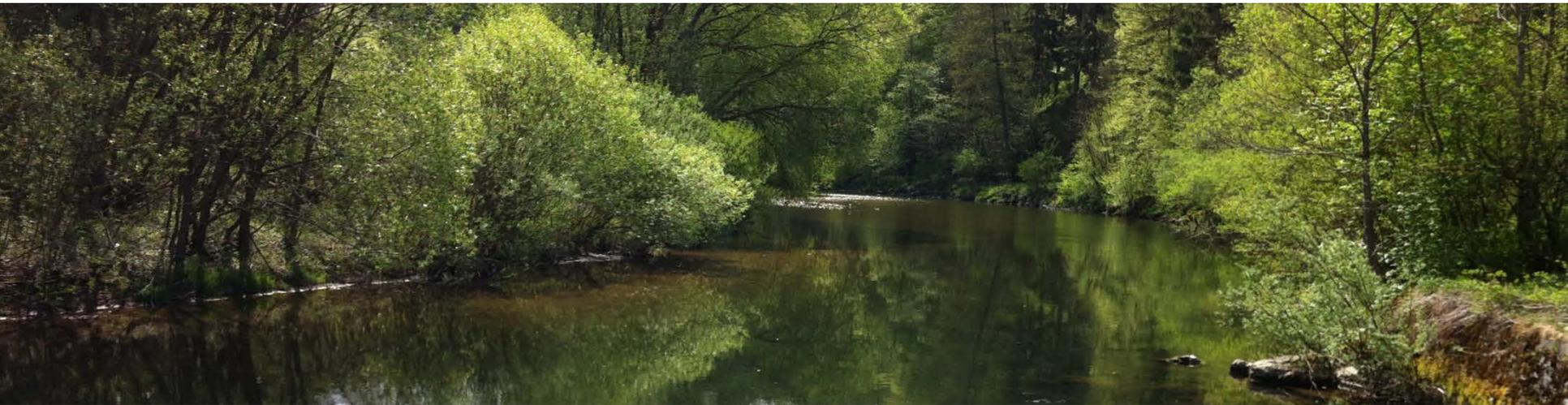


Toxische Wirkpotentiale: Reduktionsmöglichkeiten im Abwasser und Oberflächenwasser



Sabrina Giebner, Jörg Oehlmann (Universität Frankfurt), Paul Thellmann, Rita Triebkorn (Universität Tübingen), Ludek Blaha, Martin Benisek (RECOTOX Brno)

Abschlussveranstaltung des BMBF-Verbundprojekts SchussenAktivplus, 22./23. April 2015 Langenargen

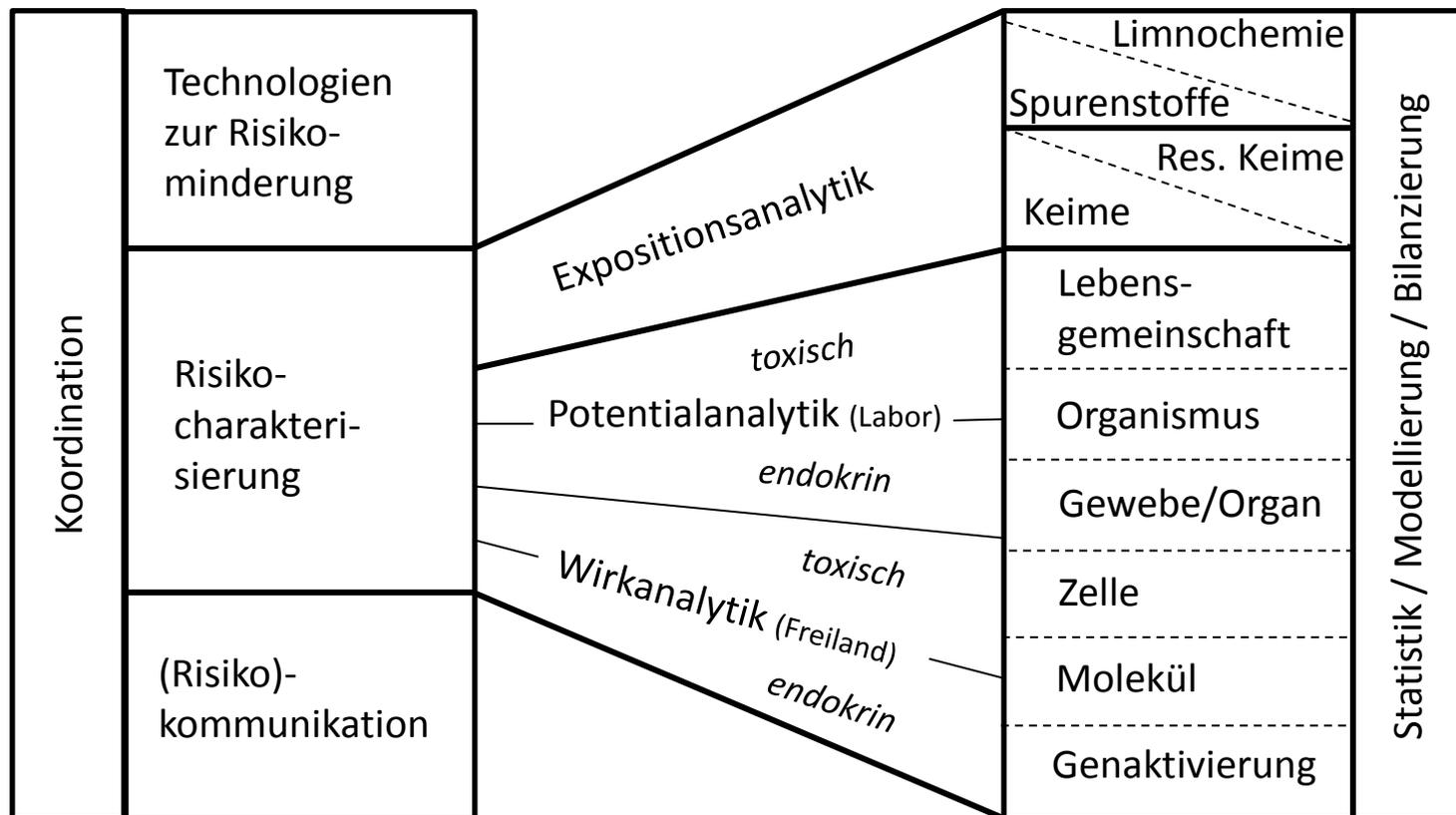


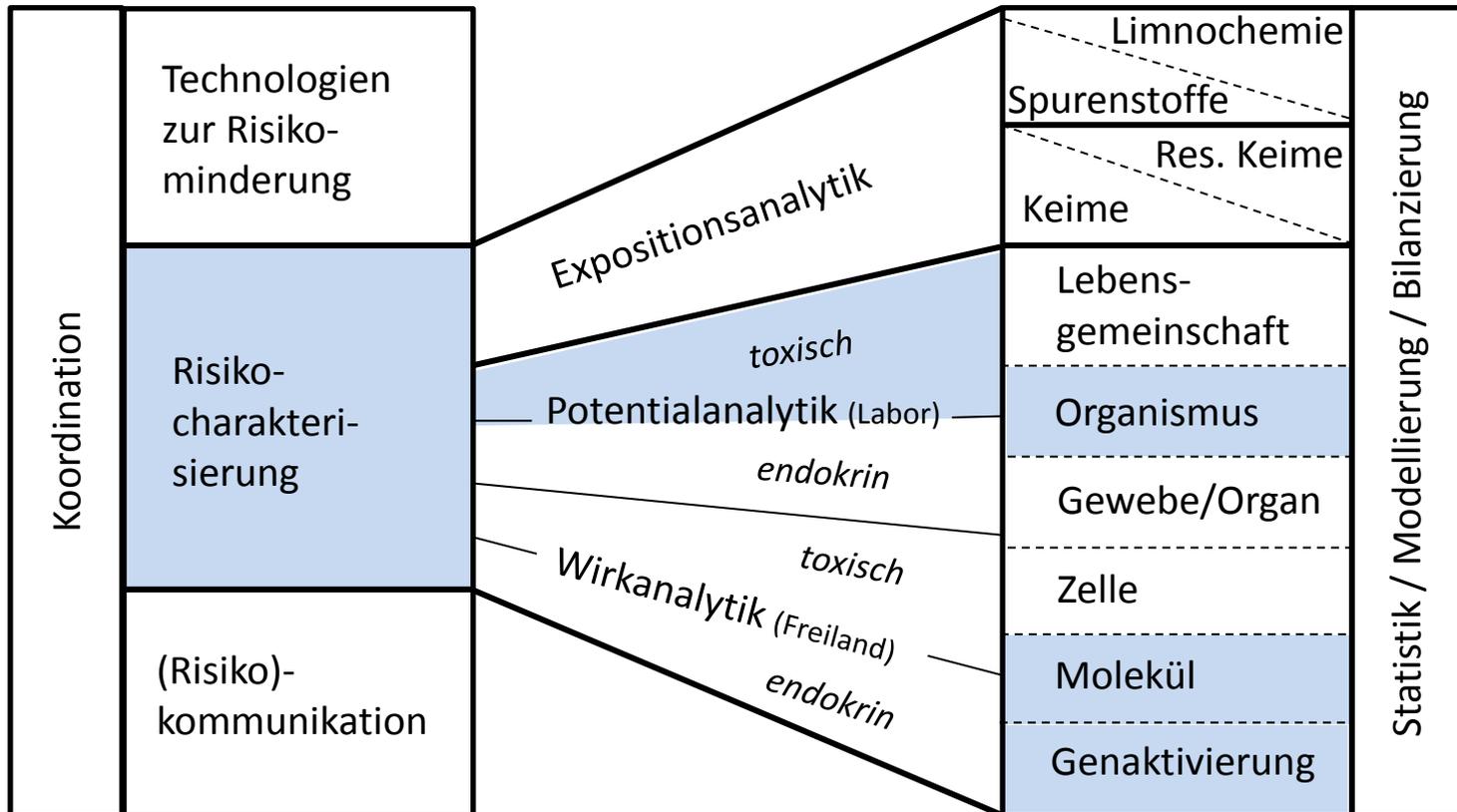
Wie werden toxisch wirkende Substanzen analysiert?

- Klassischer Weg: chemische Analytik
- Nachteil: Stoffspektrum begrenzt, aufwändige Methoden, Gefahr, die gesuchte Substanz zu übersehen
- **Biologische *In vivo* und *In vitro* -Testsysteme als Alternative**

→ Substanzen werden integrativ über ihre Wirkung erfasst und geben Hinweise auf Gefährdungspotentiale für Trinkwasser und die aquatische Lebensgemeinschaft

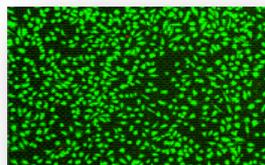
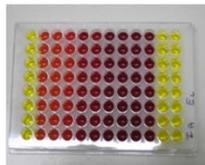
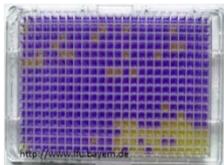






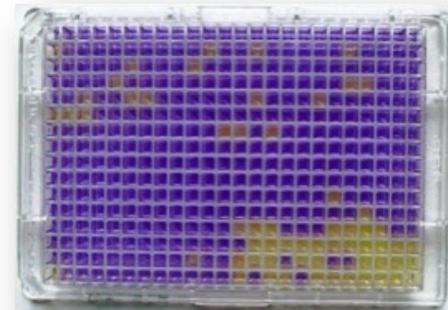
Übersicht der Untersuchungen

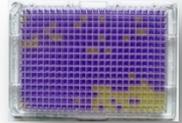
In vitro Wirkpotentiale	Gentoxische	Ames-Fluktuationstest	Extrakte
	Dioxin-ähnliche	Hefe-basierter Reporteragenassay (YDS)	Natives (Ab)Wasser
		Hepatoma H4IIE.luc-Assay	Extrakte
In vivo Wirkpotentiale	Entwicklungstoxische	FET mit <i>Danio rerio</i>	Natives (Ab)Wasser
	Reproduktionstoxische	Wachstums- und Fortpflanzungstest mit <i>Lumbriculus variegatus</i>	Wasser-Sediment-Gemisch
	Phytotoxische	Wachstumshinhibitionstest mit <i>Lemna minor</i>	Wasser-Sediment-Gemisch



Ames-Fluktuationstest

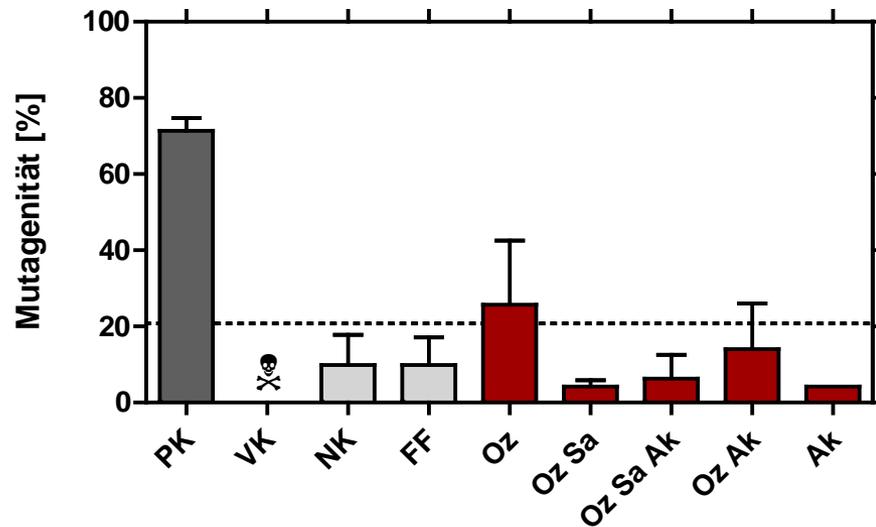
- Nachweis **mutagener Wirkungen** von Abwasser- und Freilandproben
- Der am weitesten verbreitete Test für den Nachweis mutagener Substanzen
- ***Salmonella typhimurium* Mangelmutanten** (TA98, TA100 & YG7108)
- Endpunkt: Anzahl der Revertanten



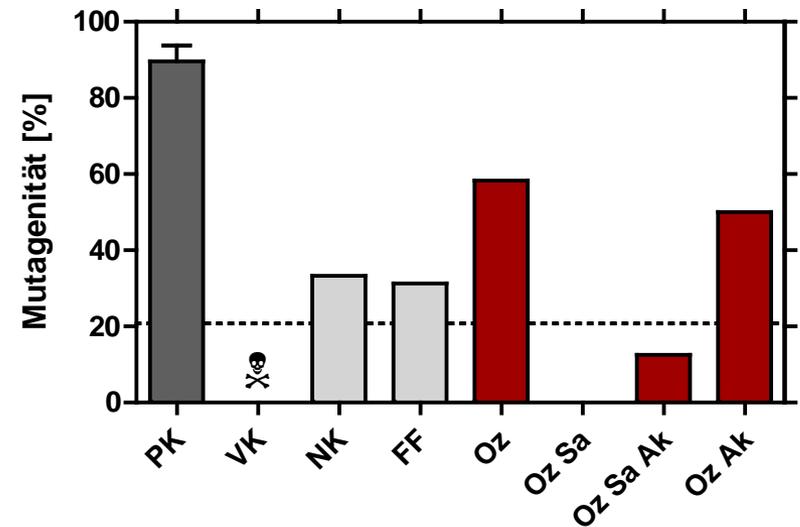


KA Eriskirch

Mittelwert aller PN



PN Juni 2013



Erhöhte Mutagenität nach Ozonbehandlung
 Reduktion der Mutagenität durch anschließenden Sandfilter
 und zusätzliche Aktivkohle

Vergleich mit anderen Kläranlagen



Evaluating the efficiency of advanced wastewater treatment: Target analysis of organic contaminants and (geno-)toxicity assessment tell a different story ☆

Axel Magdeburg^a, Daniel Stalter^{a,1}, Michael Schlüsener^b, Thomas Ternes^b, Jörg Oehlmann^a

Show more

doi:10.1016/j.watres.2013.11.041

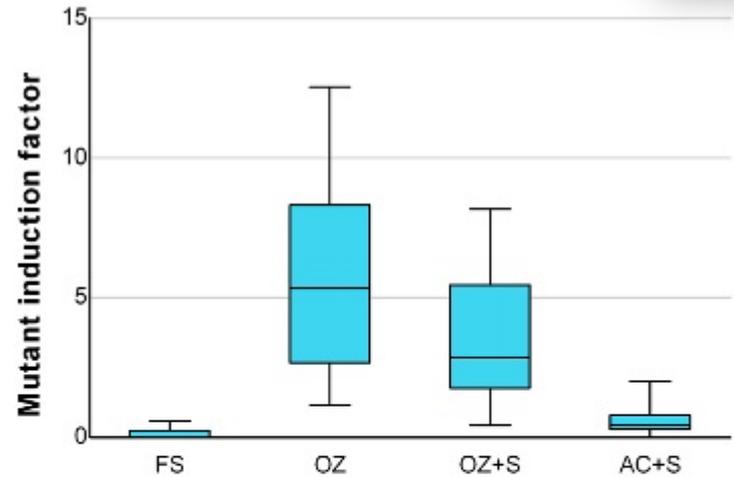
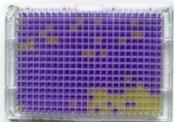


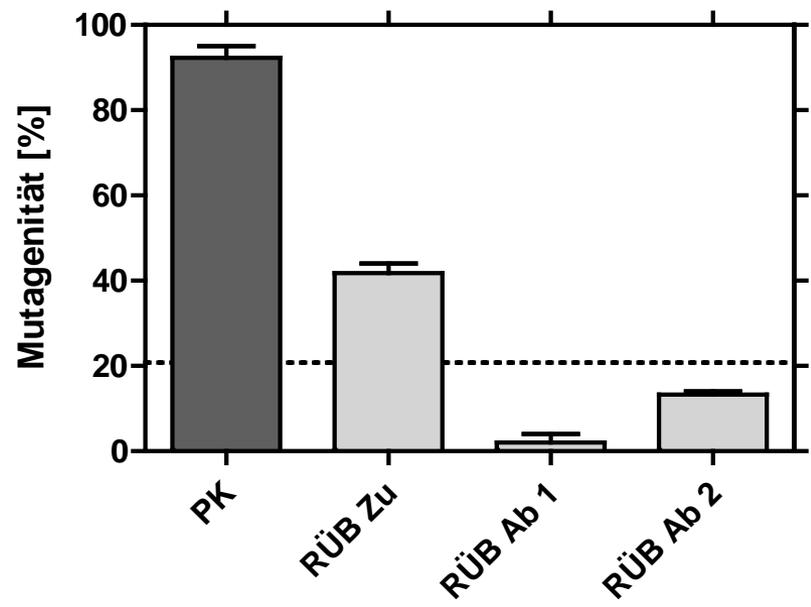
Fig. 5 Mutagenicity detected with Ames strain YG7108 without metabolic activation. Mutant induction factor of 10-fold concentrated WW samples. Displayed is the range of mutagenicity (min to max) over all samples. FS, after final sedimentation; OZ, after the ozone reactor; OZ + S, after sand filtration subsequent to the ozone reactor; AC + S, after sand filtration subsequent to activated carbon treatment. 10 samples per treatment, 3 replicates per sample.

Vergleichbare Ergebnisse in beiden Studien

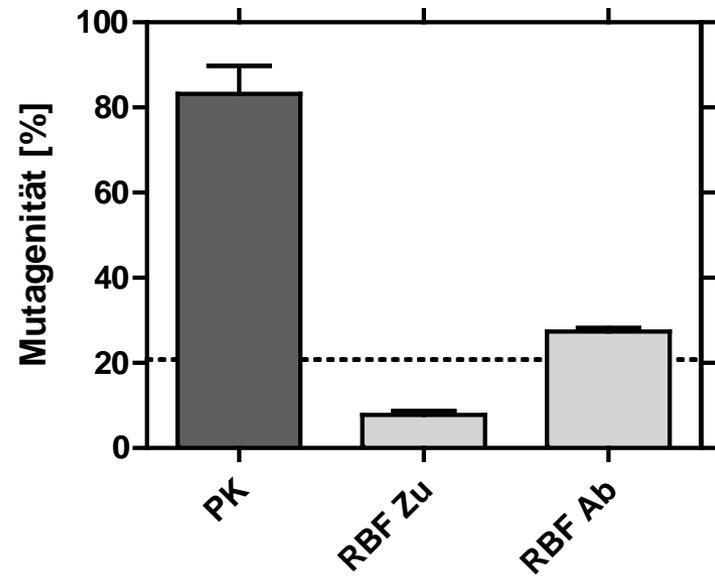


Regenüberlaufbecken

RÜB Mariatal



RBF Tettnang



Erhöhte Mutagenität im Zulauf RÜB nachweisbar
 Deutliche Reduktion in beiden Abläufen
 Erhöhte Anzahl Revertanten im Ablauf des RBF



Zusammenfassung gentoxische Wirkpotentiale

- **KA Langwiese und KA Merklingen:** Keine Mutagenität nachweisbar (sowohl vor und nach dem Ausbau der KA)
- **KA Eriskirch:** Erhöhte Mutagenität nach Ozonbehandlung nachweisbar (konnte durch Nachbehandlungsschritte deutlich reduziert werden)
- **RÜB Mariatal:** Gute Elimination der Mutagenität
- **RBF Tettang:** Erhöhte Anzahl Revertanten im Ablauf
- **Freiland:** Keine gentoxischen Wirkpotentiale nachweisbar
- Ergebnisse decken sich gut mit vergleichbaren Studien



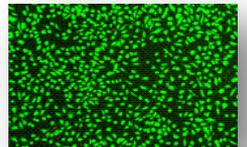
Yeast Dioxin Screen (YDS)

- Erfassung Dioxin-ähnlicher Wirkungen in **nativen Abwasser- und Freilandproben**
- Hefe-basierter Reportergenassay
- **Genetisch veränderte Hefezellen** (*Saccharomyces cerevisiae*)
 - Humaner Arylhydrocarbon-(Ah-)Rezeptor im Hauptchromosom
- Identisches Testprinzip wie YES und YAS

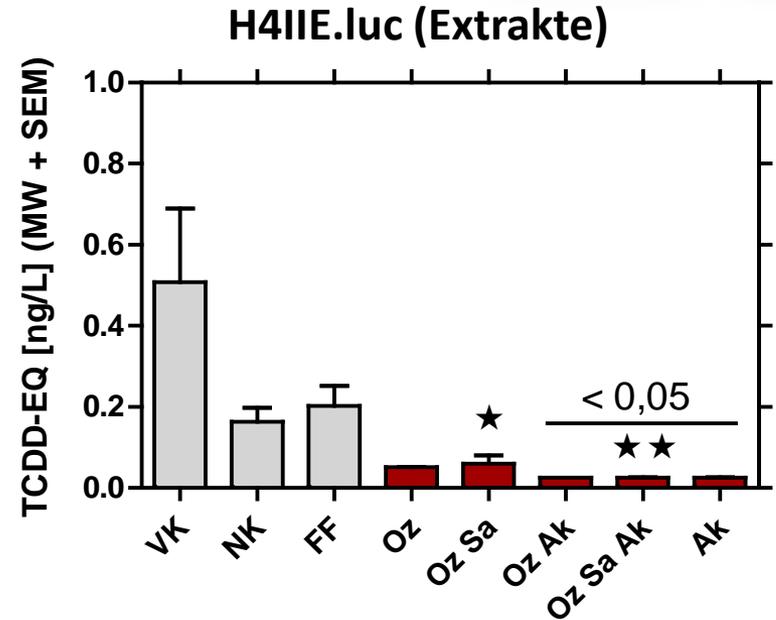
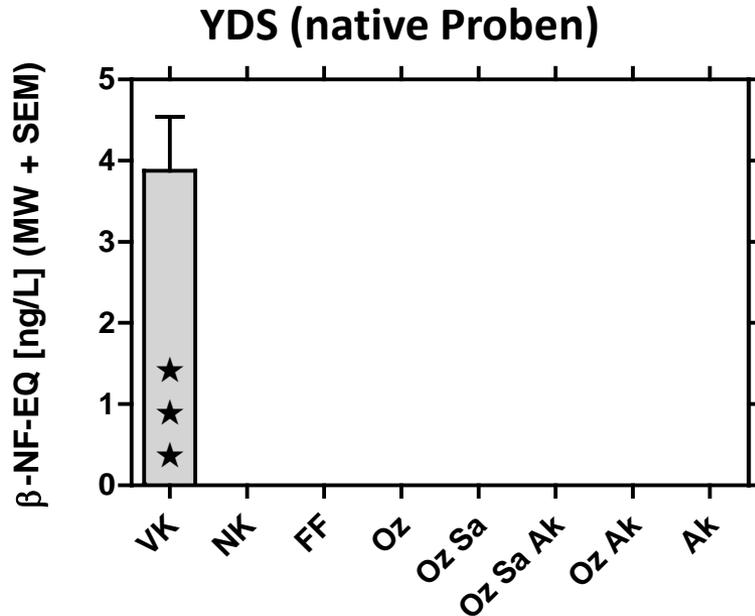
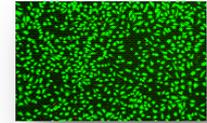


Assay mit Hepatoma H4IIE.luc-Zellen von Ratten

- Erfassung Dioxin-ähnlicher Wirkungen in **Extrakten von Abwasser- und Freilandproben**
- Induktion der Expression eines Luciferase-Gens unter Kontrolle des Arylhydrocarbon-(Ah-)Rezeptors



KA Eriskirch



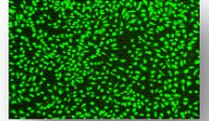
Geringe Dioxin-ähnliche Aktivität in beiden Testsystemen

YDS: Vollständige Elimination bereits durch NK

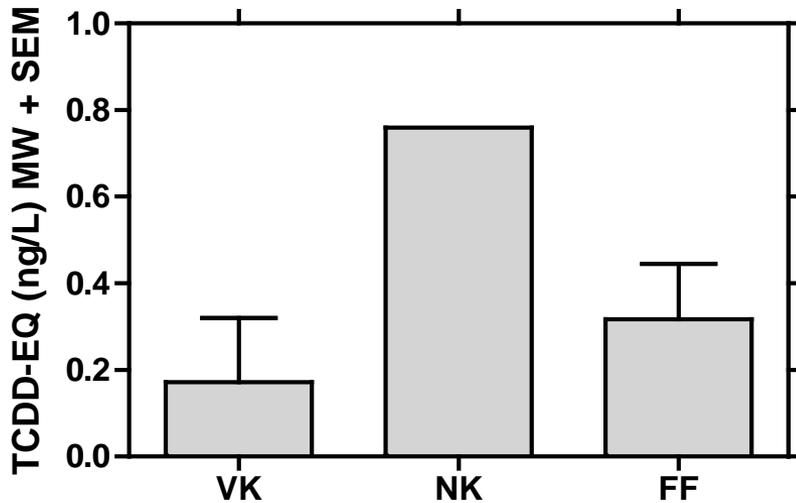
H4IIE.luc: 80% Reduktion durch NK und weitere 85-100% durch erweiterte Behandlungen



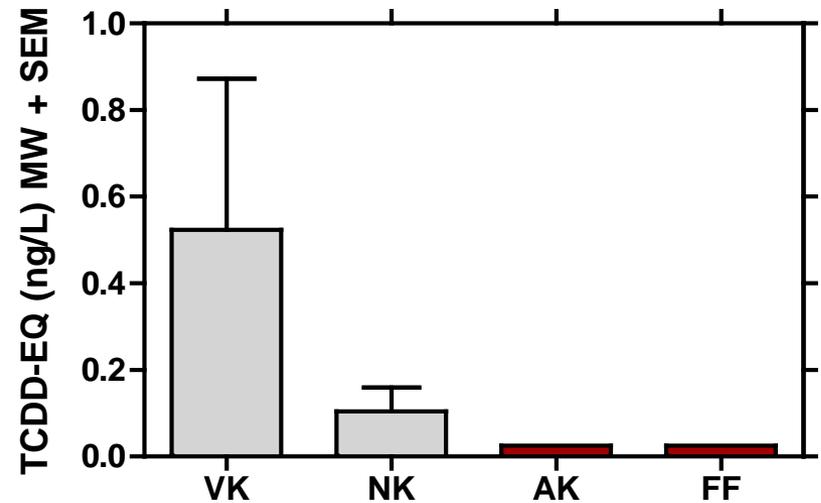
KA Langwiese (H4IIE.luc)



Vor Ausbau



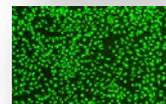
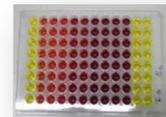
Nach Ausbau



Geringe Aktivität vor und nach Ausbau KA Langwiese
Nach Ausbau deutliche Reduktion bereits durch konv. Reinigung (80%) und
100% Elimination nach Aktivkohle



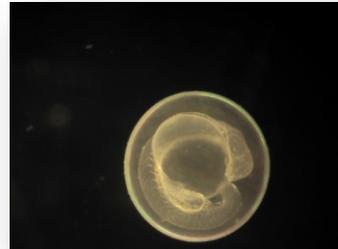
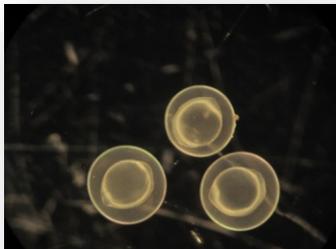
Zusammenfassung Dioxin-ähnliche Wirkpotentiale



- Vergleichbare Ergebnisse in beiden Testsystemen
- **Alle Anlagen:**
 - Sehr geringe Dioxin-ähnliche Aktivität
 - **80% Reduktion** bereits durch **konv. Reinigung**
 - **Erweiterte Maßnahmen:** Weitere 85-100% Reduktion bzw. Elimination
- **Regenüberlaufbecken:** Keine Dioxin-Ähnliche Aktivität nachweisbar (mit Ausnahme einer einzigen PN)
- **Freilandproben:** Sehr geringe Dioxin-ähnliche Aktivität

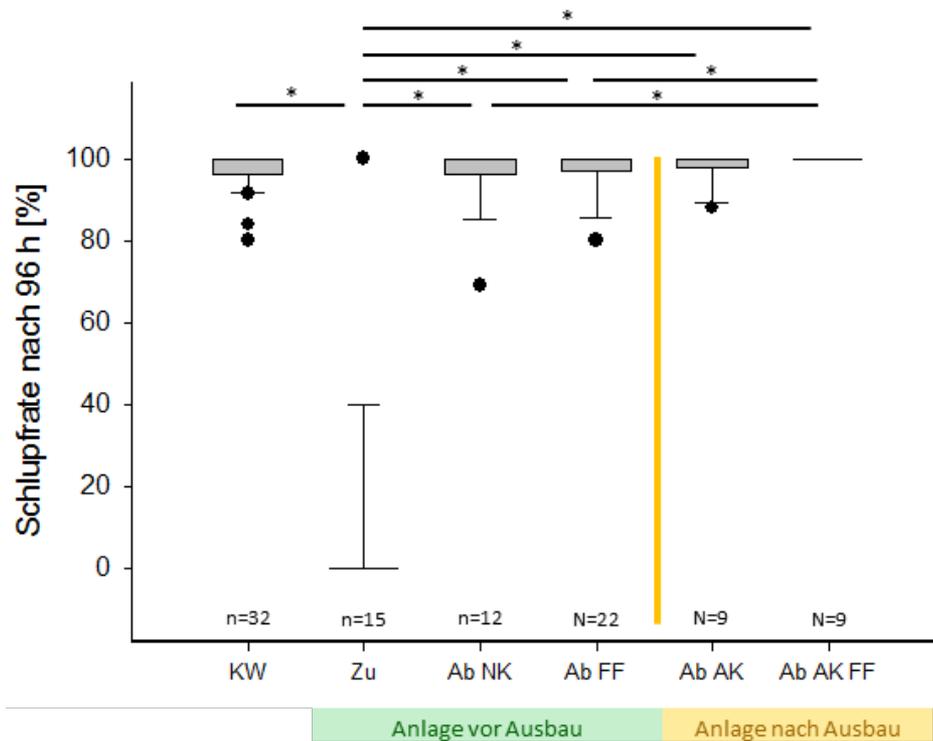
Fisch Embryo Test mit dem Zebraabärbling (*Danio rerio*)

- Erfassung **entwicklungstoxischer Wirkungen** auf Fische
- Exposition von Eiern gegenüber **nativen Wasserproben** der Versuchsanlagen
- Testdauer: 96 h
- Endpunkte: Mortalität, **Schlupfrate**, Entwicklungsdefizite und Herzschlagrate zu definierten Zeitpunkten





KA Langwiese

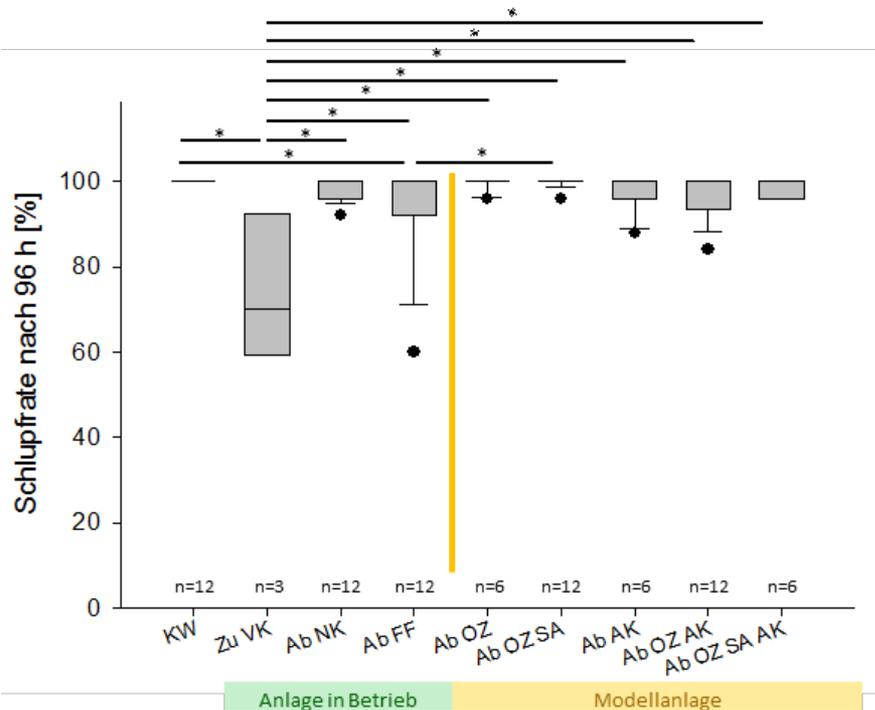


- KW** = Laborkontrolle
- ZU** = Zulauf nach mech. Vorklärung
- AB NK** = Ablauf Nachklärbecken
- AB FF** = Ablauf Flockungsfilter
- AB AK** = Ablauf Aktivkohlefilterung
- AB AK FF** = Ablauf Flockungsfilter nach Aktivkohlefilterung

Hohe entwicklungstoxische Potentiale im Zulauf
 Signifikant verbesserte Schlupfrate nach konv. Reinigung
 Zusätzliche Verbesserung der Schlupfrate nach dem Ausbau



KA Eriskirch

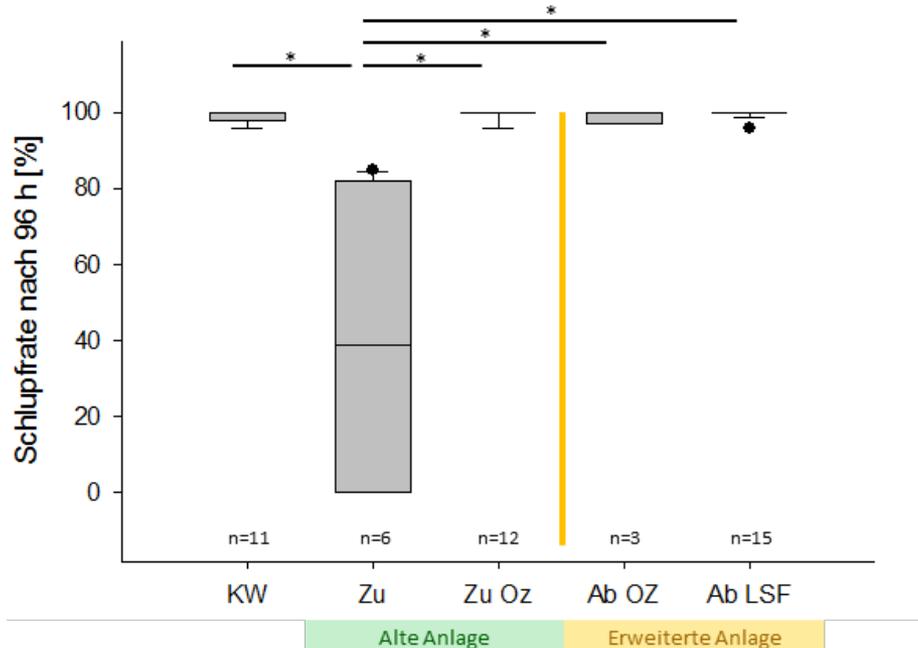


- KW** = Laborkontrolle
- ZU** = Zulauf nach mech. Vorklärung
- AB NK** = Ablauf Nachklärbecken
- AB FF** = Ablauf Flockungsfilter
- AB OZ** = Ablauf Ozonierung
- AB OZ SA** = Ablauf Ozonierung + Sandfilter
- AB AK** = Ablauf Aktivkohlefilterung
- AB OZ AK** = Ablauf Ozonierung + Aktivkohlefilterung
- AB OZ SA AK** = Ablauf Ozonierung + Sandfilter + Aktivkohlefilterung

Erhöhte entwicklungstoxische Potentiale im Zulauf
 Signifikant verbesserte Schlupfrate nach konv. Reinigung
 Weitere Verbesserung der Schlupfrate durch Oz Sa



KA Merklingen



- KW** = Laborkontrolle
- ZU** = Zulauf nach mech. Vorklärung
- ZU OZ** = Zulauf Ozonierung
- AB OZ** = Ablauf Ozonierung
- AB LSF** = Ablauf Langsamsandfilter nach Ozonierung

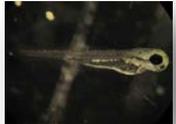
Erhöhte entwicklungstoxische Potentiale im Zulauf
Signifikant verbesserte Schlupfrate nach konv. Reinigung

Keine signifikanten Unterschiede zwischen KW, der alten Anlage und der Modellanlage



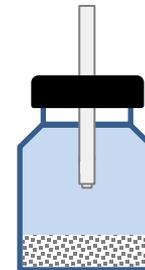
Zusammenfassung entwicklungstoxische Wirkpotentiale

- **Mortalität** und **Schlupfrate** als robusteste Endpunkte
 - Schlupfrate als sensitivster Endpunkt
 - Hohe Variabilität bei Herzschlagrate und Entwicklungsdefiziten
- **Alle Anlagen:**
 - Geringe entwicklungstoxische Wirkpotentiale
 - Bereits nach **konv. Reinigung** deutlich verbesserter Gesundheitszustand der Tiere
- **KA Langwiese:** Zusätzliche Verbesserung der Schlupfrate nach Ausbau
- **Regenüberlaufbecken:** Keine entwicklungstoxischen Effekte nachweisbar



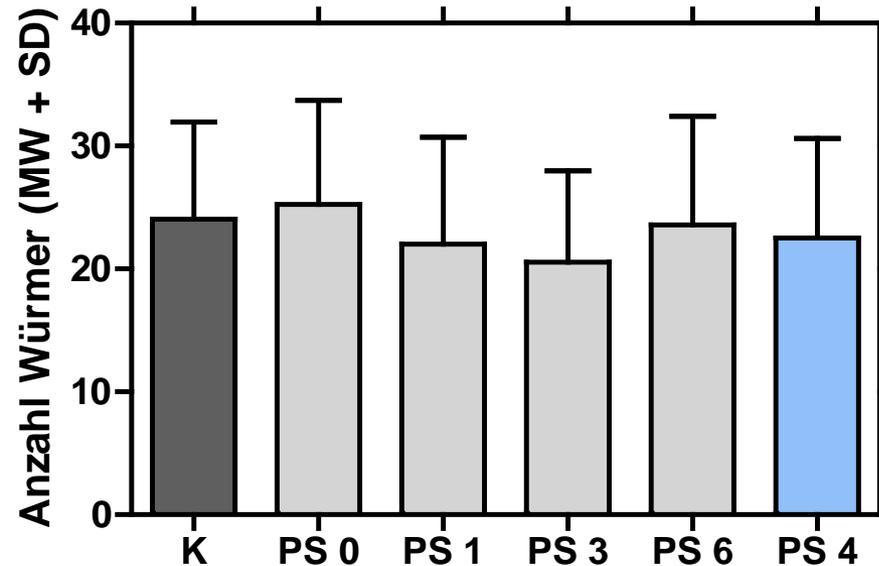
Wachstums- und Fortpflanzungstest mit *Lumbricus variegatus*

- Erfassung **toxischer** und **reproduktionstoxischer Wirkungen** auf Fischnährtiere
- Exposition von Freilandproben in einem **Wasser-Sediment-Gemisch**
- Testdauer: 28 Tage
- Endpunkte: **Anzahl der Würmer** und Biomasse nach Testende





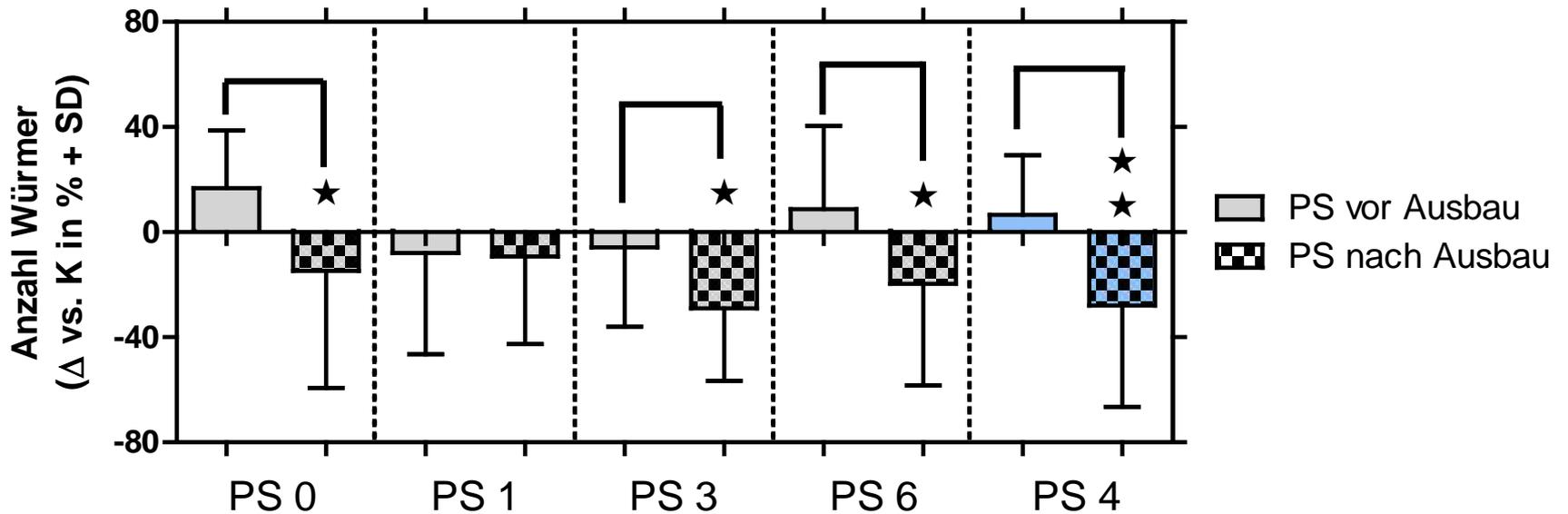
Mittelwert aller Probenahmen



Keine Reproduktionstoxizität im Test mit *L. variegatus*
Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probestellen



Vergleich vor und nach Ausbau KA Langwiese



Signifikant geringere Anzahl an Würmern nach dem Ausbau von KA Langwiese



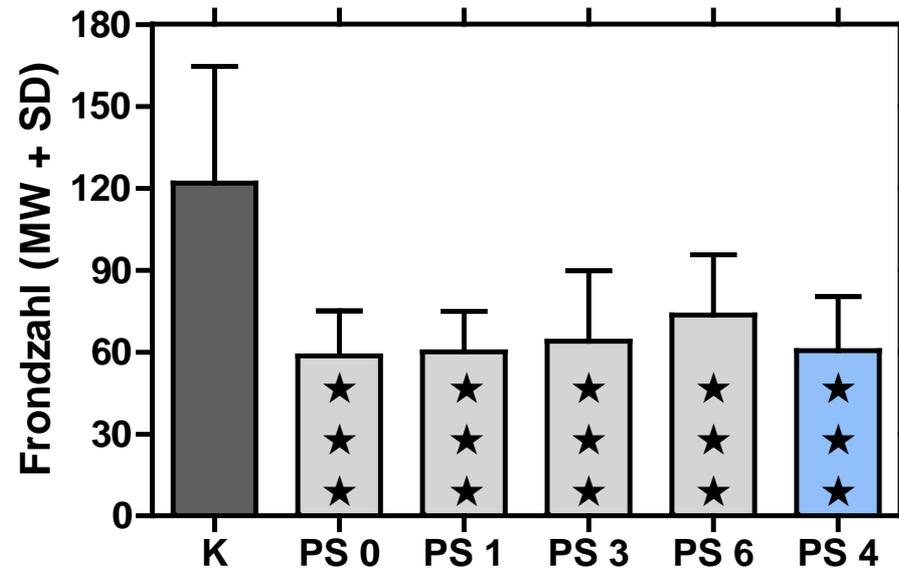
Wachstumsinhibitionstest mit der Wasserlinse *Lemna minor*

- Erfassung **phytotoxischer Wirkungen**
- Exposition von Freilandproben in einem **Wasser-Sediment-Gemisch**
- Testdauer: 7 Tage
- Endpunkte: **Anzahl der Fronds (Blättchen)**, Frischgewicht und Trockengewicht nach Testende



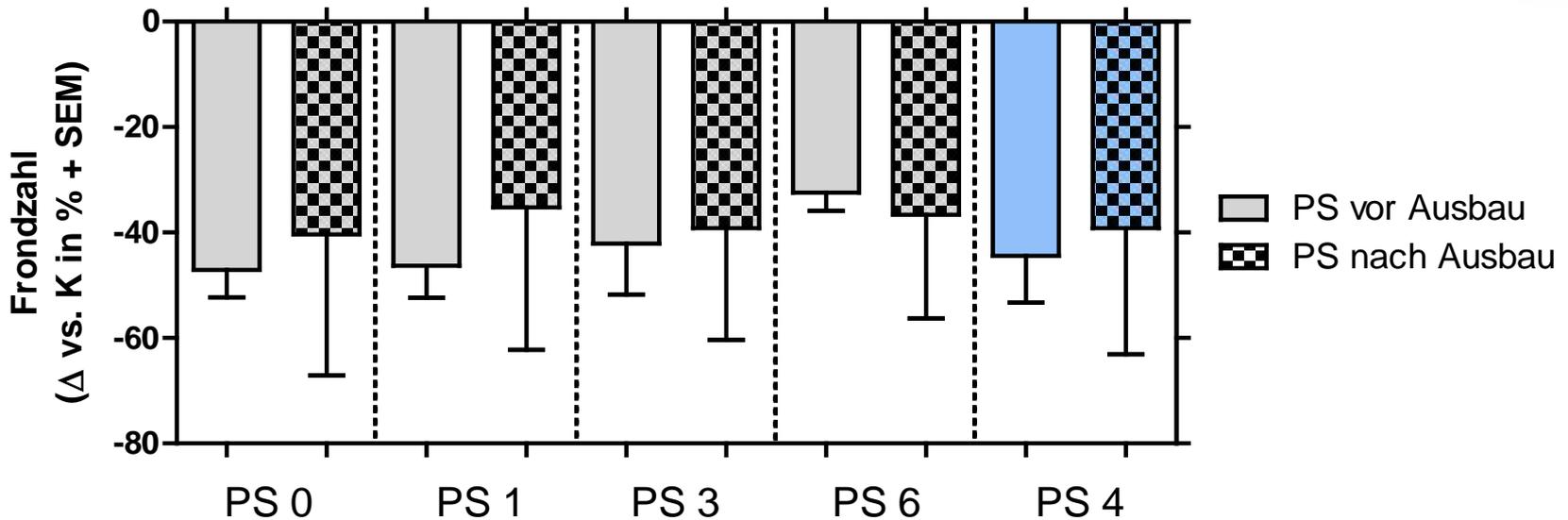


Mittelwert aller Probenahmen



Signifikante schlechteres Wachstum an allen Probestellen
Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Probestellen

Vergleich vor und nach Ausbau KA Langwiese



Tendenziell verbessertes Wachstum nach Ausbau KA Langwiese an allen Probestellen (mit Ausnahme von PS 6)

Zusammenfassung reproduktionstoxische und phytotoxische Wirkpotentiale



- ***Lumbricus variegatus:***
 - Signifikant geringere Anzahl an Würmern nach Ausbau KA Langwiese
 - ***Lemna minor:***
 - **Signifikante schlechteres Wachstum** an allen Freilandproben
 - Tendenziell **verbessertes Wachstum nach Ausbau KA Langwiese** an allen Freilandstellen
- ***Kann nicht direkt auf den Ausbau von KA Langwiese zurückgeführt werden***
- Effekte sind möglicherweise durch **Nährstoffmangel** bedingt

KA Langwiese

- Die **Erweiterung mit PAK** erwies sich als **effektiv**, insbesondere bei der Reduktion Dioxin-ähnlicher und entwicklungstoxischer Wirkpotentiale
- Bisher noch **keine direkten Auswirkungen der Eintragsminderung** (möglicherweise durch den kurzen Untersuchungszeitraum)

→ Langfristige Untersuchung des Ökosystems notwendig!



KA Eriskirch & KA Merklingen

- Die **konventionelle Reinigung** zeigte bereits eine **gute Eliminationsleistung** der toxischen Wirkpotentiale
- **KA Eriskirch:**
 - Die Modellanlage erwies sich als **effektiv**, insbesondere bei der Reduktion gentoxischer und Dioxin-ähnlicher Wirkpotentiale
 - Durch die Kombination von weiteren Nachbehandlungsschritten konnten z.T. **durch Ozon verursachte gentoxische Potentiale** reduziert werden
- **KA Merklingen:**
 - Nur sehr **geringe Effekte**, daher keine Auswirkung von Ozon auf die Reduktion toxischer Wirkpotentiale



Unser Dank gilt:

- dem BMBF für die Förderung, dem PTKA für die gute Betreuung,
- allen SchussenAktivplus-Partner für die gute Zusammenarbeit,
- Ihnen für die Aufmerksamkeit



Baden-Württemberg
REGIERUNGSPRÄSIDIUM TÜBINGEN



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

NaWaM
Nachhaltiges Wassermanagement



RiSKWa
Risikomanagement von neuen Schadstoffen und
Krankheitsregener in Wasserkreislauf

EBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN



GOETHE
UNIVERSITÄT
FRANKFURT AM MAIN

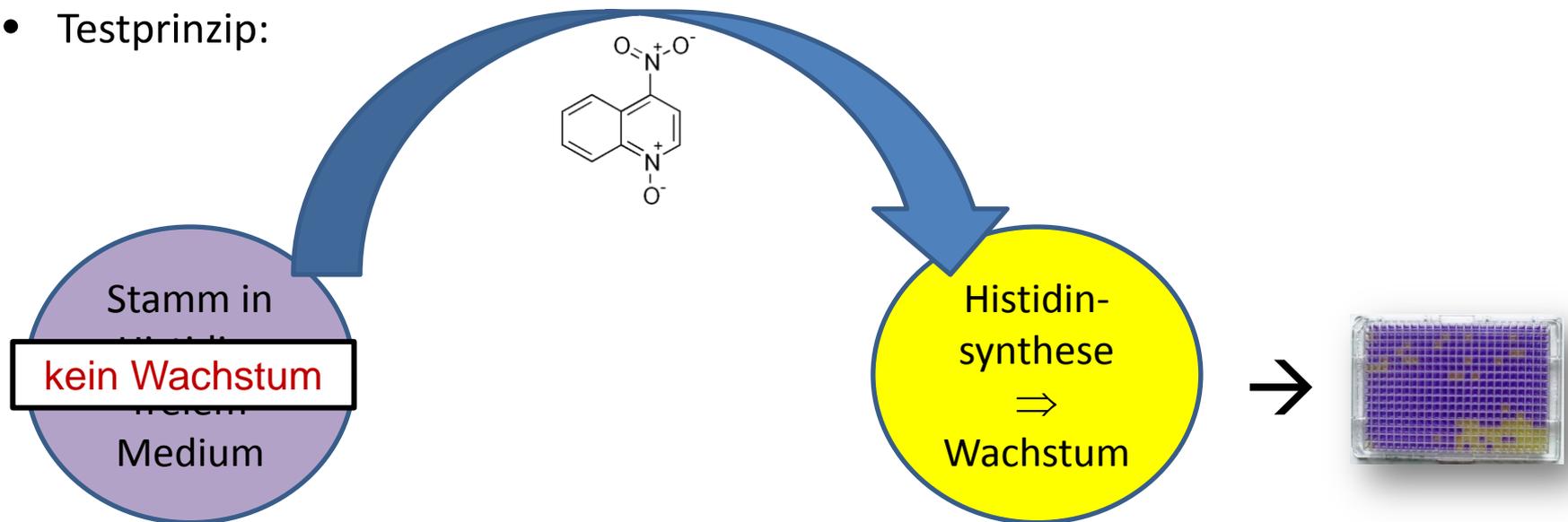


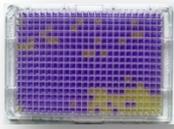


Gentoxische Potentiale

Testprinzip

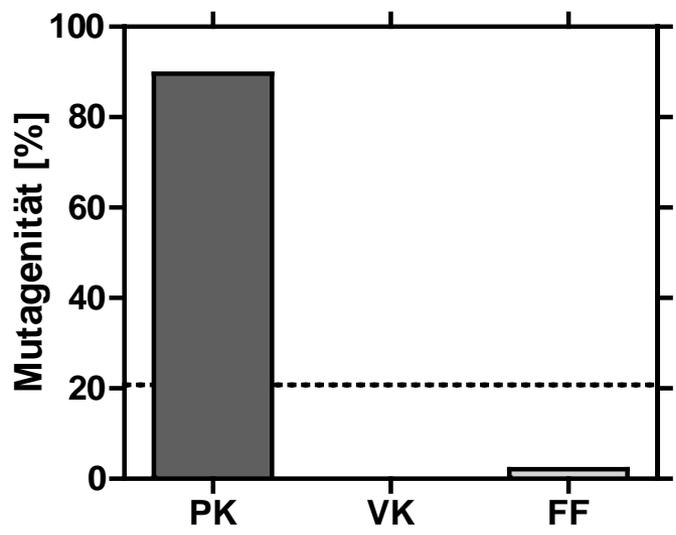
- Verwendung von verschiedenen Stämmen *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 und YG7108)
 - Mangelmutanten (Histidinsynthese nicht möglich)
 - Kein Wachstum auf Histidin-freiem Medium
- Testprinzip:



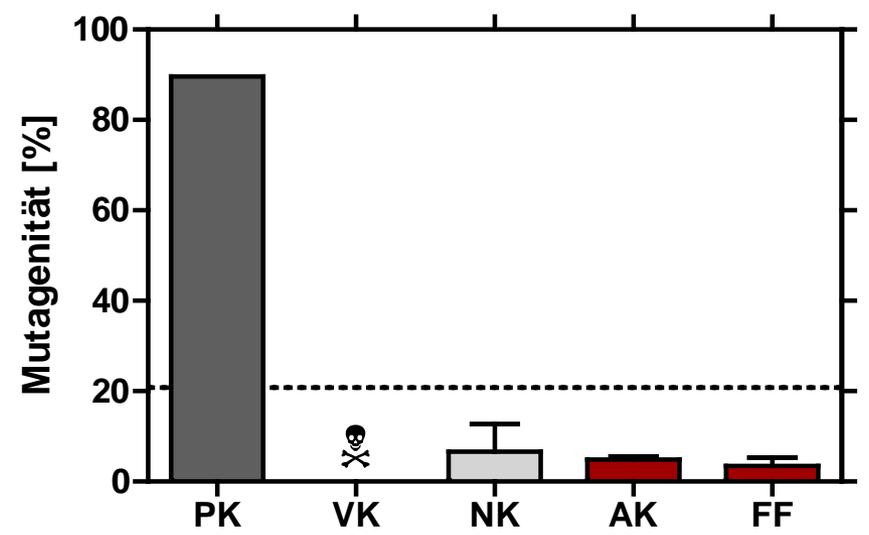


KA Langwiese

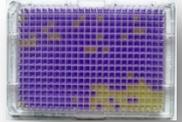
Vor Ausbau



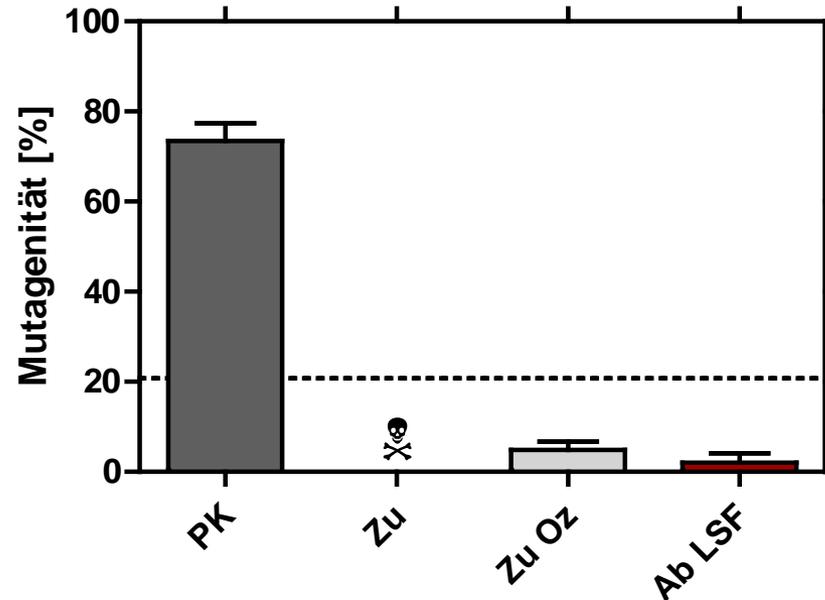
Nach Ausbau



Keine Mutagenität in KA Langwiese vor und nach Ausbau nachweisbar

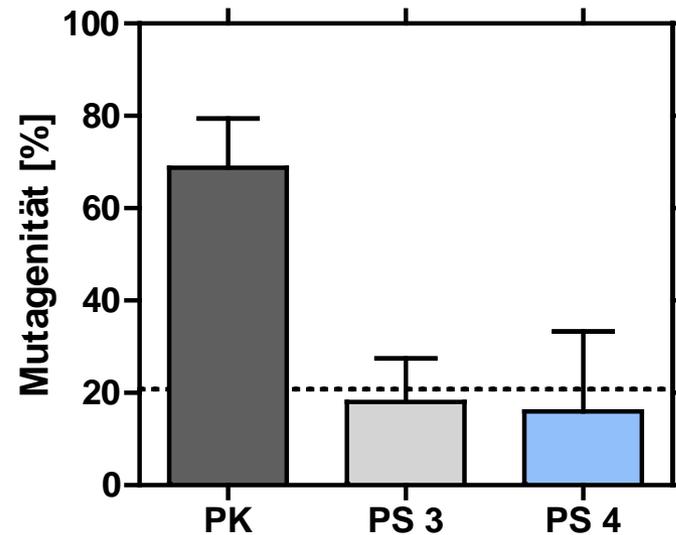
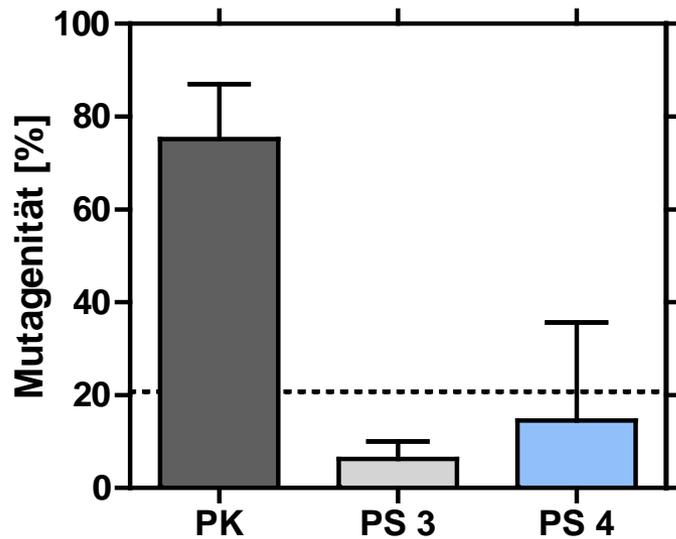
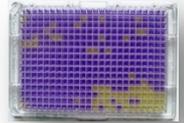


KA Merklingsen



Keine Mutagenität in KA Merklingsen nachweisbar
Keine erhöhte Mutagenität nach Ozonbehandlung

Freilandproben



Keine Mutagenität in den Freilandproben nachweisbar

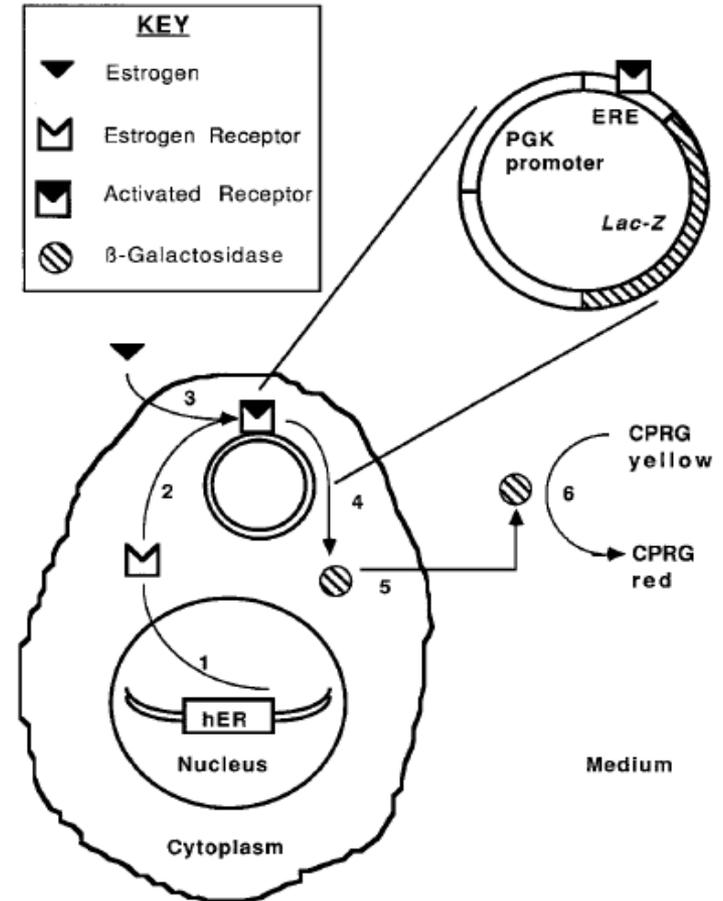
Leicht erhöhte Anzahl Revertanten nach Ausbau KA Langwiese an PS 3



Dioxin-ähnliche Potentiale

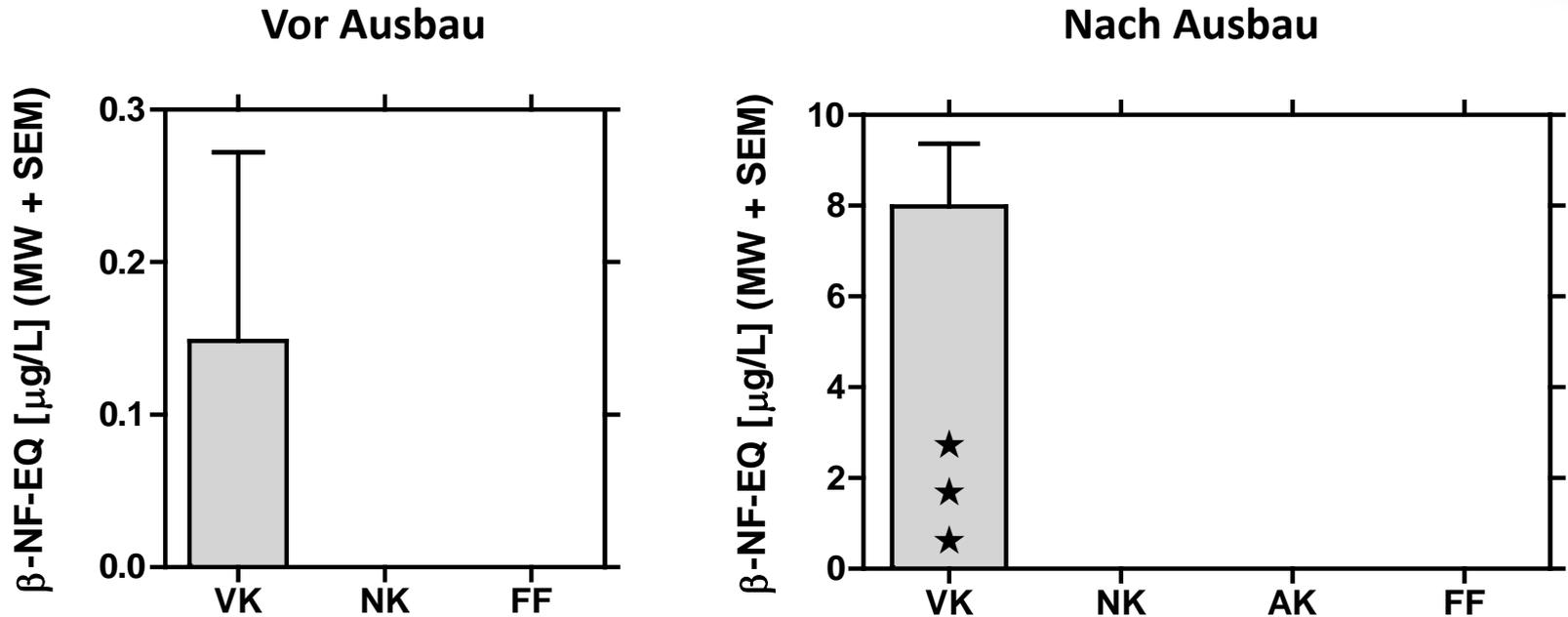
Testprinzip der Hefezellassays

- (1) Expression des Gens für humanen Östrogenrezeptor
- (2)+(3) Bindung des durch einen Liganden aktivierten Rezeptors an das ERE
- (4) Expression des lacZ -Gens und Bildung der β -Galactosidase
- (5) Sekretion der β -Galactosidase in Umgebungsmedium
- (6) Umwandlung von CPRG (gelb) in Chlorphenolrot (rot)



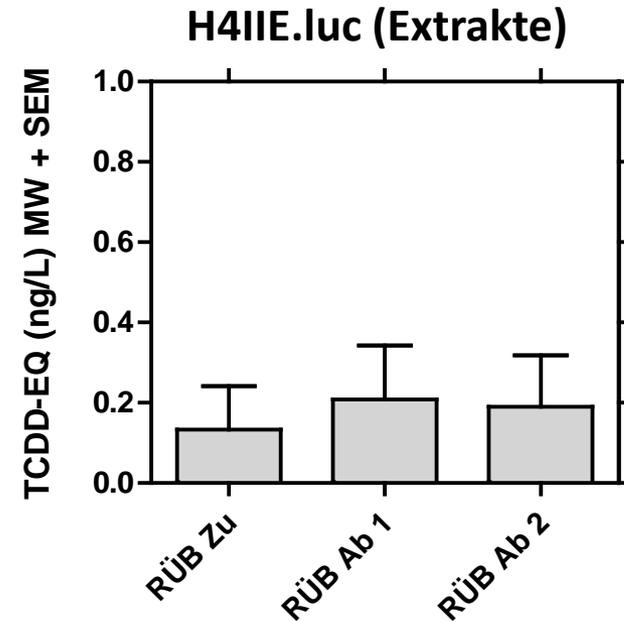
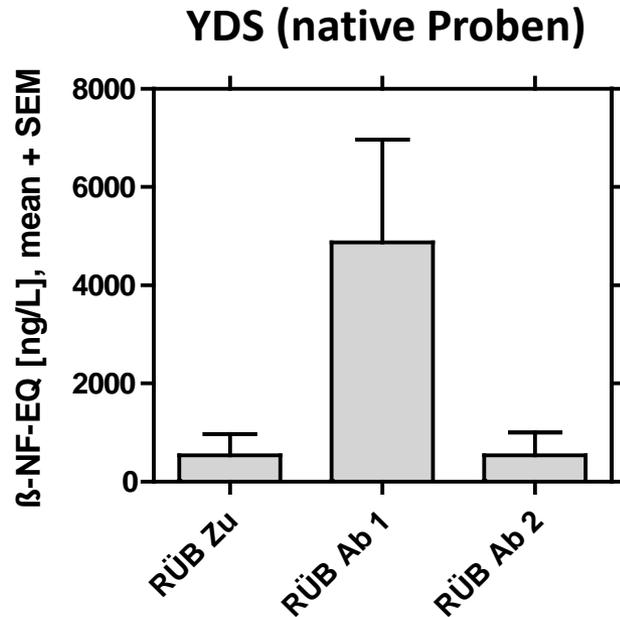


KA Langwiese (YDS)



Geringe Aktivität vor und nach Ausbau KA Langwiese
Vollständige Elimination bereits durch konv. Reinigung
Vergleichbare Ergebnisse mit H4IIE.luc-Assay

Regenüberlaufbecken Mariatal (RÜB)



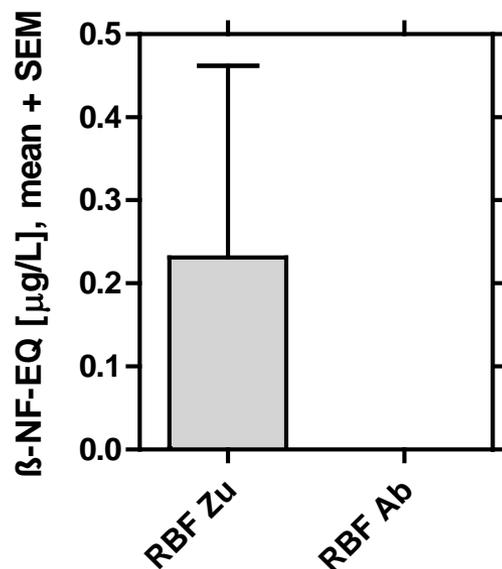
YDS: Hohe Dioxin-ähnliche Aktivität im Ablauf des RÜB Mariatal

H4IIE.luc: Sehr geringe Dioxin-ähnliche Aktivität nachweisbar

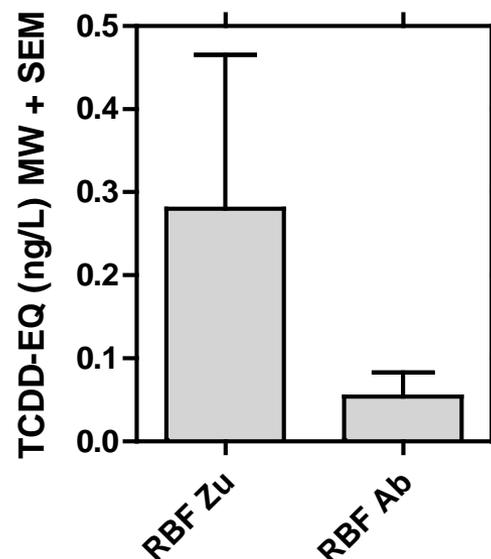


Retentionsbodenfilter Tettngang (RBF)

YDS (native Proben)



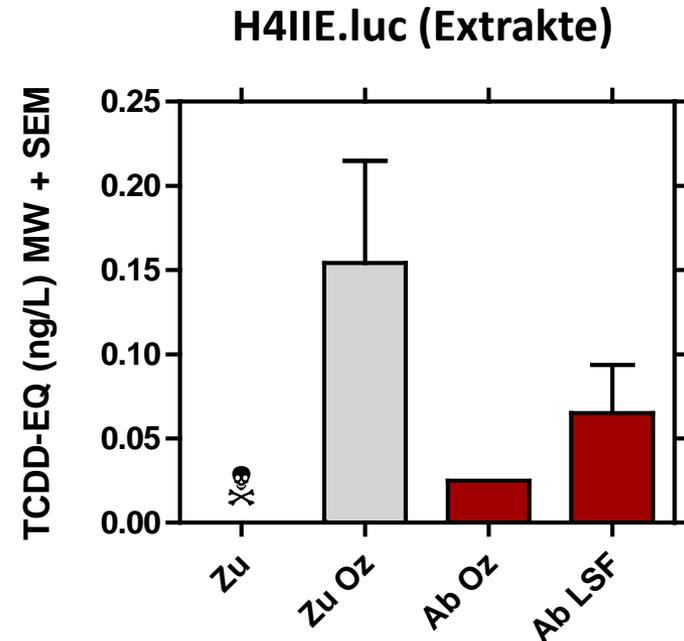
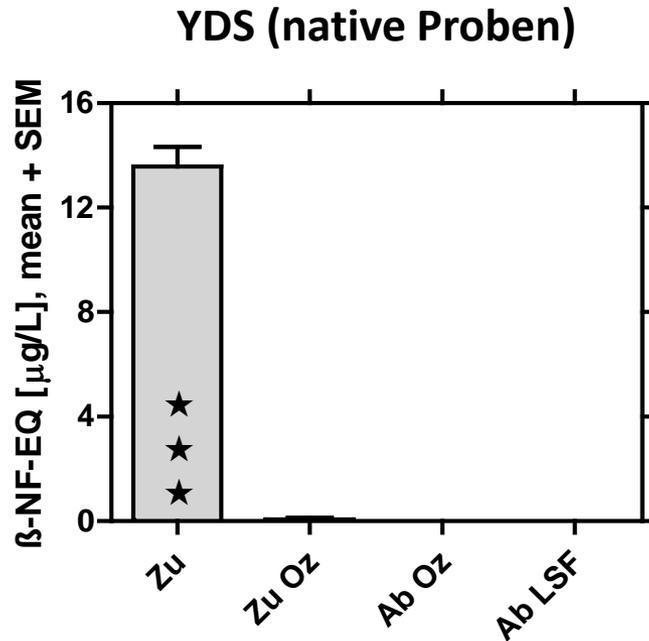
H4IIE.luc (Extrakte)



Geringe Dioxin-ähnliche Aktivität in beiden Testsystemen
Fast vollständige Elimination durch RBF in beiden Testsystemen

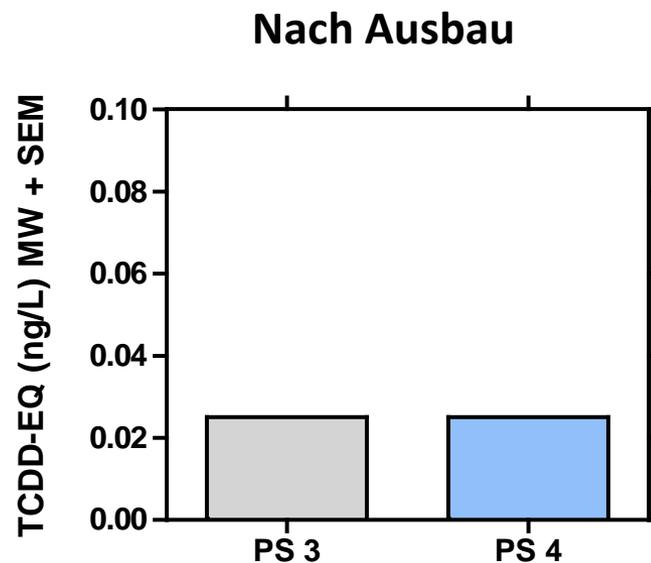
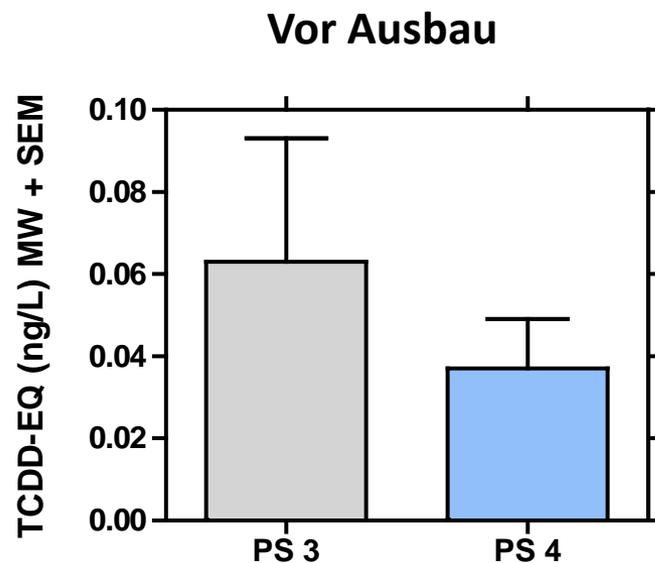


KA Merklingen



Geringe Dioxin-ähnliche Aktivität in beiden Testsystemen
YDS: Fast vollständige Elimination bereits vor Ozon
H4IIE.luc: Deutliche Reduktion durch Ozon

Freilandproben (H4IIE.luc)



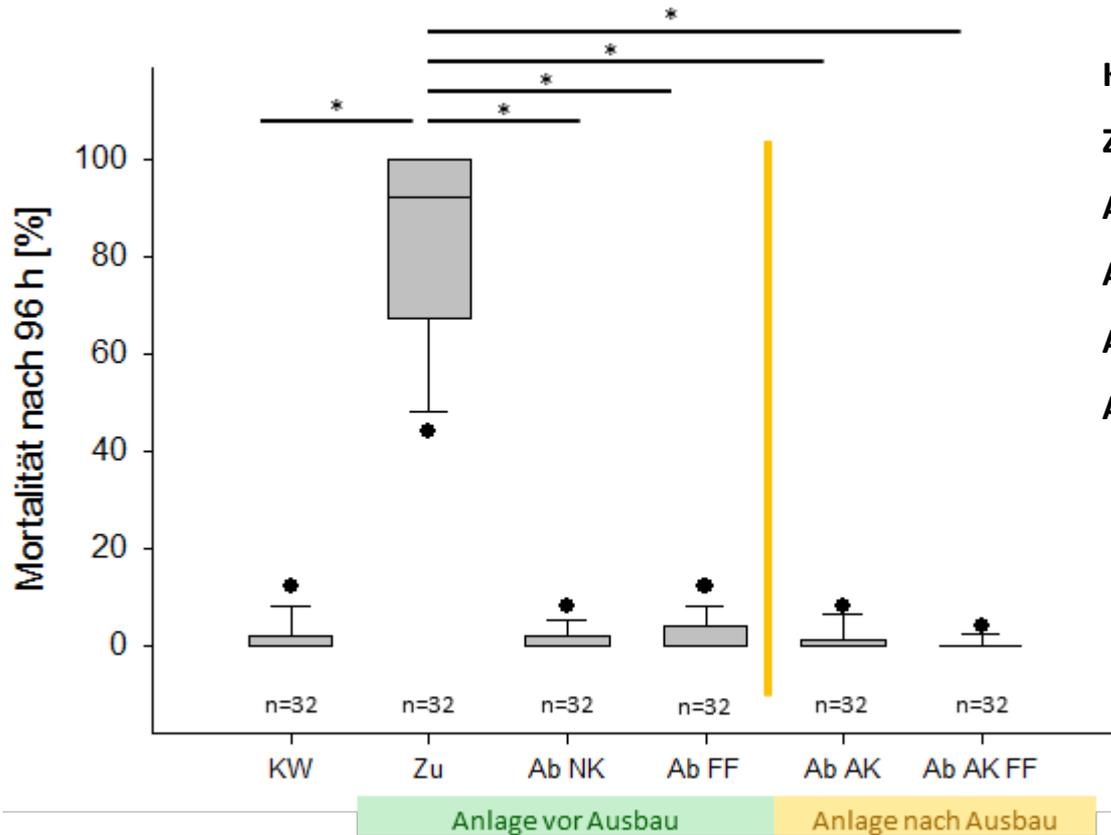
Sehr geringe Aktivität in Freilandproben
Aktivität nach Ausbau unterhalb der Nachweisgrenze



Entwicklungstoxische Potentiale



KA Langwiese



KW = Laborkontrolle

ZU = Zulauf nach mech. Vorklärung

AB NK = Ablauf Nachklärbecken

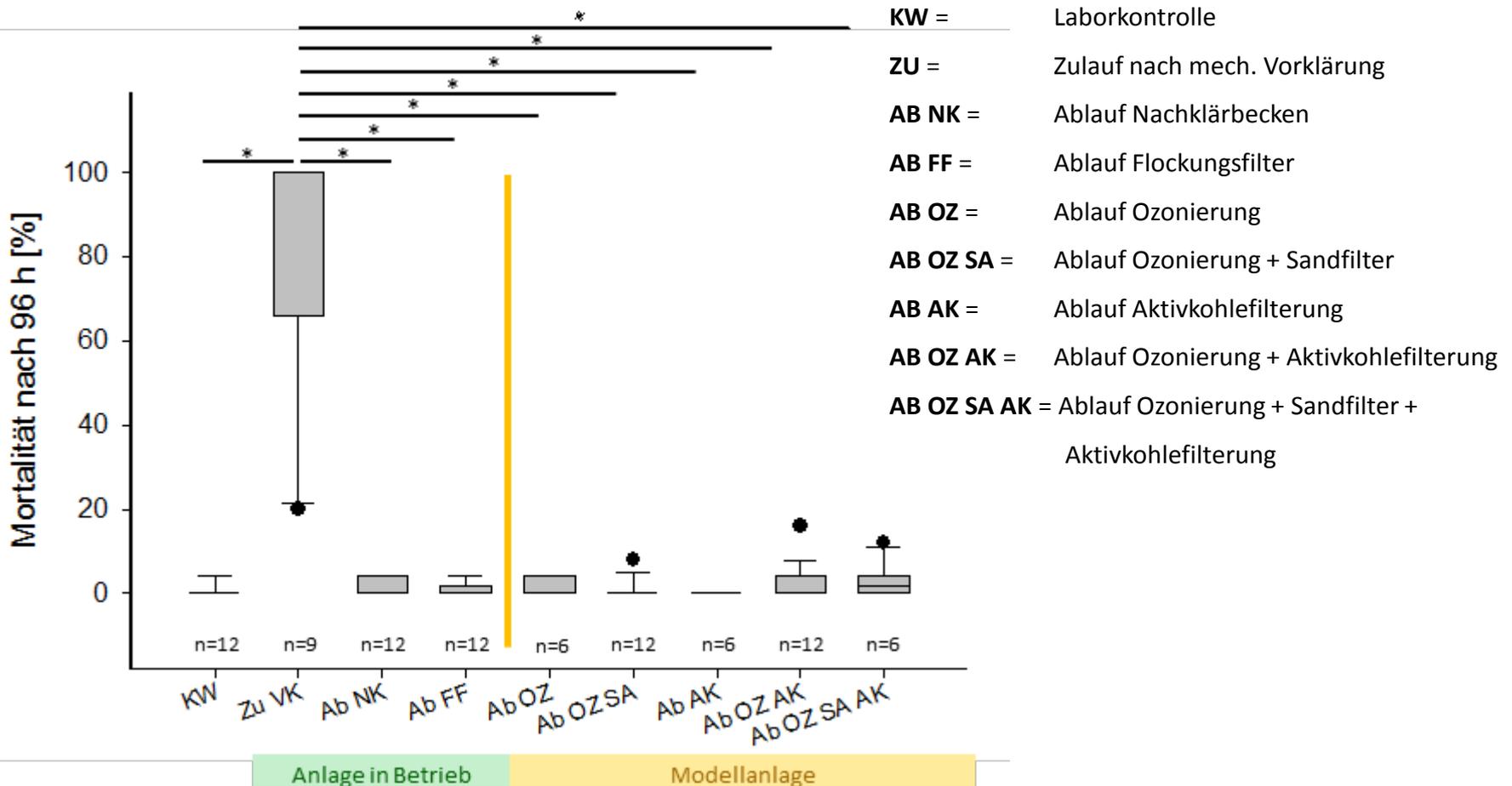
AB FF = Ablauf Flockungsfilter

AB AK = Ablauf Aktivkohlefilterung

AB AK FF = Ablauf Flockungsfilter nach Aktivkohlefilterung

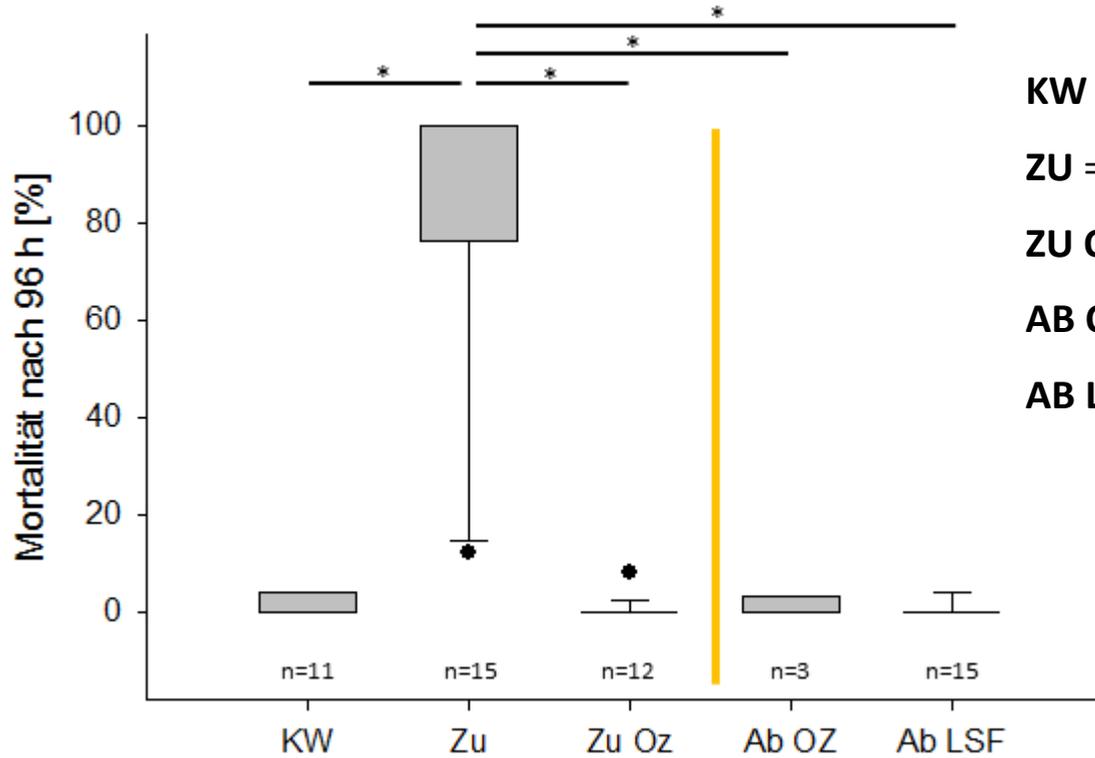


KA Eriskirch





KA Merklingen

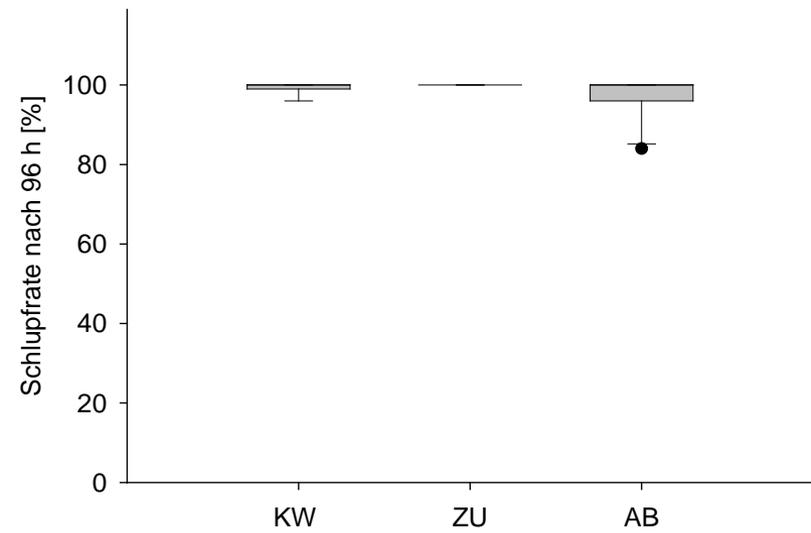
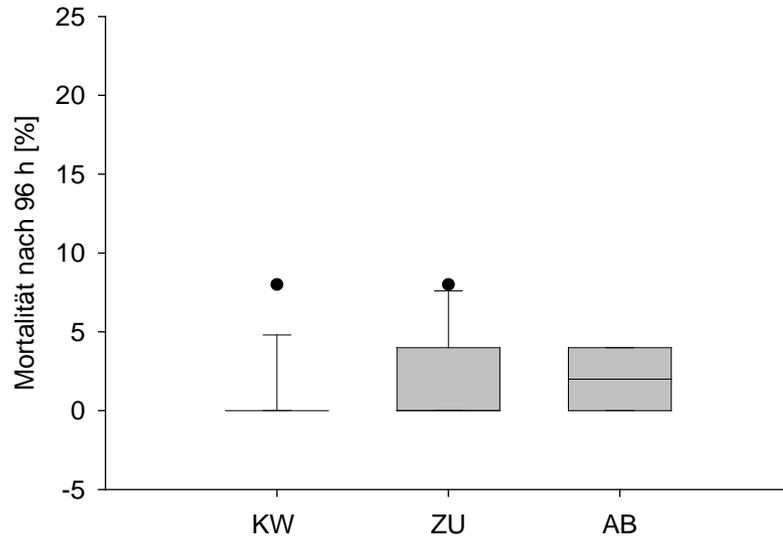


- KW** = Laborkontrolle
- ZU** = Zulauf nach mech. Vorklärung
- ZU OZ** = Zulauf Ozonierung
- AB OZ** = Ablauf Ozonierung
- AB LSF** = Ablauf Langsamsandfilter nach Ozonierung

Alte Anlage
Erweiterte Anlage

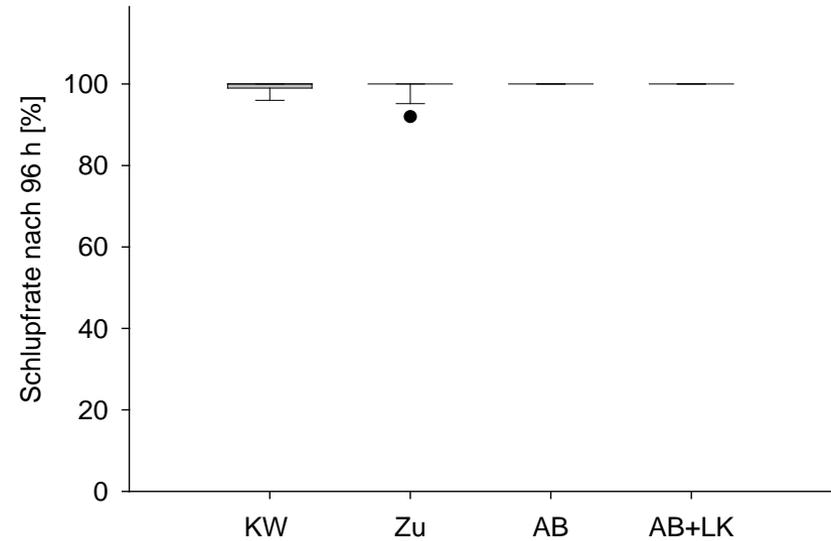
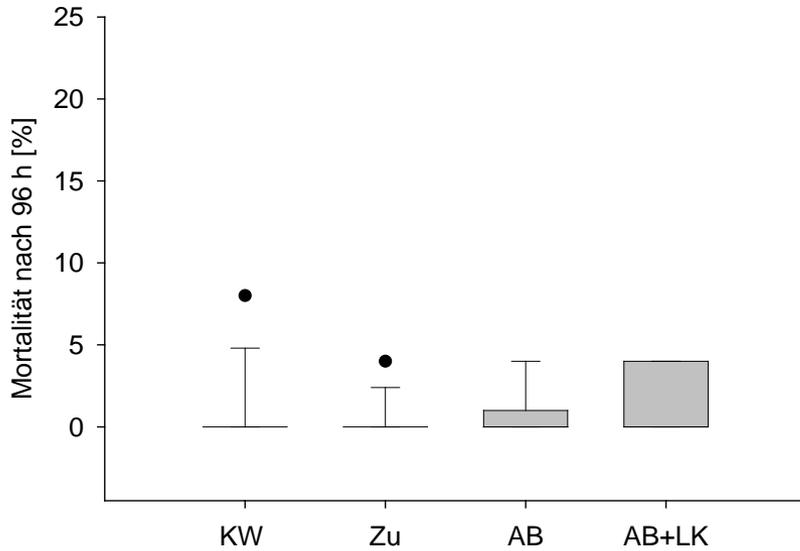


Retentionsbodenfilter Tettung



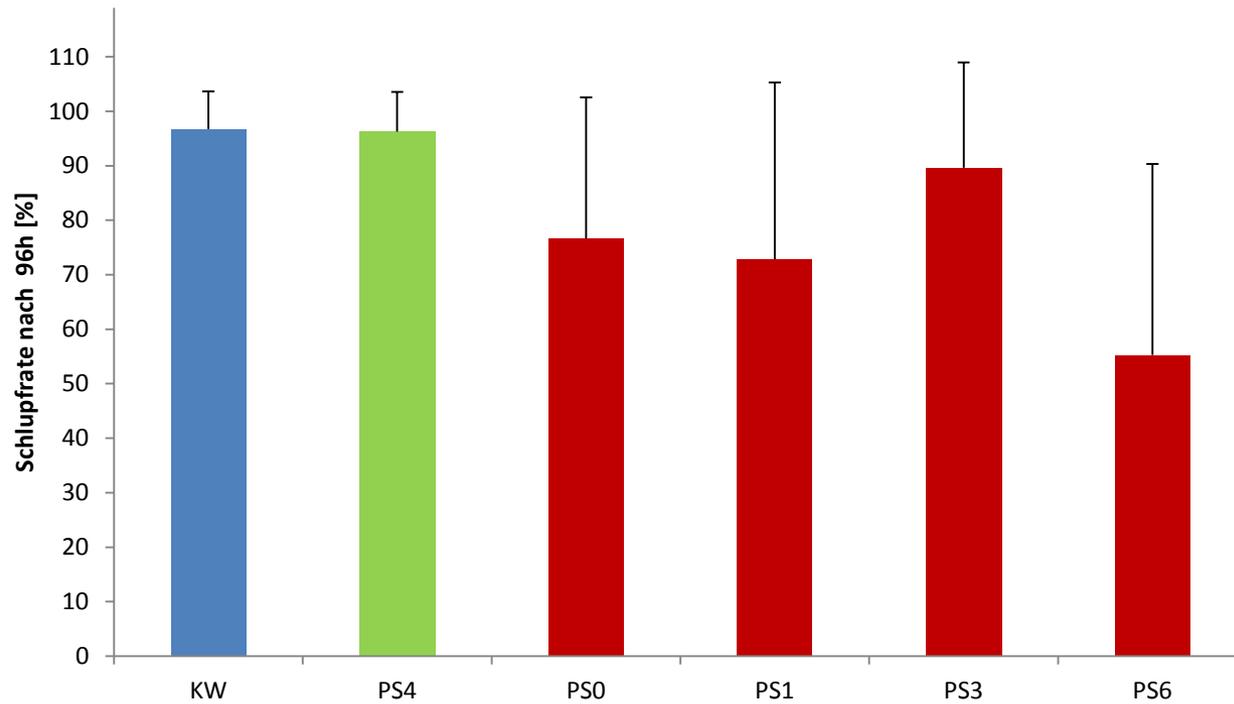


Regenüberlaufbecken Mariatal





Freilandprobestellen





Bewertung der Anlagen



Regenüberlaufbecken Mariatal



- Nur geringe Dioxin-ähnliche und entwicklungstoxische Wirkpotentiale im RÜB nachweisbar
- Der Lamellenklärer zeigte eine gute Eliminationsleistung der gentoxischen Wirkpotentiale

Retentionsbodenfilter Tett nang

- Nur geringe gentoxische, Dioxin-ähnliche und entwicklungstoxische Wirkpotentiale im RBF nachweisbar
- Keine Aussage über Effektivität des RBF möglich

