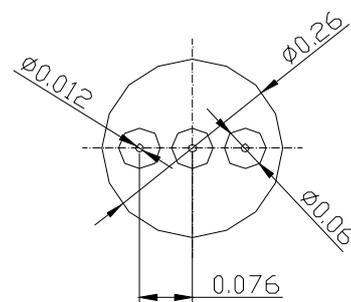


Lochscheibe
(liegt lose auf
Sockel auf)

- Draufsicht



Querschnitt Dichtung



Anhang 3: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der Säulenmitte).

Sandsäule_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
Kontrolle_00	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4
Kontrolle_02	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5
Kontrolle_04	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_06	0,0	0,0	0,1	0,2	0,3
Kontrolle_08	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2
Kontrolle_10	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
Kontrolle_20	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Kontrolle_40	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Kontrolle_60	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2
Kontrolle_80	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
KMW(-)_00	2,2	3,0	5,2	3,1	1,7
KMW(-)_02	0,5	1,0	1,5	1,3	1,1
KMW(-)_04	0,6	1,3	1,9	1,7	1,2
KMW(-)_06	0,5	0,8	1,3	1,1	1,2
KMW(-)_08	0,4	0,9	1,3	1,1	1,2
KMW(-)_10	0,4	0,9	1,3	1,0	1,3
KMW(-)_20	0,6	1,3	1,8	2,7	0,7
KMW(-)_40	0,2	0,2	0,4	0,9	0,4
KMW(-)_60	0,2	0,3	0,5	1,0	0,5
KMW(-)_80	0,3	0,8	1,1	2,0	0,6
KMW(+)_00	2,6	3,7	6,4	7,2	0,9
KMW(+)_02	1,6	1,7	3,3	8,3	0,4
KMW(+)_04	1,2	1,7	2,9	6,4	0,5
KMW(+)_06	1,3	1,9	3,2	6,7	0,5
KMW(+)_08	1,0	1,8	2,9	7,1	0,4
KMW(+)_10	1,3	2,4	3,7	7,1	0,5
KMW(+)_20	0,4	0,6	0,9	2,5	0,4
KMW(+)_40	0,2	0,5	0,7	1,4	0,5
KMW(+)_60	0,2	0,2	0,4	0,9	0,4
KMW(+)_80	0,2	0,4	0,6	1,1	0,5
OECD_00	n.b.	30,7	n.b.	57,6	n.b.
OECD_02	8,0	11,6	19,6	37,2	0,5
OECD_04	6,0	11,1	17,1	27,7	0,6
OECD_06	4,6	7,4	12,0	22,1	0,5
OECD_08	4,1	7,6	11,7	19,6	0,6
OECD_10	3,0	6,5	9,4	17,5	0,5
OECD_20	1,2	2,1	3,3	8,4	0,4
OECD_40	0,4	0,8	1,1	2,8	0,4
OECD_60	0,4	0,6	0,9	2,6	0,4
OECD_80	1,3	2,3	3,7	6,7	0,5

Anhang 4: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der linken Säulenperipherie, ca. 3 cm vom Säulenrand entfernt).

Sandsäule_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
Kontrolle_00	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4
Kontrolle_02	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5
Kontrolle_04	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_06	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_08	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
Kontrolle_10	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
Kontrolle_20	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
Kontrolle_40	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Kontrolle_60	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
Kontrolle_80	0,0	0,0	0,1	0,3	0,3
KMW(-)_00	2,2	3,7	5,9	3,6	1,6
KMW(-)_02	0,4	1,0	1,5	1,2	1,2
KMW(-)_04	0,5	1,1	1,6	1,3	1,3
KMW(-)_06	0,6	1,2	1,8	1,5	1,2
KMW(-)_08	0,4	0,8	1,2	1,2	1,0
KMW(-)_10	0,4	1,0	1,5	1,5	1,0
KMW(-)_20	0,5	1,1	1,6	2,3	0,7
KMW(-)_40	0,3	0,5	0,9	1,2	0,7
KMW(-)_60	0,3	0,5	0,8	1,3	0,6
KMW(-)_80	0,4	0,9	1,3	2,5	0,5
KMW(+)_00	1,4	3,3	4,7	5,7	0,8
KMW(+)_02	1,2	1,7	3,0	6,1	0,5
KMW(+)_04	1,4	2,3	3,6	7,0	0,5
KMW(+)_06	0,7	1,4	2,2	4,7	0,5
KMW(+)_08	1,1	1,9	2,9	6,2	0,5
KMW(+)_10	1,3	2,0	3,3	5,2	0,6
KMW(+)_20	0,3	0,7	1,0	1,6	0,6
KMW(+)_40	0,4	0,5	0,9	1,1	0,8
KMW(+)_60	0,3	0,5	0,8	1,1	0,7
KMW(+)_80	0,2	0,5	0,6	1,1	0,6
OECD_00	n.b.	5,8	n.b.	55,8	n.b.
OECD_02	7,3	12,6	19,9	33,5	0,6
OECD_04	6,2	11,4	17,6	30,3	0,6
OECD_06	4,7	10,1	14,8	23,6	0,6
OECD_08	4,1	7,2	11,4	21,9	0,5
OECD_10	4,4	7,8	12,2	21,0	0,6
OECD_20	1,8	2,7	4,5	11,1	0,4
OECD_40	0,4	1,2	1,6	4,0	0,4
OECD_60	0,5	1,1	1,6	3,0	0,5
OECD_80	2,0	3,8	5,8	9,2	0,6

Anhang 5: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den Filtern von Säulenversuch 1 (Probenahme in der rechten Säulenperipherie, ca. 3 cm vom Säulenrand entfernt).

Sandsäule_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
Kontrolle_00	0,1	0,1	0,1	0,2	0,8
Kontrolle_02	0,1	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_04	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_06	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
Kontrolle_08	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4
Kontrolle_10	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0
Kontrolle_20	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3
Kontrolle_40	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
Kontrolle_60	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3
Kontrolle_80	0,0	0,1	0,1	0,2	0,6
KMW(-)_00	2,3	4,1	6,4	4,1	1,6
KMW(-)_02	1,0	1,5	2,5	2,3	1,1
KMW(-)_04	0,4	0,9	1,4	1,2	1,1
KMW(-)_06	0,4	0,8	1,2	1,6	0,8
KMW(-)_08	0,2	0,5	0,7	0,8	0,9
KMW(-)_10	0,4	0,7	1,1	1,6	0,7
KMW(-)_20	0,8	1,2	2,0	2,5	0,8
KMW(-)_40	0,4	0,5	0,9	1,3	0,7
KMW(-)_60	0,3	0,6	0,9	1,3	0,7
KMW(-)_80	0,4	0,7	1,1	1,6	0,7
KMW(+)_00	2,7	4,4	7,1	7,0	1,0
KMW(+)_02	1,7	2,1	3,8	6,2	0,6
KMW(+)_04	1,3	2,2	3,4	7,9	0,4
KMW(+)_06	1,0	1,7	2,7	6,4	0,4
KMW(+)_08	1,2	1,8	3,0	6,1	0,5
KMW(+)_10	1,1	1,7	2,8	6,4	0,4
KMW(+)_20	0,8	1,4	2,2	4,1	0,5
KMW(+)_40	0,4	0,5	0,9	1,3	0,7
KMW(+)_60	0,3	0,4	0,7	1,0	0,7
KMW(+)_80	0,3	0,6	0,9	1,4	0,7
OECD_00	n.b.	18,8	n.b.	54,6	n.b.
OECD_02	8,3	11,3	19,6	31,8	0,6
OECD_04	7,1	10,4	17,4	31,5	0,6
OECD_06	5,8	10,6	16,4	27,6	0,6
OECD_08	5,8	9,3	15,1	25,3	0,6
OECD_10	3,5	7,0	10,5	22,7	0,5
OECD_20	1,7	2,6	4,3	9,0	0,5
OECD_40	0,5	1,0	1,5	2,8	0,5
OECD_60	0,5	0,9	1,4	2,8	0,5
OECD_80	1,5	2,5	4,0	6,5	0,6

Anhang 6: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den OECD-Filtern von Säulenversuch 2 (Probenahme in der Säulenmitte).

Sandsäule_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
OECD1_00	14,3	27,9	42,2	63,6	0,7
OECD1_02	10,9	24,6	35,5	58,4	0,6
OECD1_04	10,3	24,0	34,3	52,5	0,7
OECD1_06	7,7	21,3	28,9	44,8	0,6
OECD1_08	6,8	18,7	25,5	38,8	0,7
OECD1_10	6,1	17,0	23,1	37,4	0,6
OECD1_20	3,8	9,8	13,5	24,2	0,6
OECD1_40	1,7	5,9	7,6	11,9	0,6
OECD1_60	1,1	4,3	5,4	7,6	0,7
OECD1_80	2,1	6,6	8,8	9,8	0,9
OECD2_00	15,3	22,1	37,4	58,5	0,6
OECD2_02	13,3	8,5	21,8	29,8	0,7
OECD2_04	11,8	26,9	38,7	54,4	0,7
OECD2_06	6,6	16,6	23,2	33,4	0,7
OECD2_08	10,3	24,6	34,9	50,7	0,7
OECD2_10	7,2	20,1	27,3	35,8	0,8
OECD2_20	4,6	10,2	14,7	21,7	0,7
OECD2_40	1,8	6,1	8,0	11,0	0,7
OECD2_60	1,2	3,6	4,8	6,6	0,7
OECD2_80	1,4	3,1	4,5	6,3	0,7
OECD3_00	7,1	7,1	14,2	17,6	0,8
OECD3_02	5,2	12,2	17,4	17,0	1,0
OECD3_04	6,3	9,4	15,7	22,0	0,7
OECD3_06	4,2	10,4	14,6	18,8	0,8
OECD3_08	3,6	6,9	10,4	17,4	0,6
OECD3_10	2,0	4,8	6,9	10,4	0,7
OECD3_20	1,0	2,7	3,7	6,2	0,6
OECD3_40	0,5	1,5	2,0	3,6	0,6
OECD3_60	0,4	1,2	1,6	2,6	0,6
OECD3_80	1,1	2,3	3,5	4,5	0,8
OECD4_00	4,2	8,4	12,7	20,7	0,6
OECD4_02	3,9	9,3	13,2	17,9	0,7
OECD4_04	3,7	6,5	10,2	10,7	1,0
OECD4_06	3,5	6,0	9,5	16,4	0,6
OECD4_08	2,6	5,4	8,0	11,6	0,7
OECD4_10	1,7	4,6	6,3	9,2	0,7
OECD4_20	0,9	2,5	3,3	5,7	0,6
OECD4_40	0,4	1,0	1,5	3,0	0,5
OECD4_60	0,4	0,8	1,2	2,4	0,5
OECD4_80	1,7	3,5	5,1	6,4	0,8

Anhang 7: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse in den RMW-Filtern von Säulenversuch 2 (Probenahme in der Säulenmitte).

Sandsäule_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
RMW1_00	7,6	35,3	42,9	26,1	1,6
RMW1_02	0,9	4,4	5,2	4,9	1,1
RMW1_04	0,5	2,0	2,5	2,9	0,9
RMW1_06	0,4	1,6	2,0	2,3	0,9
RMW1_08	0,4	1,3	1,8	2,1	0,8
RMW1_10	0,3	1,0	1,3	1,8	0,7
RMW1_20	0,2	0,9	1,1	1,4	0,7
RMW1_40	0,1	0,5	0,6	0,9	0,7
RMW1_60	0,1	0,4	0,5	0,7	0,8
RMW1_80	0,2	0,6	0,7	1,1	0,7
RMW2_00	19,8	29,6	49,4	37,8	1,3
RMW2_02	0,7	2,9	3,5	4,6	0,8
RMW2_04	0,4	1,7	2,1	2,8	0,8
RMW2_06	0,4	1,2	1,6	2,4	0,7
RMW2_08	0,3	1,2	1,5	1,8	0,8
RMW2_10	0,3	1,1	1,4	1,9	0,7
RMW2_20	0,2	0,9	1,1	1,4	0,8
RMW2_40	0,1	0,4	0,5	0,8	0,6
RMW2_60	0,1	0,4	0,5	0,6	0,8
RMW2_80	0,2	0,6	0,8	1,4	0,6
RMW3_00	1,0	5,1	6,1	8,3	0,7
RMW3_02	0,4	1,2	1,5	2,3	0,7
RMW3_04	0,2	0,7	0,9	1,4	0,7
RMW3_06	0,1	0,5	0,6	1,2	0,5
RMW3_08	0,1	0,4	0,5	1,1	0,5
RMW3_10	0,2	0,4	0,6	0,9	0,7
RMW3_20	0,1	0,3	0,4	0,8	0,5
RMW3_40	0,1	0,2	0,3	0,5	0,5
RMW3_60	0,1	0,2	0,2	0,5	0,5
RMW3_80	0,0	0,2	0,3	0,4	0,6
RMW4_00	1,3	4,8	6,0	8,8	0,7
RMW4_02	0,4	0,9	1,3	2,1	0,6
RMW4_04	0,3	0,6	0,9	1,3	0,7
RMW4_06	0,2	0,5	0,7	1,3	0,5
RMW4_08	0,1	0,3	0,5	0,9	0,5
RMW4_10	0,1	0,4	0,5	0,9	0,6
RMW4_20	0,1	0,3	0,4	0,6	0,6
RMW4_40	0,0	0,2	0,3	0,5	0,6
RMW4_60	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7
RMW4_80	0,1	0,2	0,3	0,7	0,4

Anhang 8: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse im Retentionsbodenfilter Langelalb zum Zeitpunkt der Totalkolmation.

Probenahme_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
Zulauf_00	20,7	22,7	43,4	148,5	0,3
Zulauf_02	12,1	33,6	45,8	67,4	0,7
Zulauf_04	14,0	24,2	38,2	50,4	0,8
Zulauf_06	8,8	21,3	30,1	41,8	0,7
Zulauf_08	2,6	12,5	15,0	28,7	0,5
Zulauf_10	2,3	11,2	13,6	24,8	0,5
Zulauf_20	1,6	4,9	6,5	13,6	0,5
Zulauf_40	0,8	3,0	3,8	8,7	0,4
Zulauf_60	0,9	3,0	3,9	8,7	0,5
Mitte_00	25,6	24,7	50,3	171,0	0,3
Mitte_02	37,3	50,3	87,6	119,8	0,7
Mitte_04	14,5	24,5	39,0	62,3	0,6
Mitte_06	4,3	14,6	18,9	38,8	0,5
Mitte_08	2,2	8,8	11,0	24,0	0,5
Mitte_10	1,1	5,8	6,9	16,6	0,4
Mitte_20	1,5	4,3	5,8	13,0	0,4
Mitte_40	0,8	2,1	2,9	7,2	0,4
Mitte_60	0,6	1,6	2,2	5,0	0,5
Ablauf_00	38,4	52,9	91,3	183,2	0,5
Ablauf_02	53,3	95,2	148,5	175,1	0,8
Ablauf_04	22,4	31,1	53,5	76,7	0,7
Ablauf_06	8,7	24,7	33,5	52,5	0,6
Ablauf_08	6,2	19,4	25,6	39,2	0,7
Ablauf_10	3,6	15,0	18,6	34,3	0,5
Ablauf_20	2,1	6,8	9,0	18,8	0,5
Ablauf_40	1,1	2,9	3,9	8,8	0,4
Ablauf_60	0,8	1,7	2,4	5,9	0,4

Anhang 9: Nucleinsäurekonzentrationen und RNA/DNA-Verhältnisse im Retentionsbodenfilter Langelalb zum Zeitpunkt der Dekolmation.

Probenahme_ Tiefenstufe [cm]	Konzentration [$\mu\text{g/g TG}$]				RNA/DNA- Verhältnis []
	tRNA	rRNA	RNA	DNA	
Zulauf_00	13,2	19,5	32,6	44,8	0,7
Zulauf_02	12,4	17,9	30,3	48,7	0,6
Zulauf_04	15,5	22,0	37,5	47,7	0,8
Zulauf_06	11,6	24,5	36,1	49,3	0,7
Zulauf_08	11,7	13,2	24,9	47,2	0,5
Zulauf_10	34,0	24,7	58,6	65,4	0,9
Zulauf_20	3,3	7,4	10,7	23,4	0,5
Zulauf_40	1,1	3,7	4,8	11,5	0,4
Zulauf_60	0,7	1,6	2,3	6,8	0,3
Mitte_00	0,0	47,8	47,8	81,0	0,6
Mitte_02	3,1	9,9	13,0	34,1	0,4
Mitte_04	2,1	6,3	8,5	21,6	0,4
Mitte_06	10,3	13,3	23,6	36,9	0,6
Mitte_08	1,1	4,1	5,2	14,3	0,4
Mitte_10	10,4	14,6	25,0	38,4	0,7
Mitte_20	6,6	8,9	15,4	28,2	0,5
Mitte_40	1,0	4,0	5,0	17,0	0,3
Mitte_60	0,5	1,0	1,5	5,1	0,3
Ablauf_00	7,7	8,5	16,2	70,1	0,2
Ablauf_02	13,7	15,0	28,8	99,5	0,3
Ablauf_04	1,3	4,5	5,9	16,0	0,4
Ablauf_06	1,6	4,8	6,4	18,5	0,3
Ablauf_08	7,4	5,8	13,1	27,9	0,5
Ablauf_10	11,8	9,0	20,8	33,0	0,6
Ablauf_20	7,5	11,7	19,1	47,3	0,4
Ablauf_40	1,0	2,9	3,9	9,8	0,4
Ablauf_60	0,8	1,9	2,7	8,0	0,3

Anhang 10: Berechnung der kapillaren Steighöhe in den Sandsäulen.

Aus der Gleichgewichtsbedingung zwischen kapillarer Saugspannung und der Gewichtskraft ergibt sich durch Umformung die kapillare Steighöhe z :

$$z = \frac{2 \cdot \sigma \cdot \cos \alpha}{g \cdot \rho \cdot r}$$

z : Kapillare Steighöhe

σ : Oberflächenspannung, bei Wasser $72,7 \cdot 10^{-3} \text{ N} \cdot \text{m}^{-1}$

$\cos \alpha$: Benetzungswinkel (bei vollständiger Benetzung $\cos \alpha = 1$)

g : Erdbeschleunigung $9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$

ρ : Dichte des Wassers ($\rho_{20^\circ\text{C}} = 998 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$)

r : Mittlerer Kapillarradius der Bodenporen, für Grobporen von Sanden etwa $0,1 \text{ mm}$

$$z = \frac{2 \cdot 72,7 \cdot 10^{-3} \text{ N} \cdot \text{m}^{-1} \cdot 1}{9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2} \cdot 998 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot 1 \cdot 10^{-4} \text{ m}} = 0,149 \text{ m} = 14,9 \text{ cm}$$

\Rightarrow Die gemessene und die berechnete kapillare Steighöhe des Wassers stimmen sehr gut überein.

Anhang 11: Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit aufgrund der Temperaturabsenkung von 20 °C auf 4 °C.

Gemessener mittlerer Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit bei den beiden ständig beaufschlagten OECD-Filtern aus Säulenversuch 2 (ausgedrückt als Zeit, die benötigt wird, bis 5,0 l aus den Sandsäulen abgelaufen sind):

27. Beaufschlagung (20 °C): 16 min 05 s (= 965 s)

28. Beaufschlagung (4 °C): 22 min 30 s (= 1350 s)

$$\Delta t_{20^{\circ}\text{C} \rightarrow 4^{\circ}\text{C}} = 1 - \left(\frac{965 \text{ s}}{1350 \text{ s}} \right) = 0,285$$

⇒ Prozentualer Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit bei den OECD-Filtern um 29 %.

Theoretisch zu erwartender Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit aufgrund der verringerten Fluidität des Abwassers (siehe Glg. 2; Werte zur Dichte und Viskosität des Wassers aus GUJER 1999):

$$f_{20^{\circ}\text{C}} = \left(\frac{\rho_{20^{\circ}\text{C}} \cdot g}{\eta_{20^{\circ}\text{C}}} \right) = \left(\frac{998 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}}{1,01 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}} \right) = 9693 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$f_{4^{\circ}\text{C}} = \left(\frac{\rho_{4^{\circ}\text{C}} \cdot g}{\eta_{4^{\circ}\text{C}}} \right) = \left(\frac{1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}}{1,57 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}} \right) = 6248 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\Delta f_{20^{\circ}\text{C} \rightarrow 4^{\circ}\text{C}} = 1 - \left(\frac{6248 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}}{9693 \cdot 10^6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-4} \cdot \text{s}^{-1}} \right) = 0,355$$

⇒ Prozentualer Rückgang der Fluidität um 36 %.

Die Differenz zwischen dem theoretischen und dem gemessenen Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit beträgt bei den OECD-Filtern 7 %. Bei den Ablaufmessungen konnte die Temperatur aufgrund der geöffneten Klimakammertüre nicht exakt eingehalten werden. Dies führte insbesondere bei 4 °C zu einer Temperaturabweichung von einigen Grad Celsius. Aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit der Fluidität kann die Differenz zwischen gemessenem und theoretischem Rückgang der hydraulischen Leitfähigkeit auf die Temperaturabweichung während den Beaufschlagungen zurückgeführt werden.

Bisher aus der Arbeit am Institut erschienen

- [1] KARPE, H.-J.: Zur Wirtschaftlichkeit bei der Planung von Fernwasserversorgungen. Karlsruhe 1969 (Eigenverlag des Verfassers).
- [2] PÖPEL, J.: Schwankungen von Kläranlagenabläufen und ihre Folgen für Grenzwerte und Gewässerschutz. GWF, Schriftenreihe Wasser - Abwasser, 16. Oldenbourg Verlag, München 1971.
- [3] MEIER, P.M.: Möglichkeiten zur technischen und wirtschaftlichen Optimierung von Zweckverbänden. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 4. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1972.
- [4] ABENDT, R.; AHRENS, W.; CEMBROWICZ, R.G.; HAHN, H.H.; KNOBLAUCH, A.; ORTH, H.: Operations Research und seine Anwendung in der Siedlungswasserwirtschaft I. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 5. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1972.
- [5] NOLL, K.: Untersuchungen zur Grundwasserentnahme aus den pleistozänen Sedimenten des Rheintalgrabens im Rhein-Neckar-Raum. Karlsruhe 1972 (Eigenverlag des Verfassers).
- [6] NEIS, U.: Experimentelle Bestimmung der Stabilität anorganischer Schwebstoffe in natürlichen Gewässern. Karlsruhe 1974 (Eigenverlag des Verfassers).
- [7] AHRENS, W.: Optimierungsverfahren zur Lösung nichtlinearer Investitionsprobleme - angewandt auf das Problem der Planung regionaler Abwasserentsorgungssysteme. Quantitative Methoden der Unternehmensplanung, Bd. 4. Verlag Meisenheim/Glahn 1975.
- [8] ORTH, H.: Verfahren zur Planung kostenminimaler regionaler Abwasserentsorgungssysteme. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 9. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1975.
- [9] MOSEBACH, K.G.: Phosphatrücklösung bei der Ausfällung von Simultanschlämmen. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 11. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1975.
- [10] AHRENS, W.; CEMBROWICZ, R.G.; DEHNERT, G.; HEISS, H.-J.; HAHN, H.H.; HENSELEIT, H.J.; ORTH, H.; SENG, H.J.: Operations Research und seine Anwendung in der Siedlungswasserwirtschaft II. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 12. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1976.
- [11] DEHNERT, G.: Regionale Planung der Standorte für Abwasserbehandlungsanlagen mit Hilfe graphentheoretischer Algorithmen. Abfallwirtschaft in Forschung und Praxis, Bd. 1. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1976.
- [12] HAHN, H.H. (Hrsg.): Umweltschutz im Bereich des Wasserbaus. Wasser und Abwasser in Forschung und Praxis, Bd. 14. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1976.
- [13] JØRGENSEN, S.E.: Reinigung häuslicher Abwässer durch Kombination eines chemischen Fällungs- und Ionenaustauschverfahrens. Karlsruhe 1976 (Eigenverlags des Verfassers).

- [14] RUF, J.: Gewässergütesimulation unter Berücksichtigung meteorologischer Einflüsse. Prognostisches Modell Neckar, Bericht 16. Dornier System. Friedrichshafen 1977.
- [15] AHRENS, W.; DEHNERT, G.; DURST, F.; GERBER, J.; HAHN, H.H.; PAESSENS, H.; WEUTHEN, H.K.: Tourenplanung bei der Abfallbeseitigung. Abfallwirtschaft in Forschung und Praxis, Bd. 3. Erich Schmidt Verlag, Bielefeld 1977.
- [16] KLUTE, R.: Adsorption von Polymeren an Silikaoberflächen bei unterschiedlichen Strömungsbedingungen. Karlsruhe 1977 (Eigenverlag des Verfassers).
- [17] KNOBLAUCH, A.: Mathematische Simulation des Phosphorkreislaufs in einem gestauten Gewässer. GWF, Schriftenreihe Wasser- Abwasser, Bd. 17. Oldenbourg Verlag, München 1978.
- [18] ABENDT, R.: Aussagefähigkeit von Sauerstoffhaushaltsrechnungen. Hochschulsammlung Ingenieurwissenschaft, Wasserwirtschaft, Bd. 1. Hochschulverlag, Stuttgart 1978.
- [19] SENG, H.J.: Systematische Beurteilung der Umweltverträglichkeit bei Abfalldeponiestandorten. Hochschulsammlung Ingenieurwissenschaft, Abfallwirtschaft, Bd. 2. Hochschulverlag, Stuttgart 1979.
- [20] INSTITUT FÜR SIEDLUNGSWASSERWIRTSCHAFT: Fortschritte bei der Anwendung von Flockungsverfahren in der Abwassertechnologie. 2. Verfahrenstechnisches Seminar. Karlsruhe 1979 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [21] HAHN, H.H. (Hrsg.): Von der Abfallbeseitigung zur Abfallwirtschaft, Fachkolloquium zu Ehren von Prof. Dr.-Ing. Hans Straub, Karlsruhe 1980 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [22] INSTITUT FÜR SIEDLUNGSWASSERWIRTSCHAFT: Planung und Organisation von Einzelkläranlagen und Gruppenkläranlagen, 6. Planungstechnisches Seminar. Karlsruhe 1980 (Eigenverlag des Instituts).
- [23] KÄSER, F.: Transport suspendierter Feststoffe in Fließgewässern. Karlsruhe 1981 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [24] EPPLER, B.: Aggregation von Mikroorganismen. Karlsruhe 1981 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [25] INSTITUT FÜR SIEDLUNGSWASSERWIRTSCHAFT: Fortschritte bei der Anwendung des Flotationsverfahrens in der kommunalen Abwasserreinigung, 3. Verfahrenstechnisches Seminar. Karlsruhe 1981 (Eigenverlag des Instituts).
- [26] PAESSENS, H.: Tourenplanung bei der regionalen Hausmüllentsorgung. Karlsruhe 1981 (Eigenverlag des Instituts).
- [27] KIEFHABER, K.P.: Versuchsanlagen zur Entspannungsflotation von Abwasser - Vergleich von Versuchsergebnissen. Karlsruhe 1982 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [28] HAHN, H.H.; SENG, H.J. (Hrsg.): Wirtschaftlichkeit in der Abfallwirtschaft. Karlsruhe 1982 (Eigenverlag des Instituts).

- [29] HAHN, H.H.; PAESSENS, H. (Hrsg.): Tourenplanung in der Abfallwirtschaft II. Karlsruhe 1982 (Eigenverlag des Instituts).
- [30] DICKGIESSER, G.: Betriebssichere und wirtschaftliche Klärschlamm Entsorgung. Karlsruhe 1982 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [31] HAHN, H.H. (Hrsg.): Wasserversorgung und Abwasserbehandlung in Entwicklungsländern. Karlsruhe 1982 (Eigenverlag des Instituts).
- [32] HAHN, H.H. (Hrsg.): Schlämme aus der Abwasserfällung/ Flockung. Karlsruhe 1983 (Eigenverlag des Instituts).
- [33] v. FALKENHAUSEN, K.: Planung eines Entsorgungssystems für die Klärschlammbehandlung. Karlsruhe 1983 (Eigenverlag des Instituts).
- [34] HEISS, H.-J.: Stabilität kostenminimaler Lösungen bei der Planung von Abwasserentsorgungssystemen. Karlsruhe 1983 (Eigenverlag des Instituts).
- [35] HAHN, H.H. (Hrsg.): Planung im Gewässerschutz unter besonderer Berücksichtigung von Flußgebietsmodellen. Karlsruhe 1984 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [36] BANTZ, I.: Ein Rechenverfahren zur Darstellung der Auswirkungen von Stoßbelastungen auf die Qualität von Fließgewässern. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [37] LÖHR, J.: Einfluß der Tiefendurchmischung auf die Entwicklung von Phytoplankton - dargestellt am Beispiel des Maines. Karlsruhe 1984 (Eigenverlag des Instituts).
- [38] TROUBOUNIS, G.: Strukturorientierte Simulation des Kohlenstoff, Stickstoff-, Phosphor- und Sauerstoffhaushaltes flacher Gewässer. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [39] DITTRICH, A.: Transport und Sedimentation organischer Stoffe in Abwasserteichen. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [40] GROHMANN, A.; HAHN, H.H.; KLUTE, R. (Hrsg.): Chemical Water and Wastewater Treatment. Practical Experience and New Concepts. Proceedings from the 1st Gothenburg Symposium, 1984. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1985 (vergriffen).
- [41] HAHN, H.H.; NEIS, U. (Hrsg.): Belastungsschwankungen auf Kläranlagen: Auswirkungen und Möglichkeiten zur Reduktion, insbesondere durch Chemikalieneinsatz. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts).
- [42] SCHMITT, T.G.: Der instationäre Kanalabfluß in der Schmutzfrachtmodellierung. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts, 2. Auflage).
- [43] IOSSIFIDIS, V.: Die Rolle der Ablagerungen bei der Schmutzfrachtberechnung in Kanalisationsnetzen. Karlsruhe 1985 (Eigenverlag des Instituts, 2. Auflage).
- [44] SCHMITT, T.G.; HAHN, H.H. (Hrsg.): Schmutzfrachtberechnung für Kanalisationsnetze. Karlsruhe 1986 (Eigenverlag des Instituts, 2. Auflage).
- [45] DÖLL, B.: Die Kompensation der Oberflächenladung kolloidaler Silika-Suspensionen durch die Adsorption kationischer Polymere in turbulent durchströmten Rohrreaktoren. Karlsruhe 1986 (Eigenverlag des Instituts).

- [46] MERTSCH, V.: Sedimentation, Eindickung und Entwässerung von Fällungs-/Flockungsschlämmen. Karlsruhe 1987 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [47] KORDES, B.: Berechnung der Energiebilanz von Kläranlagen unter Berücksichtigung zeitlicher Schwankungen. Karlsruhe 1987 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [48] GEPPERT, B.: Tourenplanung bei der innenstädtischen Hausmüllentsorgung. Karlsruhe 1987 (Eigenverlag des Instituts).
- [49] GUTEKUNST, B.: Sielhautuntersuchungen zur Einkreisung schwermetallhaltiger Einleitungen. Karlsruhe 1988 (Eigenverlag des Instituts).
- [50] HAHN, H.H.; KLUTE, R.; BALMER, P. (Hrsg.): Recycling in Chemical Water and Wastewater Treatment. Proceedings from the 2nd international Gothenburg Symposium. Karlsruhe 1986 (Eigenverlag des Instituts).
- [51] HAHN, H.H.; PFEIFER, R.; (Hrsg.): Abwasserreinigung in Entwicklungsländern mit besonderer Berücksichtigung der Industrie. Karlsruhe 1987 (Eigenverlags des Instituts).
- [52] HOFFMANN, E.: Strömungsstrukturen in Flockungsreaktoren. (in Vorbereitung).
- [53] HAHN, H.H.; PFEIFER, R. (Hrsg.): Fällung/Flockung - Erfahrungen aus Labor und Praxis. Karlsruhe 1990 (Eigenverlag des Instituts).
- [54] KRÜGER, E.M.: Stabilität mineralischer Basisabdichtungen von Hausmülldeponien bezüglich des Ausbreitungsverhaltens anorganischer Schadstoffe. Karlsruhe 1989 (Eigenverlag des Instituts).
- [55] SISKOS, D.: Kläranlagenauslegung für stehende Vorfluter. Karlsruhe 1989 (Eigenverlag des Instituts).
- [56] HOU, R.: Kontrollstrategien für Fällung und Flockung auf Kläranlagen mit einem Vorhersagemodell der Zu- und Ablauffracht. Karlsruhe 1990 (Eigenverlag des Instituts).
- [57] XANTHOPOULOS, C.: Methode für die Entwicklung von Modellregenspektren für die Schmutzfrachtberechnung. Karlsruhe 1990 (Eigenverlag des Instituts).
- [58] HAHN, H.H.; XANTHOPOULOS, C. (Hrsg.): Schadstoffe im Regenabfluß aus städtischen Gebieten - Präsentation eines BMFT - Verbundprojektes. Karlsruhe 1990 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [59] LEE, C.-M.: Tone zur physikalisch-chemischen Abwasserreinigung. Karlsruhe 1990 (Eigenverlag des Instituts).
- [60] HARTMANN, K.-H.: Anaerobe Behandlung von Sickerwässern aus Hausmülldeponien. Karlsruhe 1991 (Eigenverlag des Instituts).
- [61] HAHN, H.H.; PFEIFER, R. (Hrsg.): Vor-, Simultan- oder Nachfällung? - Entscheidungskriterien für Planung, Entwurf und Betrieb. Karlsruhe 1991 (Eigenverlag des Instituts).
- [62] LEONHARD, D.: Eindickung und Entwässerung als Konsolidierungsvorgang. Karlsruhe 1992 (Eigenverlag des Instituts).

- [63] WEISSER, M.: Untersuchungen zur Belastung kommunaler Klärschlämme durch organische Schadstoffe - Abschlußbericht zum BMFT-Forschungsvorhaben 02 WS 464/8. Karlsruhe 1992 (Eigenverlag des Instituts, 2. Auflage).
- [64] HAHN, H.H.; XANTHOPOULOS, C. (Hrsg.): Schadstoffe im Regenabfluß II. Präsentation des BMFT-Verbundprojektes. Karlsruhe 1992 (Eigenverlag des Instituts, 2. Auflage).
- [65] HAHN, H.H.; PFEIFER, R. (Hrsg.): Sanierung von Kläranlagen. Karlsruhe 1992 (Eigenverlag des Instituts).
- [66] DÜRETH-JONECK, S.: Entwicklung eines naturnahen, praxisorientierten. Mobilitätstests für Schwermetalle und Arsen in kontaminierten Böden. Karlsruhe 1993 (Eigenverlag des Instituts).
- [67] HAHN, H.H.; TRAUTH, R. (Hrsg.): Fällungs-/Flockungschemikalien. Anforderungen, Angebot, Auswahl und Qualität. Karlsruhe 1993 (Eigenverlag des Instituts, vergriffen).
- [68] HAHN, H.H.; TRAUTH, R. (Hrsg.): Wechselwirkungen der biologischen und chemischen Phosphorelimination. Karlsruhe 1993 (Eigenverlag des Instituts).
- [69] LANGER, S.J.: Struktur und Entwässerungsverhalten polymergeflockter Klärschlämme. Karlsruhe 1994 (Eigenverlag des Instituts).
- [70] MÜLLER, N.: Gewässergütemodellierung von Fließgewässern unter Berücksichtigung qualitativer, quantitativer, flächenhafter und sozioökonomischer Informationen. Karlsruhe 1994 (Eigenverlag des Instituts).
- [71] HAHN; H.H.; TRAUTH, R. (Hrsg.): Klärschlamm - Ressource oder kostenintensiver Abfall? Karlsruhe 1994 (Eigenverlag des Instituts).
- [72] MIHOPULOS, J.: Wechselwirkung Flockenbildung - Flockenabtrennung unter Berücksichtigung der Durchströmungsmuster in Sedimentations- und Flotationsbecken. München 1995 (Oldenbourg Verlag).
- [73] XANTHOPOULOS, C.; HAHN, H.H. (Hrsg.): Schadstoffe im Regenabfluß III. München 1995 (Oldenbourg Verlag).
- [74] HAHN, H.H.; TRAUTH, R. (Hrsg.): Wirtschaftlichkeitsfragen in der Abwasserreinigung. München 1995 (Oldenbourg Verlag).
- [75] SCHMID, K.: Tensidunterstützte und biologische Sanierung der Feinkornfraktion aus der Bodenwäsche bei kohlenwasserstoffhaltigen Altlasten. München 1996 (Oldenbourg Verlag).
- [76] HÖLZER, D.: EDV-gestützte Planung von Belebtschlammanlagen unter Berücksichtigung betrieblicher Aspekte. München 1996 (Oldenbourg Verlag).
- [77] HARITOPULOU, T.: Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe und Schwermetalle in urbanen Entwässerungssystemen - Aufkommen, Transport und Verbleib. München 1996 (Oldenbourg Verlag).
- [78] HAHN, H.H.; TRAUTH, R.: Wechselwirkung zwischen Einzugsgebiet und Kläranlage. München 1996 (Oldenbourg Verlag).

- [79] FUCHS, S.: Wasserwirtschaftliche Konzepte und ihre Bedeutung für die Ökologie kleiner Fließgewässer - Aufgezeigt am Beispiel der Mischwasserbehandlung. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [80] BEUDERT, G.: Gewässerbelastung und Stoffaustrag von befestigten Flächen in einem kleinen ländlichen Einzugsgebiet. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [81] WITT, P.CH.: Untersuchungen und Modellierungen der biologischen Phosphatelimination in Kläranlagen. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [82] PSCHERA, S.: Abwasserbehandlung mit Ozon: Klassifizierung von Abwasser zur optimierten Verfahrensgestaltung in der Kreislaufwirtschaft. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [83] TRAUTH, R.: Lokalisierung von Grundwasserschadstoffquellen in urbanen Räumen. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [84] JAKOBS, J.: Quantifizierung der Wirkung von Kanalnetzbewirtschaftungsmaßnahmen mit Hilfe des detailliert hydrodynamischen Schmutzfrachtmodells HAuSS. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [85] XANTHOPOULOS, C.: Stoffströme in der Urbanhydrologie Teil 1 – Oberfläche. München 1998 (Oldenbourg-Verlag).
- [86] SCHMITT, T.G.: Stoffströme in der Urbanhydrologie Teil 2 - Kanalisation. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [87] SEYFRIED, C.F.: Stoffströme in der Urbanhydrologie Teil 3 – Kläranlage. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [88] HAHN, H.H.; SCHÄFER, M. (Hrsg.): Stoffströme in der Urbanhydrologie Teil 4 - Emission/Immission. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [89] HAHN, H.H.; WILHELMI, M.: Abwasserreinigung - Reststoffproblem oder Sekundärrohstoffquelle. München 1997 (Oldenbourg Verlag).
- [90] SCHULZ, ST.: Der Kanal als Reaktor: Neubildung von AOX durch Wirkstoffe in Reinigungsmitteln. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [91] WOLTER, CH.: Steuer- und Regelkonzepte der Vorklärung unter Einbeziehung der Vorfällung/Flockung und Schlammhydrolyse. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [92] PFEIFER, R.: Schmutzstoffrückhalt durch chemisch/physikalische Regenwasserbehandlung im Trennsystem. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [93] LIN, L.Q.: Entstabilisierung und Aggregation von Silika und Huminsäure mit Aluminiumsalzen in turbulenten Rohrströmungen. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [94] HAHN, H.H.; WILHELMI, M. (Hrsg.): Abwasserfällung- und Flockung. München 1998 (Oldenbourg Verlag).
- [95] HUPPERT, N.: Elimination von Ibuprofen und NBBS in kommunalen Kläranlagen analysiert mittels Festphasenmikroextraktion. München 1999 (Oldenbourg Verlag).

- [96] FUCHS, S.; HAHN, H.H. (Hrsg.): Schadstoffstoffe im Regenabfluß IV. Abschlußpräsentation des BMBF-Verbundprojektes NIEDERSCHLAG. München 1999 (Oldenbourg Verlag).
- [97] SCHÄFER, M.: Regionalisierte Stoffstrombilanzen in städtischen Einzugsgebieten - Möglichkeiten, Probleme und Schlußfolgerungen.
- [98] HAHN, H.H.; KRAUS, J. (Hrsg.): Technologische Aspekte der Wasser-, Abwasser- und Schlammbehandlung. Karlsruhe 1999 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [99] KISHI, R.T.: Einzugsgebietseigenschaften und Fließgewässergüte (Modellierung stofflicher Parameter mit Hilfe raumbezogener Daten). Karlsruhe 2000 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [100] NAUDASCHER, I.: Kompostierung menschlicher Ausscheidungen durch Verwendung biologischer Trockentoiletten - mit besonderer Berücksichtigung des Kleingartenbereichs. Karlsruhe 2001 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [101] ANDERS, G.: Der Einsatz von Scheibentauchkörpern zur Güllebehandlung mit dem Ziel der weitergehenden Nährstoffreduktion. Karlsruhe 2002 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [102] WITTLAND, C.: Angepasste Verfahren zur Industrieabwasserreinigung - Modell zur Verfahrensauswahl. Karlsruhe 2000 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [103] HAHN, H.H.; KRAUS, J. (Hrsg.): Projektmanagement, Maschinentechnik und gesetzliche Vorgaben. Karlsruhe 2000 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [104] SCHMID-SCHMIEDER, V.: Vergleich der Leistungsfähigkeit von Biofilmverfahren bei Sanierungen bzw. Erweiterungen von kommunalen Kläranlagen. Karlsruhe 2001 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [105] HAHN, H.H.; KRAUS, J.: Geruchsemissionen. Karlsruhe 2001 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [106] ANTUSCH, E.: Lokalisierung organischer Schadstoffemissionen durch Sielhautuntersuchungen. Karlsruhe 2002 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [107] OBERACKER, F.E.: Verwendung und Entsorgung arsenhaltiger Wasserwerkschlämme. Karlsruhe 2002 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [108] HAHN, H.H.; KRAUS, J.: Bläh- und Schwimmschlamm. Karlsruhe 2002 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [109] HITZLER, A.: Beurteilung und Optimierung von Sandwaschanlagen auf Kläranlagen. Karlsruhe 2002 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [110] KLINGEL, M.: Prozess-Simulation in der Abwasser- und Abfallbehandlung. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).

- [111] SONG, Y.: Precipitation Chemistry of Calcium Phosphate for Phosphorous Recovery. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [112] KRAUS, J.: Herstellung von Leichtzuschlagstoffen aus Klärschlamm. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [113] ZHANG, P.: Herstellung und Charakterisierung und Wirksamkeit polymerer anorganischer Flockungsmittel. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [114] HAHN, H.H.; KRAUS, J.: Wertschöpfung durch Betriebsoptimierung. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [115] LUCAS, S.: Auftreten, Ursachen und Auswirkungen hoher Fremdwasserabflüsse – eine zeitliche und räumliche Analyse. Karlsruhe 2003 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).
- [116] SCHWARZ, M.: Mikrobielle Kolmation von abwasserdurchsickerten Bodenkörpern: Nucleinsäuren zum Nachweis von Biomasse und Bioaktivität. Karlsruhe 2004 (Universität Karlsruhe - Institutsverlag Siedlungswasserwirtschaft).

Bestellanschrift:

Universität Karlsruhe (TH)

Institut für Siedlungswasserwirtschaft

Forschungszentrum Umwelt

BIBLIOTHEK, Abteilung: Schriftenreihe

Adenauerring 20

D-76131 Karlsruhe

Tel. 0721/608 2457

Fax 0721/607151