

Ende des 19. Jhdt. wurde in Deutschland damit begonnen, öffentliche Kanalnetze zu bauen und das anfallende Abwasser zu klären. Heute sind 92% der Bevölkerung an das Abwassernetz angeschlossen. Ca. 11 000 Kläranlagen im gesamten Bundesgebiet reinigen das Abwasser, das öffentliche Abwassernetz wird auf eine Gesamtlänge von 400 000 km geschätzt. Die Abwasserkanäle sind demnach mittlerweile zu großen Teilen über hundert Jahre alt, an vielen Stellen des Netzes sind Leckagen deshalb nicht auszuschließen.

Diese Leckagen können durch Überalterung, durch schadhafte Anschlüsse und Verbindungen, aber auch durch Fehler bei der Verlegung, schlechtes Baumaterial oder Rohrbrüche aufgrund mechanischer Überlastung im Laufe der Zeit entstehen. Eine wesentliche Rolle spielen auch chemische und biochemische Korrosionsvorgänge (biogene Schwefelsäurekorrosion).

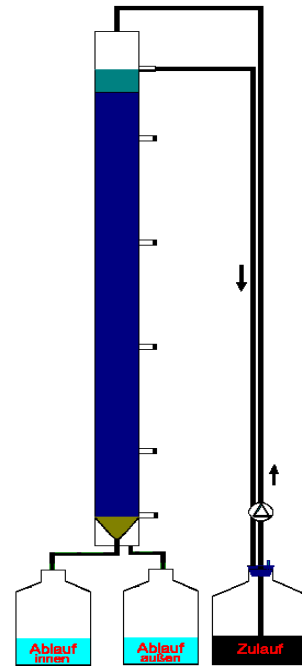
Die Problematik der Kanalleckagen liegt auf der Hand: Bei relativ niedrigem Grundwasserstand besteht die Gefahr, dass Abwasser in die darunterliegende Sedimentschicht und in das Grundwasser selbst sickert. Etwa 20-25 % der Abwassermenge gelangen auf diesem Weg jedes Jahr in den ungesättigten und grundwassergesättigten Untergrund. Durch mitgeführte Schadstoffe wie beispielsweise endokrin wirksame Substanzen, pharmazeutische Wirkstoffe, Stickstoffverbindungen und weitere Stoffe ist das Grundwasser in höchstem Maße gefährdet. Auch pathogene Keime und antibiotikaresistente Bakterien stellen eine potentielle Gefahr dar.

Arbeitsgebiet: Abwasserversickerung in Bodensäulen (Mitarbeiter [Hua](#), [An](#))

Am Institut für Ingenieurbiologie und Biotechnologie des Abwassers wird in mehreren Bodensäulen (1,25 m, 5x0,25 m) die Abwasserversickerung in den Untergrund simuliert und die Reinigungsleistung dieser Säulen untersucht. Ziel dieses Projekts ist es, den Abbau und die Immobilisierung von organischen und anorganischen Schadstoffen im Abwasser vom undichten Kanal bis hin zum Grundwasserspiegel aufzuzeigen und zu quantifizieren. Durch die Messungen von biologischen und chemischen Parametern wird ermittelt, wie sich Abwasser beim Durchsickern einer Bodensäule verhält und welche Eliminationsleistungen des Bodens zu erwarten sind.

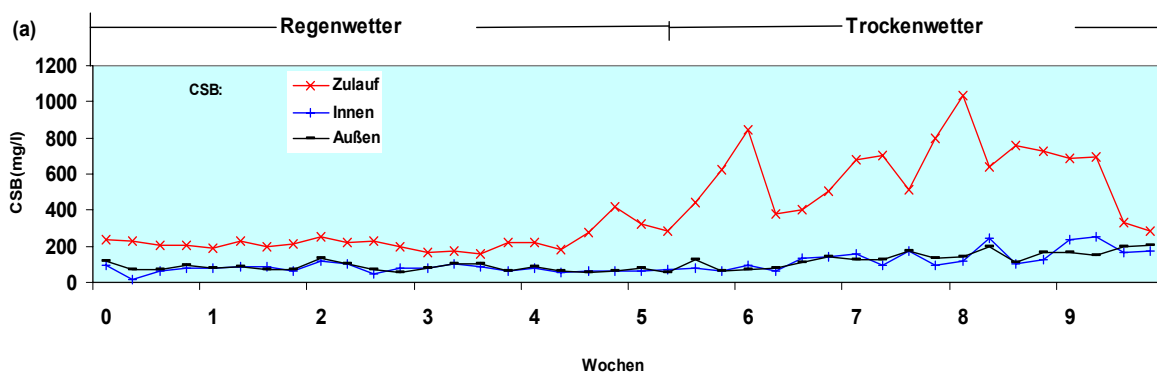
Um eine Aussage über die Abbauvorgänge zu erhalten, werden regelmäßig u.a. die Parameter CSB, DOC, SAK, die Konzentrationen an Ammonium, Nitrit, Nitrat, H₂, O₂, CO₂, und CH₄ und die Bakterienkeimzahl in verschiedenen Tiefen der Bodensäule gemessen.

Das Abwasser für die Untersuchungen wird alle zwei Wochen aus dem Zulauf der Kläranlage Karlsruhe (Neureut) entnommen und bis zur Verwendung bei 4°C aufbewahrt. Wegen des hohen Anteils an Schwebstoffen im Abwasser kommt es zu großen Schwankungen bei der Durchflussrate.



Aufbau einer unsegmentierten Bodensäule (1,25 m): Die Säule ist im unteren Bereich mit Kies als Stüttschicht befüllt. Zur Simulation der Bodenschicht dient im oberen Bereich eine Füllung aus grobem Sand und Feinsand (1-2 mm Korndurchmesser). Um Randeffekte bei der Abwasserversickerung zu vermeiden, wird die Bodensäule über einen Konus in einen inneren und einen äusseren Ablauf entwässert.

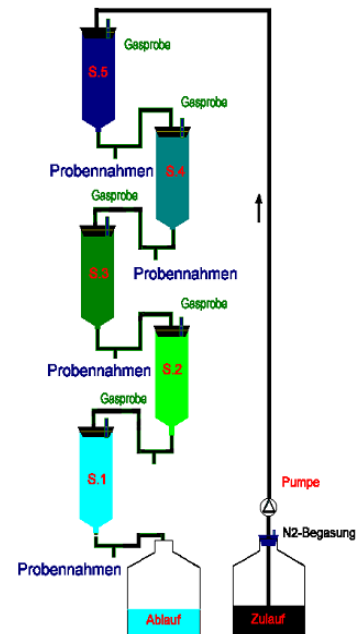
In der CSB-Elimination treten Schwankungen auf, die durch die Konzentration des Zulaufs bedingt sind. Die durchschnittliche CSB-Elimination liegt bei Trockenwetter bei 78 %, bei Regenwetter beträgt dieser Wert 71 %.



CSB-Elimination in einer Regenwetter- und einer Trockenwetterphase

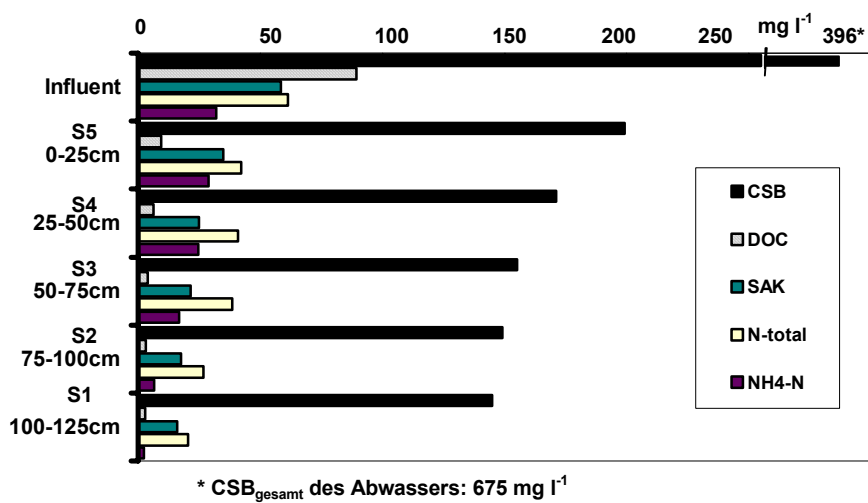
Um das Abbaupotential in Abhängigkeit von der Sickerstrecke zu ermitteln, wurde eine segmentierte Bodensäule verwendet. Sie besteht aus 5 hintereinandergeschalteten Säulen, die über Schläuche miteinander verbunden sind und jeweils eine Si-

ckerstrecke von 0,25 m repräsentieren. Das Abwasser wird mit Hilfe einer Pumpe auf die obere Säule S5 aufgetragen.



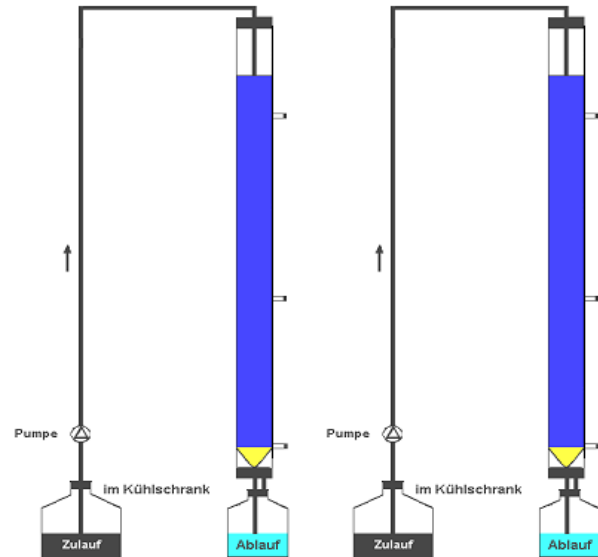
Aufbau einer segmentierten Bodensäule (5x0,25 m)

Nach den ersten 0,25 m Sickerstrecke wird der Großteil des CSB und des DOC abgebaut. Mikrobiologische Untersuchungen an einer Säule ergaben, dass in der oberen Schlammschicht und in den ersten 10 cm über 90 % der Bakterienpopulation leben. Die Mikroorganismen nutzen die organischen Stoffe als Kohlenstoffquelle.



Elimination von abwasserbürtigen Stoffen in der segmentierten Säule

Um den Abbau der gelösten Fraktion in kommunalem Abwasser mit dem unbehandeltem Abwasser zu vergleichen, wurden zwei parallele Säulen (je 1,1 m lang) konstruiert, die mit gefiltertem und mit nicht gefiltertem Abwasser beschickt werden. Die Durchflussrate in den Säulen wird über eine Pumpe gesteuert. Die Zulaufflasche wird im Kühlschrank aufbewahrt.



Aufbau der beiden parallelen Säulen

Arbeitsgebiet: Indikatororganismen und Antibiotikaresistenzen in Grund- und Abwasser (Mitarbeiter [Fund](#))

Als Indikatororganismen bezeichnet man Organismengruppen, die charakteristisch für ein Habitat sind und als solche leicht identifiziert werden können. Im Fall der Indikatororganismen aus kommunalem Abwasser handelt es sich um Bakteriengruppen, die zum Großteil aus dem Intestinaltrakt des Menschen stammen und über fäkale Ausscheidungen ins Abwasser gelangen. Ihr Auftreten in der Umwelt, zum Beispiel in Trinkwasser oder Grundwasser, lässt auf eine Verunreinigung mit unbehandeltem Abwasser schließen.

Zu den nachweisbaren Indikatororganismen zählen die Gesamtcoliformen Keime mit dem Darmbakterium *Escherichia coli*, die Enterococcen und die Bifido-bakterien, insbesondere die Sorbitol-verwertenden Humanbifidobakterien. Von der Mehrzahl der genannten Bakterien geht zwar keine primäre gesundheitliche Gefahr aus, trotzdem finden sich unter den Mitgliedern dieser Organismengruppen einige klinisch relevante Bakteriengattungen wie *Klebsiella*, *Shigella*, *Enterobacter* und *Enterococcus*. Sie sind verantwortlich für Infektionen der Atemwege (*Klebsiella pneumoniae*), der Harnwege (*E. coli*/Coliforme), des Magen-Darm-Trakts (*Shigella dysenteriae*) sowie von Wunden nach chirurgischen Eingriffen (*Enterococcus sp.*).

Nachweis der Indikatororganismen

Die genannten Bakteriengruppen können unterschiedlich lange ausserhalb des Darms überleben und lassen sich mittels Selektivnährböden nachweisen. Bifidobakterien zeigen eine sehr hohe Absterberate und sind schon nach wenigen Tagen nicht mehr nachweisbar. *Escherichia coli* dagegen kann noch nach 21 Tagen isoliert werden; die restlichen Coliformen Keime entsprechend noch länger. Bei den Enterococccen geht man davon aus, dass eine einmalige Kontamination mit Enterococcus zu einer Ansiedlung in der Umwelt führt und eine Reaktivierung auch nach längerer Zeit möglich ist.

Der Nachweis dieser Indikatororganismen in verschiedenen Gewässern und Sedimenten erlaubt deshalb auch eine Aussage darüber, wie lange eine fäkale Kontamination zurückliegt.



Escherichia coli-Isolat auf Endo-Agar. Die Kolonien zeigen den für E. coli typischen grünen Metallglanz auf der Oberfläche

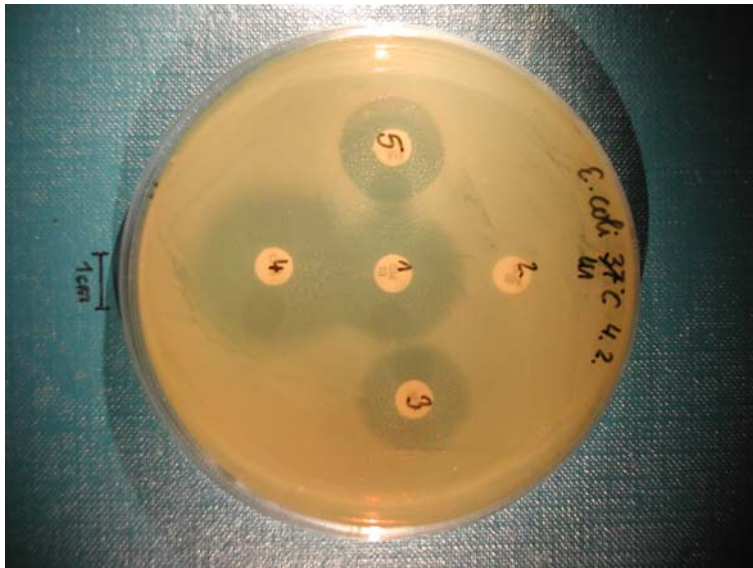
Antibiotikaresistenzen

Die Antibiotikaresistenzen bei den Bakterienarten, die als natürliche Bewohner des Menschen gelten, haben in den letzten Jahren durch gesteigerten Antibiotikaeinsatz drastisch zugenommen. Immer häufiger treten Stämme auf, die eine Multiresistenz gegen viele gebräuchliche Antibiotika zeigen und zu deren Bekämpfung nur noch Reserveantibiotika eingesetzt werden können, durch deren Einnahme schwere Nebenwirkungen auftreten können.

Im Rahmen dieser Arbeit werden Isolate von E.Coli, Coliformen, Enterokokken und Bifidobakterien und mit Hilfe des Agar-Diffusionstests (DIN 58940) auf ihre Empfindlichkeit gegenüber zwölf Antibiotika untersucht:

Kanamycin, Gentamicin, Neomycin, Penicillin G, Ampicillin, Tetracyclin, Vancomycin, Erythromycin, Chloramphenicol, Novobiocin

Kombinationspräparate: Triple Sulfa (Sulfamethazin, Sulfamerazin, Sulfadiazin)
Cotrimoxazol (Sulfamethoxazol, Trimethoprim)



Escherichia coli im Agar-Diffusionstest. Entsprechend der Wirksamkeit des Antibiotikums entstehen Hemmhöfe, die ausgemessen werden.

Die Einteilung der Isolate in resistente, intermediäre und sensible Stämme, entsprechend den gemessenen Hemmhof-Durchmessern, erlaubt einen Vergleich der Resistenzmuster bei den Indikatororganismen aus den verschiedenen Proben.

Arbeitsgebiet: Nitrifizierende Organismen unter Kanalleckagen (Mitarbeiter [Paul](#))

Die Nitrifikation durch autotrophe Bakterien spielt eine Schlüsselfunktion bei der Elimination von Ammonium und Nitrit in Abwasserreinigungsanlagen.

Ein weiterer Aufgabenbereich aus dem Gebiet der Mikrobiologie befasst sich deshalb mit nitrifizierenden Bakterien im Boden und im Grundwasser unter Kanalleckagen. Hierzu werden die am Stickstoff-Umsatz beteiligten Organismen in Boden- und Grundwasserproben quantifiziert und charakterisiert. Diese Proben stammen aus dem unmittelbaren Einflussbereich einer Kanalleckage.

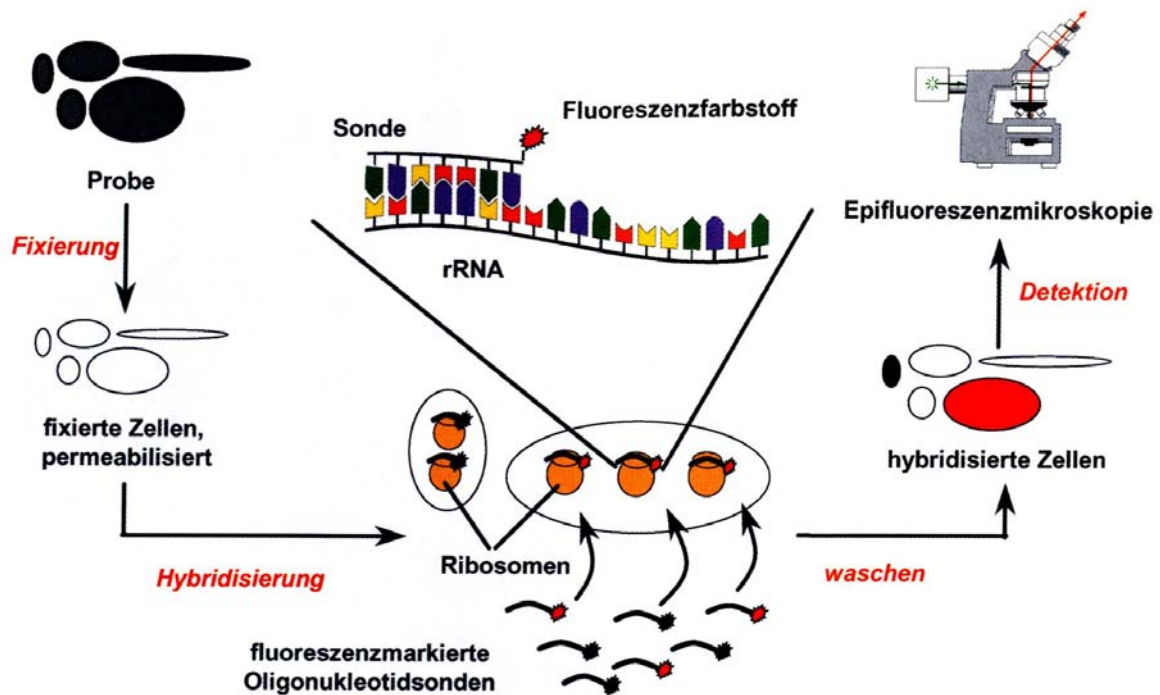
Charakterisierung von Nitrifizierern

Die autotrophen Nitrifizierer sind grundsätzlich schwer zu kultivieren und zeigen ein relativ langsames Wachstum. Aufgrund dessen gestaltet sich die Isolierung und Identifizierung dieser Bakterien recht aufwändig und langwierig.

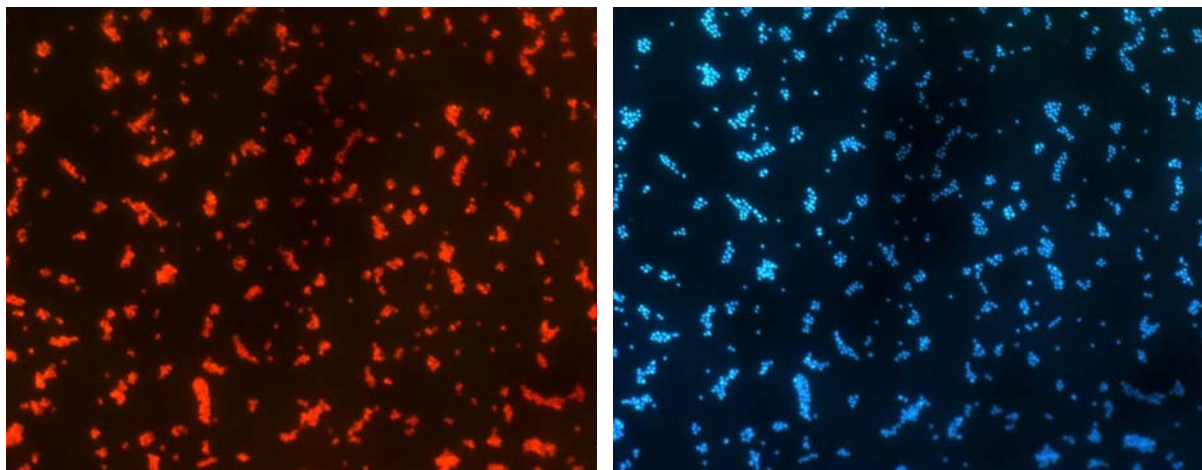
Die Charakterisierung der Nitrifizierer erfolgt deshalb unter Anwendung der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, einem Verfahren, das es erlaubt, einzelne Organismengruppen oder Species innerhalb von Mischpopulationen *–in situ* – ohne vorangehende Isolierung und Kultivierung zu identifizieren.

Bei der Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (kurz: FISH) werden komplementäre Sonden eingesetzt. Darunter versteht man Oligonukleotide, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sind und an spezifische Sequenzabschnitte der rRNA binden. Diese Sequenzabschnitte müssen innerhalb der zu identifizierenden Species oder Gruppe identisch sein und dürfen sich nicht bei anderen Bakteriengruppen finden, um eine eindeutige Abgrenzung von anderen, ähnlichen Organismen zu ge-

währleisten. Bei erfolgter Bindung an die Zielmoleküle kommt es aufgrund der gekoppelten Farbstoffe zu einem Fluoreszenz-Signal.



Prinzip der Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (AMANN, 2002)



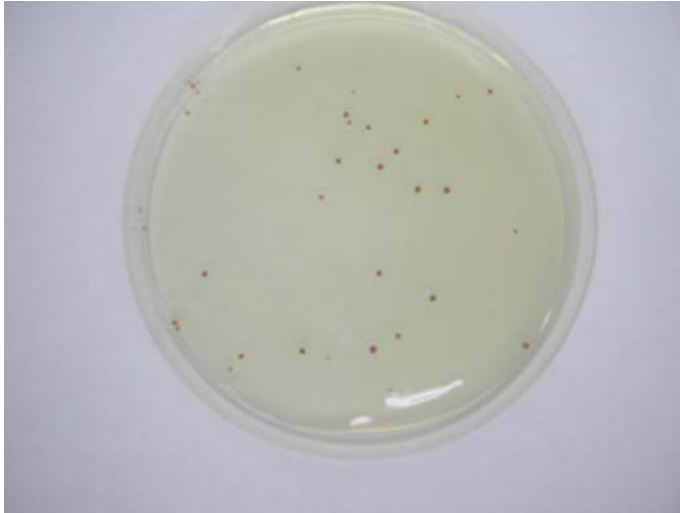
Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme von Nitrobacter, einem typischen nitrifizierenden Organismus im Abwasser (links), DAPI-Färbung (Färbung des Chromatins in den Zellen) des gleichen Bildausschnitts (rechts).

Nitrifizierer als Indikatororganismen für fäkale Verunreinigungen

Aufgrund der begrenzten Überlebensfähigkeit der gängigen Indikatororganismen (Enterokokken 3-4 Wochen, E.coli bis 21 Tage, Bifidobakterien 1-2 Tage) stößt der Nachweis fäkaler Verunreinigungen recht schnell an seine Grenzen. Ein Teilaspekt der Arbeit besteht deshalb darin, zu untersuchen, inwiefern sich verschiedene Nitrifi-

kanten als Indikatororganismen eignen. Die autotrophen Nitrifizierer würden hier klare Vorteile zeigen: Sie sind in der Umwelt auch unter Minimalbedingungen lange Zeit lebensfähig und lassen sich somit Monate oder Jahre nach der Verunreinigung mit Abwasser noch nachweisen. Um Aussagen über Nitrifizierer als Indikatororganismen zu erhalten, werden Daten aus den verunreinigten Boden- und Grundwasserproben mit Ergebnissen aus einer unbelasteten Referenzstelle verglichen.

Generell besteht bei Nitrifizierern das Problem darin, die Organismen auf Agar-Platten zu kultivieren und Reinkulturen zu erzielen, deshalb werden momentan Versuche zur Optimierung der Festmedien und der Anzuchtbedingungen durchgeführt.



**Kolonien einer Nitrobacter-Reinkultur.
Wachstum nach einer Inkubationszeit
von 3 Monaten**

Literatur:

C. Gallert, Hua Jianmin, Supavadee Koydon, M. Franz, K. Fitterer und J. Winter (2001), Auswirkungen schadhafter Kanäle auf den Untergrund. GWF Wasser – Abwasser 142 /14: S23-S28.

J. Hua, P. An, C. Gallert, J. Winter (2003) Risk assessment investigations for soil and groundwater by leaking sewers. DECHEMA Jahrestagung, Garching 02.-04.04.2003.

J. Hua, P. An, C. Gallert, J. Winter (2003), Elimination of COD, Microorganisms and pharmaceuticals from sewage by trickling through sandy soil below leaking sewers. Water Research, in press.