

**Mikrobielle Stickstoffelimination mit kombinierter partieller  
Nitrifikation/ Anammox (PN/A) in membranbelüfteten  
hochsalinen und Niedrigtemperatur-Festbettreaktoren**

Von der Fakultät für Umwelt und Naturwissenschaften  
der Brandenburgischen Technischen Universität Cottbus-Senftenberg  
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktoringenieur

(Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Ingenieur

Steffen Engelbrecht

aus Forst (Lausitz)

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. habil. Marion Martiensen

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Lorenz Adrian

Tag der mündlichen Prüfung: 28.02.2019

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen herzlich bedanken, die mir bei dieser Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Prof. Dr. Marion Martienssen gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die vielen wertvollen Anregungen, ihre stete Diskussionsbereitschaft und das Interesse, dass sie allen Ergebnissen und Problemen dieser Arbeit entgegenbrachte.

Ich danke Herrn/Frau Prof. Dr. Lorenz Adrian für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Dr. Jörg Böllmann möchte ich für den regen Gedankenaustausch, die Expertise am Mikroskop und vor allem für die zündende Idee mit der Membran danken, auch wenn es am Ende anders kam als geplant.

Dr. Kristina Rathsack möchte ich ganz besonders für die immerwährende Unterstützung in der Molekularbiologie und für das ständige Gegenlesen der Manuskriptentwürfe danken. Zudem möchte ich mich für das beste Büroklima bedanken. Es hat immer Spaß gemacht mit dir.

Bei Dr.-Ing. Ramona Kuhn möchte ich mich für die kompetente Unterstützung in methodischen und labortechnischen Fragen bedanken.

Bei M.Sc. Diana Retschke möchte ich mich für die Last-Minute-Unterstützung in der Molekularbiologie bedanken.

Gutes Laborpersonal ist bei einer solchen Arbeit unverzichtbar und unser Lehrstuhl kann sich glücklich schätzen gleich drei ausgezeichnete „Labordamen“ in seinen Reihen zu wissen. Bei Roswitha Pech möchte ich mich für die Unterstützung an den Großgeräten sowie bei der Aushilfe, wenn mal wieder Not am Mann war, bedanken. Kathrin Krahl hat mir durch ihre sehr genaue Arbeitsweise die FISH- und PCR-Ergebnisse geliefert und auch im Urlaub die Reaktorbetreuung übernommen. Brigitte Herrmann hat die Arbeit in der Mikrobiologie unterstützt. Ich bedanke mich sehr bei Euch für das klasse Arbeitsklima und die ein oder andere inoffizielle Dienstberatung.

Ich danke auch meinen Studenten, die einiges der zeitintensiven Messungen im Rahmen ihrer Abschlussarbeiten geschultert haben. Und wo wir gerade bei zeitintensiven Messungen sind, möchte ich mich ebenfalls bei dem besten Azubi der Welt, Kai Buder, für die genauesten Messergebnisse überhaupt bedanken.

Den Technikern Erwin Banscher und Dipl. Geol. Ralf Regel möchte ich ebenfalls danken für die Unterstützung beim Reaktorbau, der Programmierung der Steuerungseinheiten sowie den zahlreichen Reparaturen der Pumpen und das Wasser schleppen.

Meinen ehemaligen Kollegen Dipl.-Ing. Daniel Joerendt und M-Sc. Mariano Noack spreche ich auch meinen Dank für viele Gedankenaustausche und die ein oder andere Unterstützung im Labor aus.

Des Weiteren bedanke ich mich bei allen weiteren nicht namentlich genannten Mitarbeitern der Lehrstühle Biotechnologie der Wasseraufbereitung und dem Lehrstuhl Wassertechnik.

Ich möchte auch Thomas für das tapfere Korrekturlesen danken. Manchmal haben anderer Leute gebrochene Sprunggelenke doch was Gutes.

Zu guter Letzt möchte ich mich auch bei meiner Familie, meiner Freundin, meinem Sohn, meinen Eltern, meinem Bruder und auch bei meinen Freunden für das Aufhellen meines Gemütes bedanken. Ich liebe Euch.

P.S. Beim Seitenquiz-Team, Olaf und Georg, möchte ich mich auch bedanken. Ihr habt mir, nun seit über fünf Jahren, immer dienstags, das schnöde, aber hart erkämpfte wissenschaftliche Know-how durch völlig nutzloses Nerd-Wissen, gefährliches Halbwissen und Mexikaner ersetzt. Das war und ist immer der beste Ausgleich gewesen.

## **Abstract**

Due to anthropogenic activities, the release of nutrients into the environment has dramatically increased. The main sources are agriculture, municipal and industrial waste water. Elevated nutrient loads have strong effects to biochemical cycles. Within limnic ecosystems, an enrichment of nitrogen or phosphorus cause eutrophication, resulting in less diverse and instable ecosystems.

An adequate wastewater treatment is one crucial point for relieving the ecosystems and protects them of collapsing. The removal of nitrogen compounds is an essential part in wastewater treatment. Nowadays nitrification/ denitrification is the established treatment process. However, due to high oxygen demand it is a very cost intensive technique. The anammox process (anaerobic ammonium oxidation) is a potential alternative to the conventional nitrogen removal. Anammox bacteria create a short-cut in the nitrogen transformation process. By oxidizing ammonium with nitrite as electron acceptor no further oxygen is needed. The combination of partial nitrification and anammox (PN/A) saves up to 60 % oxygen demand compared to the conventional nitrification/ denitrification process. The PN/A process is often installed as side stream application in wastewater treatment plants. The main stream application was so far mainly hampered by low temperatures, low influent concentrations of nitrogen and high organic carbon concentrations.

The current study proofed the suitability of membrane aerated fixed bed biofilm reactors at low temperatures (18 °C - 8 °C) using synthetic wastewater. The distinctive innovation is based on the spatial segregation of the nitrogen metabolizing biofilms of nitrifying bacteria and anammox bacteria. As a result, a stable and reliable degradation rate could be successfully established. Moreover, the developed reactor configuration enabled a facile mechanical removal of nitrifying biofilm for regenerating the reactor capability.

In addition, the reactor setup was successfully adapted to high salt concentrations (5 - 20 g NaCl\*L<sup>-1</sup>), using TOC containing synthetic wastewater (40 - 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup>), at high temperature (30 °C).

Industrial wastewater is often loaded with high salt concentrations. Therefore, the efficiency of salt adapted and non- adapted anammox biomass in presence of different NaCl concentrations (0 - 50 g NaCl\*L<sup>-1</sup>) was also determined. At concentrations below 30 g NaCl\*L<sup>-1</sup>, no significant differences in nitrogen removal rates was measured. However, adapted bacteria were significantly more resistant against higher salt concentrations (>40 g NaCl\*L<sup>-1</sup>).

Furthermore, several long-term storage techniques for anammox biomass were examined. Storing conditions differed in terms of temperature, redox buffer and nutrient supplement. As a result, after 106 days at 4 °C the anammox biomass retained 91 % of its specific activity. Accordingly, the established technique provided an economical and simple method suitable for long-term storage of immobilized anammox biomass.

## **INHALTSVERZEICHNIS**

### **Abbildungsverzeichnis**

### **Tabellenverzeichnis**

### **Abkürzungsverzeichnis**

<b>1. EINLEITUNG UND THEORETISCHE GRUNDLAGEN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Nitritation/ Nitratation .....</b>	<b>3</b>
1.1.1 Nitritation.....	3
1.1.2 Nitratation.....	4
1.1.3 Diskriminierung von NOB .....	5
<b>1.2 Denitrifikation .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Anammox-Bakterien.....</b>	<b>7</b>
1.3.1 Physiologie.....	8
1.3.2 Zellaufbau .....	8
1.3.2.1 Das Anammoxosom.....	8
1.3.2.2 Das Riboplasma.....	9
1.3.2.3 Das Paryphoplasma.....	10
1.3.3 Stoffwechsel.....	10
1.3.4 Hemmung .....	12
1.3.4.1 Nitrit und salpetrige Säure.....	12
1.3.4.2 Organischer Kohlenstoff.....	14
1.3.4.3 Salz.....	15
1.3.4.4 Sauerstoff .....	18
1.3.4.5 Anorganischer Kohlenstoff .....	19
1.3.5 Temperatur und pH.....	19
1.3.6 Vorkommen in natürlichen Gewässern und in der Abwasserbehandlung .....	19
1.3.7 Partielle Nitrifikation/Anammox in der Abwasserbehandlung .....	19
1.3.7.1 OLAND .....	20
1.3.7.2 SHARON .....	20
1.3.7.3 CANON.....	21
1.3.7.4 DEMON .....	21
1.3.7.5 IFAS.....	21
1.3.8 Partielle Nitrifikation/Anammox bei niedrigen Temperaturen und Eignung für die Hauptstrombehandlung .....	22
1.3.9 Membranbelüftung .....	26
1.3.10 Anammox in hochsalinen Wässern.....	27
1.3.11 Lagerung von Anammox-Biomasse .....	28

<b>1.4 Zielstellung der Arbeit</b> .....	<b>28</b>
<b>2 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>30</b>
<b>2.1 Reaktorsysteme</b> .....	<b>30</b>
2.1.1 Synthetisch betriebene Anammox-Reaktoren .....	30
2.1.2 Nitritationsreaktor .....	31
2.1.3 Reaktoren zur partiellen Denitrifikation .....	34
2.1.4 Schlauchreaktoren S1 und S2.....	35
2.1.5 Reaktoraufbau des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors.	38
2.1.6 Reaktoraufbau des membranbelüfteten hochsalinen Festbettreaktors .....	39
<b>2.2 Nährmedien</b> .....	<b>41</b>
2.2.1 Nährmedium der Versuche zur partiellen Denitrifikation .....	44
2.2.2 Nährmedium des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors .....	44
<b>2.3 Lagerungs- und Aktivitätstests</b> .....	<b>45</b>
<b>2.4 Aktivitätsmessungen der an Salz adaptierten und der nicht adaptierten Anammox-Biomasse</b> .....	<b>47</b>
2.4.1 Probenvorbereitung.....	47
2.4.2 Aktivitätsmessung .....	47
2.4.3 Bestimmung der spezifischen Anammox-Aktivität .....	48
<b>2.5 Analytik</b> .....	<b>48</b>
2.5.1 Photometrie.....	48
2.5.1.1 Ammoniumbestimmung.....	48
2.5.1.2 Nitritbestimmung .....	48
2.5.1.3 Nitratbestimmung .....	49
2.5.1.4 Aufschlussverfahren für die Proteinbestimmung .....	49
2.5.1.5 Proteinbestimmung .....	49
2.5.2 TOC-Messung.....	50
2.5.3 Molekularbiologische Methoden .....	50
2.5.3.1 Isolierung bakterieller DNA aus Biofilmen .....	50
2.5.3.2 Polymerasekettenreaktion (PCR).....	50
2.5.3.3 PCR- Methodenprotokolle .....	51
2.5.4 DNA-Extraktion und Amplifizierung mittels quantitativer Realtime-PCR (qPCR)	55
2.5.5 Fluoreszenz <i>in situ</i> Hybridisierung (FISH) .....	57
2.5.6 Isolation von Denitrifikanten mittels Verdünnungsverfahren .....	58
<b>2.6 Berechnungen</b> .....	<b>59</b>
2.6.1 Abbaurate NH <sub>4</sub> -N .....	59

2.6.2	Abbaurrate NO <sub>2</sub> -N .....	59
2.6.3	Bildungsrate NO <sub>3</sub> -N.....	59
2.6.4	Abbaurrate N-Gesamt .....	60
2.6.5	Berechnung der Aktivität .....	60
2.6.6	Maximal mögliche Stickstoffabbau durch heterotrophe Denitrifikation .....	60
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>62</b>
<b>3.1</b>	<b>Synthetischer Anammox-Reaktor .....</b>	<b>62</b>
<b>3.2</b>	<b>Nitritationsreaktor als Vorstufe für einen Anammox-Reaktor .....</b>	<b>63</b>
3.2.1	Messreihe 1 (Belüftungsdauer 1 Minute; divergierende Belüftungspausen) ..	64
3.2.2	Messreihe 2 (Belüftungsdauer 0,75 Minuten/ 0,5 Minuten; divergierende Belüftungspausen).....	65
3.2.3	Messreihe 3 (quasikontinuierliches Belüftungsregime; divergierende Sauerstoffkonzentrationen).....	67
3.2.4	Messreihe 4 (Sauerstoffkonzentration 0,1 mg*L <sup>-1</sup> ; nachgeschaltete Denitrifikationsreaktion; divergierende Temperaturen und TS- Gehalte) .....	68
3.2.5	Messreihe 5 (nachgeschaltete Denitrifikationsreaktion; sequentielle Belüftung; divergierende HRT; wechselnde Belüftungsintervalle) .....	69
3.2.6	Messreihe 6 (Biomasse: Belebtschlamm; quasikontinuierliches Belüftungsregime; Zulauf: pH-Wert 8,5; divergierende HRT und wechselnde Temperaturen).....	71
3.2.7	Messreihe 7 (Belebtschlamm, quasikontinuierliche Belüftung niedrige Temperaturen; unterschiedliche HRT, 12 ≤ 18 °C.....	72
3.2.8	Messreihe 8 (Belebtschlamm, vorgeschaltete Deni, sequentielle Belüftung; unterschiedliche Belüftungsintervalle und –pausen, HRT, Sauerstoffkonzentrationen) 74	74
3.2.9	Messreihe 9 (Modellkläranlage Cottbus; unterschiedliche Belüftungsintervalle und –pausen, Rezirkulationsverhältnisse).....	76
3.2.10	Zusammenfassung Nitritationsreaktor.....	78
<b>3.3</b>	<b>partielle Denitrifikation .....</b>	<b>78</b>
3.3.1	Zusammenfassung partielle Denitrifikation .....	81
<b>3.4</b>	<b>Etablierung eines Anammox-Nitrifikanten-Biofilm-Konsortiums auf einer sauerstoffdurchlässigen Membran .....</b>	<b>81</b>
<b>3.5</b>	<b>PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen .....</b>	<b>87</b>
3.5.1	Etablierung des PN/A- Prozesses durch Verringerung des NO <sub>2</sub> -N/NH <sub>4</sub> -N Verhältnisses .....	87

3.5.2	PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (18–8°C).....	90
3.5.3	Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und Nitratbildung im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor.....	95
3.5.4	Einfluss des Biofilms, des Biofilmalters und der Temperatur auf die Nitratbildung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor .....	99
3.5.5	Einfluss des Biofilms, des Biofilmalters und der Temperatur auf die N-Gesamt-Abbauleistung membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor .....	102
3.5.6	Sauerstoffversorgung und Sauerstoffverbrauch des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors .....	105
3.5.7	Molekularbiologische Ergebnisse des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors.....	106
<b>3.6</b>	<b>Membranbelüfteter PN/A-Festbettreaktor mit erhöhten Salz- und TOC-Konzentrationen.....</b>	<b>112</b>
3.6.1	Einfluss des Biofilmalters auf den N-Gesamt-Abbau im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor .....	115
3.6.2	Einfluss des Biofilmalters und der TOC-Konzentrationen auf die Nitratbildung im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor .....	116
3.6.3	Molekularbiologische Ergebnisse des membranbelüfteten hochsalinen Festbettreaktors.....	122
<b>3.7</b>	<b>Vergleich der Abbauleistung der PN/A bei erhöhten Salzkonzentrationen und bei niedrigen Betriebstemperaturen.....</b>	<b>127</b>
<b>3.8</b>	<b>Vergleich der Bewuchseigenschaften der Trägermaterialien.....</b>	<b>131</b>
3.8.1	Zusammenfassung Trägermaterialien .....	141
<b>3.9</b>	<b>Salztoleranz von adaptiertem und nicht adaptiertem Anammoxbiofilm ...</b>	<b>141</b>
3.9.1	Ergebnisse der adaptierten Anammox-Biomasse.....	143
3.9.2	Ergebnisse der nicht adaptierten Anammox-Biomasse .....	145
<b>3.10</b>	<b>Ergebnisse der Lagerungstests .....</b>	<b>148</b>
3.10.1	Initiale spezifische Anammox-Aktivität (SAA).....	150
3.10.2	Lagerung bei 20 °C.....	150
3.10.3	Lagerung bei 4 °C.....	152
3.10.4	Zusammenfassung Lagerung .....	154
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>155</b>
<b>4.1</b>	<b>Nitritation oder Vorstufe für Anammox.....</b>	<b>156</b>
<b>4.2</b>	<b>Partielle Denitrifikation.....</b>	<b>158</b>

<b>4.3</b>	<b>Etablierung eines Anammox-Nitrifikanten-Biofilm-Konsortiums auf einer sauerstoffdurchlässigen Membran .....</b>	<b>159</b>
<b>4.4</b>	<b>Biofilmzusammensetzung auf der Membran und den Trägern .....</b>	<b>160</b>
4.4.1	Schlauchreaktoren .....	160
4.4.2	Biofilmzusammensetzung auf der Membran und den Trägern der membranbelüfteten Festbettreaktoren .....	161
<b>4.5</b>	<b>PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen .....</b>	<b>162</b>
4.5.1	Etablierung des PN/A- Prozesses durch Verringerung des NO <sub>2</sub> -N/NH <sub>4</sub> -N Verhältnisses .....	162
4.5.2	PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (18 – 8 °C) .....	163
4.5.3	Einfluss der Temperatur auf den N-Gesamtabbau .....	163
4.5.4	Einfluss der Temperatur auf die Nitratbildung .....	165
4.5.5	Einfluss der Belüftungsstrategie .....	166
4.5.6	Einfluss des Biofilmalters bzw. der Biofilmdicke .....	167
4.5.7	Einfluss des IC und des pH-Wertes .....	170
4.5.8	Alternative Ansätze .....	171
4.5.9	Zusammenfassung Niedrigtemperaturreaktor .....	171
<b>4.6</b>	<b>Membrabelüfteter PN/A-Reaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen .....</b>	<b>172</b>
<b>4.7</b>	<b>Salztoleranz von adaptierter und nicht adaptierter Anammox-Biomasse .....</b>	<b>176</b>
4.7.1	Zusammenfassung zur Salztoleranz von adaptierter und nicht adaptierter Anammox-Biomasse .....	179
<b>4.8</b>	<b>Lagerungstests .....</b>	<b>179</b>
4.8.1	Lagerung bei 20°C .....	179
4.8.2	Lagerung bei 4°C .....	180
4.8.3	Zusammenfassung Lagerung .....	180
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>182</b>
<b>6</b>	<b>AUSBLICK .....</b>	<b>184</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>185</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>202</b>

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1 Stickstoffkreislauf mit den wichtigsten Prozessen .....	3
Abbildung 2 Aufbau eines Anammox-Bakteriums der Gattung „ <i>Candidatus</i> Kuenenia stuttgartiensis“ (links: schematisch, rechts: transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme) Abbildung modifiziert nach (van Niftrik et al., 2009).....	9
Abbildung 3 postulierte Anammox-Reaktion an der Membran des Anammoxosoms (Abbildung modifiziert nach van Niftrik et al. (2004) HH: Hydrazin-Hydrolase; NIR: nitritreduzierendes Enzym; HZO: Hydrazin oxidierendes Enzym; ATP: Adenosintriphosphat; ADP: Adenosindiphosphat; Pi: Phosphor .....	11
Abbildung 4 Reaktorkonfiguration des synthetisch betriebenen Anammox-Reaktors...31	
Abbildung 5 Reaktorkonfiguration des Nitritationsreaktors in den Messreihen 1 bis 7. In den Messreihen 6 und 7 wurde Belebtschlamm anstatt Trägermaterial verwendet. ....	32
Abbildung 6 Reaktorkonfiguration des Nitritationsreaktors in der Messreihe 8.....	33
Abbildung 7 Reaktorkonfiguration des Modells der Kläranlage Cottbus in Messreihe 9 .....	34
Abbildung 8 Konfiguration der Reaktoren zur partiellen Denitrifikation .....	35
Abbildung 9 Konfiguration des Schlauchreaktors S1 während der Aufwuchsphase des Nitrifikantenbiofilms.....	36
Abbildung 10 Konfiguration des Schlauchreaktors S2 während der Aufwuchsphase des Nitrifikantenbiofilms.....	37
Abbildung 11 Konfiguration der Schlauchreaktoren S1 und S2 in der Phase des Aufwuchses von Anammox-Biomasse. ....	37
Abbildung 12 Reaktorschema des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors.....	39
Abbildung 13 Reaktorschema des membranbelüfteten hochsalinen-Festbettreaktors.40	
Abbildung 14 Reaktorabbauleistung des synthetisch betriebenen Anammox-Reaktors .....	62
Abbildung 15 TOC Konzentrationen im Ablauf in den verschiedenen Reaktoren zur Untersuchung zur unvollständigen Denitrifikation.....	79
Abbildung 16 NO <sub>2</sub> -N Frachten im Ablauf der Reaktoren zur Untersuchung der unvollständigen Denitrifikation.....	80
Abbildung 17 NO <sub>3</sub> -N Frachten im Ablauf der Reaktoren zur Untersuchung der unvollständigen Denitrifikation.....	81
Abbildung 18 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S1 am Schlauchanfang; AOB wurden mit dem funktionellen Gen <i>amoA</i> ; Anammox-Bakterien über <i>16S rRNA</i> , Denitrifikanten über die Gene <i>nirS</i> und <i>nirK</i> identifiziert. ....	85
Abbildung 19 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S1 am Schlauchende; AOB wurden mit dem funktionellen Gen <i>amoA</i> ;	

Anammox-Bakterien über die <i>16S rRNA</i> , Denitrifikanten über die Gene <i>nirS</i> und <i>nirK</i> identifiziert. ....	85
Abbildung 20 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S2 am Schlauchanfang; AOB wurden mit dem funktionellen Gen <i>amoA</i> ; Anammox-Bakterien über <i>16S rRNA</i> , Denitrifikanten über die Gene <i>nirS</i> und <i>nirK</i> identifiziert. ....	86
Abbildung 21 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S2 am Schlauchende; AOB wurden mit dem funktionellen Gen <i>amoA</i> ; Anammox-Bakterien über <i>16S rRNA</i> , Denitrifikanten über die Gene <i>nirS</i> und <i>nirK</i> identifiziert. ....	86
Abbildung 22 Zu- und Abflafrachten und $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$ Verhältnis (Sekundärachse) im Zulauf der Phasen mit stetiger Verringerung des $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$ Verhältnisses mit dem Ziel der Etablierung des PN/A-Prozesses im membranbelüfteten Festbettreaktor. ....	90
Abbildung 23 N-Gesamt-Abbau und $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau der Phasen M9 bis M23 im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor. ....	96
Abbildung 24 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18. ....	97
Abbildung 25 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung im membranbelüfteten Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18. Hervorhebung der Phasen mit starkem Biofilmaufwuchs auf der Belüftungsmembran des Niedrigtemperatur-Festbettreaktors. ....	98
Abbildung 26 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18. Hervorhebung der Phasen mit keinem oder sehr geringem Biofilmaufwuchs auf der Belüftungsmembran. ....	99
Abbildung 27 Vergleich von N-Gesamt-Abbau und $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung zwischen Phasen mit starkem Biofilmaufwuchs (M13-M17) und Phasen mit keinem oder sehr geringem Biofilmaufwuchs (M9;M10;M12;M19-M24) im membranbelüfteten Festbettreaktor mittels Box-Plots. Die Kreuze markieren den Mittelwert; die mittlere Linie den Median; die obere und untere Linie des Kastens das 25 %- und 75 %-Quartil; oberen und unteren so genannten Whisker die 5 %- und 95 % Perzentile. ....	100
Abbildung 28 Darstellung der $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung in Abhängigkeit vom Biofilmalter aufgeschlüsselt nach den einzelnen Phasen im membranbelüfteten Festbettreaktor. ....	102
Abbildung 29 Darstellung der $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung in Abhängigkeit vom Biofilmalter aufgeschlüsselt nach 30-Tages-Intervallen im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor. ....	102

Abbildung 30 Vergleich von N-Gesamt-Abbau und NO <sub>3</sub> -N-Bilung zwischen Phasen mit 18 °C Betriebstemperatur (M9-M13) und Phasen mit 12-8 °C Betriebstemperatur (M20-M24) im membranbelüfteten Festbettreaktor mittels Box Plots. Die Kreuze markieren den Mittelwert; die mittlere Linie den Median; die obere und untere Linie des Kastens das 25 %-und 75 %-Quartil; oberen und unteren so genannten Whisker die 5 %- und 95 % Perzentile. ....	103
Abbildung 31 Abhängigkeit des N-Gesamt-Abbaus vom Biofilmlalter. M18 (dunkelblau) ist hier als Ausnahme zu betrachten. ....	104
Abbildung 32 Mittelwerte des N-Gesamt-Abbaus der 30-Tages-Intervalle des Biofilmlalters im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor im Temperaturbereich von 18 °C bis 8 °C.....	105
Abbildung 33 Sauerstoffprofil bei dem kompletten Verbrauch von Ammonium im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor bei 8 °C, sowie die Reaktionsgeschwindigkeit auf die Zugabe von Ammonium.....	106
Abbildung 34 Zellzahlen der verschiedenen Gene auf der Membran und auf den Anammox-Trägern des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf 1 mL Biofilmmfrischmasse. ....	107
Abbildung 35 prozentuale Verteilung der Gene <i>nirS</i> , <i>amoA</i> und <i>hzsA</i> im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor auf der Belüftungsmembran und dem Anammox-Träger. ....	108
Abbildung 36 prozentuale Verteilung und zeitliche Änderung der Gene <i>nirS</i> , <i>amoA</i> und <i>hzsA</i> im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor auf dem Anammox-Träger über einen Zeitraum von 159 im Temperaturbereich zwischen 10 und 8 °C. ....	109
Abbildung 37 zusammengesetzte FISH-Bilder des Anammox-Trägers im Niedrigtemperaturreaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink). B: DAPI (blau) / NSO1225 (grün) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NTSPA712 (türkis).....	110
Abbildung 38 zusammengesetzte FISH-Bilder der Biomasse der Belüftungsmembran im Niedrigtemperaturreaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NSM156 (pink), E: DAPI (blau) / NSO1225 (grün) / NIT3 (rot), F: DAPI (blau) / NSTPA712 (türkis).....	111
Abbildung 39 Zusammenhang zwischen Biofilmlalter und N-Gesamt-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. Die dargestellte Gleichung berücksichtigt nicht MS1. ....	116
Abbildung 40 Mittelwerte des N-Gesamt-Abbaus der 30-Tages-Intervalle des Biofilmlalters im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. MS1 wurde nicht berücksichtigt.....	116
Abbildung 41 Abhängigkeit der Nitratbildung vom Biofilmlalter im hochsalinen Reaktor .....	117

Abbildung 42 Mittelwerte der NO <sub>3</sub> -N-Bildung der 30-Tages-Intervalle des Biofilmmalters im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. MS1 wurde nicht berücksichtigt. Dunkelgrau: Balken alle Phasen. Hellgrau: Balken ohne Phasen MS3-MS6, weiße Balken: MS3-MS6 (40 g TOC).....	118
Abbildung 43 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und TOC-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen.....	119
Abbildung 44 Zusammenhang zwischen NO <sub>3</sub> -N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau und TOC-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen .....	120
Abbildung 45 Zusammenhang zwischen NO <sub>3</sub> -N-Ablaufkonzentration und der theoretischen maximalen Denitrifikationskapazität im salinen membranbelüfteten PN/A-Reaktor .....	122
Abbildung 46 Zellzahlen der verschiedenen Gene auf der Membran und auf den Anammox-Trägern des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf einen mL Biofilmfrischmasse.....	123
Abbildung 47 prozentuale Verteilung der Gene <i>nirS</i> , <i>amoA</i> und <i>hzsA</i> im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor auf der Belüftungsmembran und dem Anammox-Träger .....	124
Abbildung 48 prozentuale Verteilung und zeitliche Änderung der Gene <i>nirS</i> , <i>amoA</i> und <i>hzsA</i> im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor auf den Anammox-Trägern über einen Zeitraum von 142 Tagen. ....	124
Abbildung 49 zusammengesetzte FISH-Bilder des Anammox-Trägers im hochsalinen Reaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NTSPA712 (grün).....	125
Abbildung 50 zusammengesetzte FISH-Bilder der Biomasse der Belüftungsmembran im hochsalinen Reaktor; A: DAPI (blau) / EUB (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NSM156 (pink), E: DAPI (blau) / NIT3 (pink), F: DAPI (blau) / NSTPA712 (grün).....	126
Abbildung 51 Vergleich der trägerbezogenen Abbauleistung zwischen dem Salzreaktor und dem Niedrigtemperaturreaktor, sowie Aufschlüsselung nach Temperatur. Für 12 °C wurden nur M19 und M20 verwendet. Die Kreuze markieren den Mittelwert. Die Punkte zeigen Ausreißer an.....	129
Abbildung 52 Darstellung der Abhängigkeit des N-Gesamt-Abbaus von der Temperatur im Temperaturbereich von 8 °C bis 30 °C sowie im Bereich von 8 °C bis 10 °C. Es wurden Werte verschiedener Reaktoren zusammengefasst. ....	130
Abbildung 53 Vergleich der biomassefreien Levapor-Träger (schwarz), verwendet in den, mit synthetischem Abwasser, betriebenen Anammox-Reaktoren sowie bei den Untersuchungen zur Salzadaption, und des biomassefreien, offenporigen PU-Schaumstoffs, welcher als Trägermaterial für Anammox-Biomasse in den membranbelüfteten Reaktoren verwendet wurde. ....	132
Abbildung 54 biomassefreier PU-Schaumstoffträgerwürfel mit 2 cm Kantenlänge.....	133

Abbildung 55 bewachsener PU-Schaumstoffträgerwürfel mit 2 cm Kantenlänge nach 2 Monaten aus einem Anammox-Reaktor, betrieben mit synthetischem Nährmedium. ....	134
Abbildung 56 bewachsener Levapor-Träger aus einem der Anammox-Reaktoren, betrieben mit synthetischem Nährmedium. ....	135
Abbildung 57 membranbelüfteter Niedrigtemperatur-Festbettreaktor. ....	136
Abbildung 58 bewachsene Träger des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors am Ende der Phase M24. ....	137
Abbildung 59 Nahaufnahme des fünften Würfels von rechts des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors, nach der Entnahme eines Teils für molekularbiologische Untersuchungen. ....	137
Abbildung 60 Biofilm auf der Membran des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors am Ende der Phase M24. ....	138
Abbildung 61 mit Anammox-Bakterien bewachsene Kaldnes K3-Träger (oben) Kaldnes K1 Träger(Mitte) aus einem, mit synthetischem Nährmedium betriebenen, Anammox-Reaktoren. Mit diesen wurden die Lagerungsversuche durchgeführt. Die Biochip-Träger (Multi Umwelttechnologie AG, Aue, Deutschland) (unten) wurden nur in geringen Stückzahlen probeweise in den Reaktor gegeben. ....	139
Abbildung 62 Ein Vial der Lagerungstests der, mit Anammox-Biomasse bewachsenen, Kaldnes K1-Träger. ....	140
Abbildung 63 mikrobielle Zusammensetzung der Biomasse vor und nach der Salzadaption (logarithmische Darstellung). <i>16S rDNA</i> repräsentiert die Anzahl aller Bakterien, <i>amoA</i> repräsentiert Ammonium oxidierende Bakterien, <i>hzsA</i> ist das funktionelle Gen von Anammox, <i>nirS</i> und <i>nirK</i> stehen für Denitrifikanten. ....	142
Abbildung 64 FISH-Bilder des genutzten Anammox-Biofilms; A: zusammengesetztes DAPI (blau) / BFU (pink) FISH-Bild, Skalierbalken entspricht 50 µm. B: zusammengesetztes DAPI (blau) / KST157 (pink) FISH-Bild, Skalierbalken entspricht 10 µm. ....	143
Abbildung 65 spezifische Anammox-Aktivität (SAA) [ $\mu\text{mol N}^*\text{g protein}^{-1}\text{h}^{-1}$ ] der adaptierten Anammox-Biomasse. Die SAA ist in $\text{NO}_2\text{-N}$ Aktivität und (hellgraue Balken) und $\text{NH}_4\text{-N}$ Aktivität unterteilt (dunkelgraue Balken). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Die graue durchgehende Linie gibt das $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis an. Die gestrichelte Linie zeigt das optimale $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis. ....	144
Abbildung 66 Proteinkonzentration in den Vials bei verschiedenen Salzkonzentrationen ....	145
Abbildung 67 spezifische Anammox-Aktivität (SAA) [ $\mu\text{mol N}^*\text{g Protein}^{-1}\text{h}^{-1}$ ] der nichtadaptierten Anammox-Biomasse. Die SAA ist in $\text{NO}_2\text{-N}$ Aktivität und (hellgraue Balken) und $\text{NH}_4\text{-N}$ Aktivität unterteilt (dunkelgraue Balken). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Die graue durchgehende	

Linie gibt das $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis an. Die gestrichelte Linie zeigt das optimale $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis. ....	146
Abbildung 68 FISH-Bilder der Bakterienzusammensetzung bei Beginn der Lagerungsversuche; A: DAPI und EUB338 1 (Fluoreszenz-Farbe Cy3); B: DAPI und KST157 (Fluoreszenz-Farbstoff Texas Red); C: DAPI und BAN162 (Fluoreszenz-Farbstoff Oregon Green); D: DAPI und NSO (Fluoreszenz-Farbe Oregon Green). Die Skalierbalken unten links repräsentieren 10 $\mu\text{m}$ . In C1 repräsentiert der Balken 20 $\mu\text{m}$ . ....	149
Abbildung 69 Spezifische Anammox-Aktivität (SAA) der, bei 20°C gelagerten, Anammox-Biomasse. Die SAA ist unterteilt in Ammonium-Aktivität (hellgrau) und Nitrit-Aktivität (dunkelgrau). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Für Bedingung 5, nach 21 Tagen liegen, aufgrund von Fehlern bei der Lagerung, keine Daten vor. Bedingung 9 ist nach 21 Tagen nur durch eine Einfachmessung dargestellt.....	151
Abbildung 70 Spezifische Anammox Aktivität (SAA) der, bei 4°C gelagerten, Anammox-Biomasse. Die SAA ist unterteilt in Ammonium-Aktivität (hellgrau) und Nitrit-Aktivität (dunkelgrau). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. ....	152

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1 Hemmende Wirkung von Nitrit auf unterschiedliche Anammoxbiomasse .....	13
Tabelle 2 Hemmende Wirkung verschiedener organischer Substanzen auf Anammox-Bakterien .....	14
Tabelle 3 Literaturangaben zu Hemmwirkung von Salzen auf verschiedene Anammox-Systeme. Die pH-Werte liegen im neutralen Bereich zwischen 7 und 8. ....	16
Tabelle 4 Hemmende Wirkung von Sauerstoff auf unterschiedliche Anammox-Biomasse .....	18
Tabelle 5 Literaturangaben der Reaktorkonfigurationen und Abbauleistung im Niedrigtemperaturbereich ( $\leq 20$ °C); * = Instabiler Abbau; ** = angegebene Werte mussten umgerechnet werden.....	25
Tabelle 6 synthetisches Nährmedium.....	41
Tabelle 7 Spurenelementelösung .....	41
Tabelle 8 Zusätzliche Chemikalien der Reaktoren und Versuche, welche mit synthetischem Medium durchgeführt wurden .....	42
Tabelle 9 Nährmediumzusammensetzung des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors .....	44
Tabelle 10 Lagerungsbedingungen, verwendete Redoxpuffer und Häufigkeit der Nährstoffzugabe .....	46
Tabelle 11 Bakterien (Zielgen: 16S-rDNA, universal) Reaktionsansatz .....	51
Tabelle 12 Temperatur-Zeitprogramm für 16S-rDNA, universal.....	51
Tabelle 13 Anammox (Zielgen: Anammox spezifische 16S-rRNA) Reaktionsansatz ...	52
Tabelle 14 Temperatur-Zeitprogramm für Anammox spezifische 16S-rRNA.....	52
Tabelle 15 Denitrifikanten (Zielgen: Nitritreduktase- Gen, <i>nirK</i> ) Reaktionsansatz .....	53
Tabelle 16 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen <i>nirK</i> .....	53
Tabelle 17 Denitrifikanten (Zielgen: Nitritreduktase- Gen, <i>nirS</i> ) Reaktionsansatz .....	54
Tabelle 18 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen <i>nirS</i> .....	54
Tabelle 19 Nitrifikanten (Zielgen: Ammoniummonooxygenase, <i>amoA</i> ) Reaktionsansatz .....	55
Tabelle 20 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen <i>amoA</i> .....	55
Tabelle 21 Ziel-Gene, Primer, Sequenzen, Reaktionsmischung und qPCR Bedingungen der DNA Amplifikation .....	56
Tabelle 22 Hauptcharakteristika und Unterschiede der einzelnen Messreihen für eine mögliche Vorstufe (Nitritationsstufe) eines Anammox-Reaktors .....	63
Tabelle 23 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritationsreaktors in der ersten Messreihe. HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur), $\pm$ (Standardabweichung) .....	65
Tabelle 24 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritationsreaktors in der zweiten Messreihe (Phasen 5-9). HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur), $\pm$ (Standardabweichung) .....	66

Tabelle 25 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritionsreaktors in der dritten Messreihe (Phasen 10-18) HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur), $\pm$ (Standardabweichung) .....	67
Tabelle 26 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritionsreaktors in der vierten Messreihe (Phasen 19 – 23).....	69
Tabelle 27 Darstellung maßgeblicher Messgrößen der analysierten Phasen des Nitritionsreaktors, Messreihe 5 (Phase 24–32).....	70
Tabelle 28 Darstellung maßgeblicher Messgrößen der analysierten Phasen des Nitritionsreaktors, Messreihe 6 (Phasen 33–39).....	72
Tabelle 29 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritionsreaktors in der siebten Messreihe .....	73
Tabelle 30 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritionsreaktors in der achten Messreihe.....	75
Tabelle 31 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritionsreaktors in der neunten Messreihe.....	77
Tabelle 32 prozentuale Verteilung der Gene <i>nirS</i> , <i>nirK</i> , <i>16S rRNA Anammox</i> und <i>amoA</i> in den Schlauchreaktoren .....	84
Tabelle 33 Ergebnisse der Phasen mit stetiger Verringerung des NO <sub>2</sub> -N/NH <sub>4</sub> -N Verhältnisses mit dem Ziel der Etablierung des PN/A-Prozesses im membranbelüfteten Festbettreaktor .....	88
Tabelle 34 Abbauverhalten des membranbelüfteten Festbettreaktor bei sinkender Temperatur .....	91
Tabelle 35 zeitliche Veränderung des N-Gesamtabbaus, der NO <sub>3</sub> -N Bildungsrate und Biofilmalter, bei sinkender Temperatur im membranbelüfteten Festbettreaktor	95
Tabelle 36 Abbauverhalten des membranbelüfteten Festbettreaktors mit erhöhten Salzkonzentrationen .....	114
Tabelle 37 TOC-, Zulauf- und Ablaufkonzentrationen, Zulaufkonzentrationen NH <sub>4</sub> -N, maximale heterotrophe Denitrifikationskapazität, Ablaufkonzentrationen NO <sub>3</sub> -N und N-Gesamt-Abbau im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor.....	121
Tabelle 38 Vergleich des N-Gesamt-Abbau pro mit Anammox-Biomasse bewachsener Trägerwürfel der einzelnen Phasen zwischen den membranbelüfteten Festbettreaktor bei erhöhten Salzkonzentrationen (MS) und dem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (M).....	127
Tabelle 39 Aktivität (gesamt und NH <sub>4</sub> -N bzw. NO <sub>2</sub> -N), NO <sub>2</sub> -N/NH <sub>4</sub> -N-Verhältnis, Proteinkonzentration der salz-adaptierten und nicht adaptierten Biomasse ...	147
Tabelle 40 Lagerungsbedingungen des Experiments zur Lagerung von biofilmfixierten Anammox-Bakterien; /: keine Zugabe; + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : steht für die vorgelegte Konzentration von 5,7 mM Nitrat als Redox-Puffer; + MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> : steht für die vorgelegte Konzentration von 3 mM Molybdat als Redox-Puffer .....	149
Tabelle 41 Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Lagerungsbedingungen; + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : bedeutet eine anfängliche Zugabe von 5,7 mM Nitrat als Redoxpuffer; + MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> bedeutet eine anfängliche Zugabe von 3 mM Molybdat als Redoxpuffer;	

+12d, +23d, /.: bedeutet eine Nährstoffzugabe (3 mM  $\text{NH}_4^+$  / 3 mM  $\text{NO}_2^-$ ) alle 12 Tage, 23 Tage bzw. keine Zugabe,. Bei der Nährstoffzugabe während der Lagerung wurden 0,9 mL aus den Vials entfernt und dann mit 0,9 mL Nährmedium mit  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{NH}_4^+$  ersetzt. Das Nährmedium enthielt ebenfalls die richtige Konzentration an Molybdat bzw. Nitrat. ....153

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
AMO	Ammoniak-Monooxygenase
Anammox	Anaerobe Ammonium-Oxidation
AOB	Ammoniumoxidierende Bakterien
C	Kohlenstoff
CANON	Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
C <sub>org</sub>	Organischer Kohlenstoff
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CSTR	Continuously Stirred Tank Reactor
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DEMON	Deammonification Over Nitrite
DO	Dissolved Oxygen
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EPS	extrazelluläre polymere Substanz
FISH	Fluorescence <i>in-situ</i> Hybridazation
HAO	Hydroxylamin-Oxidoreduktase
HH	Hydrazin-Hydrolase
HZO	Hydrazin oxidierendes Enzym
IC	Anorganischer Kohlenstoff
IC <sub>50</sub>	Mittlere inhibitorische Konzentration
ICR	Internal Circulation Reactor
ID	Innendurchmesser
IFAS	Intergrated fixed Film Activated Sludge
MABR	Membrane-Aerated Biofilm Reactor
MBBR	Moving Bed Biofilm Reactor
MBfR	Membrane-Biofilm Reactor
min	Minute
mM	milimolar

MPN	Most Probable Number
N	Stickstoff
N <sub>2</sub>	Distickstoffgas
N <sub>2</sub> O	Lachgas
NaCl	Natriumchlorid
NH <sub>2</sub> OH	Hydroxylamin
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammonium
nm	Nanometer
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrit
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrat
NOB	Nitritoxidierende Bakterien
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OLAND	Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification–Denitrification
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
qPCR	quantitative Polymerase-Kettenreaktion
PN/A	Partielle Nitrifikation/Anammox-Prozess
PSI	Pound per Square Inch
RBC	Rotating Biological Contactor
RT	Raumtemperatur
SAA	Spezifische Anammox-Aktivität
SBR	Sequencing Batch Reactor
SBBR	Sequencing Batch Biofilm Reactor
SHARON	Single reactor system for High activity Ammonium Removal Over Nitrite
SNAD	Simultaneous partial Nitrification, Anammox and Denitrification
SRT	Sludge Retention Time
Temp.	Temperatur
TS	Trockensubstanzgehalt
UMABR	Upflow Membrane-Aerated Biofilm Reactor
V	Volt

## 1. Einleitung und theoretische Grundlagen

Stickstoff ist ein zentraler Baustein biologischer Stoffwechselprozesse. Er ist essentiell zur Bildung organischer Moleküle, wie der Proteine, der Desoxyribonukleinsäuren (DNS) oder des Chlorophyllmoleküls. Allerdings liegt nahezu der gesamte irdische Stickstoff in molekularer Form ( $N_2$ ), in der Erdatmosphäre, vor. Nur wenige Organismen sind in der Lage, Stickstoff in dieser Form zu nutzen. Zu diesen Spezialisten zählen beispielsweise Cyanobakterien und Knöllchenbakterien. Sie transformieren über den Prozess der mikrobiellen Stickstofffixierung den Luftstickstoff in eine bioverfügbare Form. Dabei entstehen Ammoniak ( $NH_3$ ) bzw. Ammonium-Ionen ( $NH_4^+$ ). Als Ammonium ( $NH_4^+$ )- und Nitrat ( $NO_3^-$ )-Ion ist Stickstoff nun auch für Pflanzen und Tiere biologisch verwertbar. Über weitere biochemische Stoffwechselprozesse wird der in den Stickoxiden gebundene Stickstoff wieder der Atmosphäre zugeführt. Der globale Stickstoffkreislauf ist geschlossen.

Mit der industriellen Herstellung von stickstoffhaltigem Kunstdünger zu Beginn des 20. Jahrhunderts griff der Mensch massiv in diesen natürlichen Stickstoffkreislauf ein. Der künstlich produzierte reaktive Stickstoff führte und führt zu einer Überlastung terrestrischer und aquatischer Ökosysteme. Die Konzentrationen der Stickstoffverbindungen im Boden, Grundwasser und Gewässern sind dramatisch gestiegen (Ledoux et al., 2007; Strebel et al., 1989). Als Folge der hohen Stickstoffkonzentrationen werden biologische Arten auskonkurriert und durch wenige stickstofftolerante Arten verdrängt. Dadurch sinkt die biologische Diversität deutlich (WallisDeVries, 2017) und die Stabilität der Ökosysteme gegenüber zunehmender extremer Umweltereignisse vermindert sich dramatisch.

Effiziente Kläranlagen sind notwendig, um Stickstoffeinträge aus Industrie, Verkehr und privaten Haushalten zu minimieren, Ökosysteme zu entlasten und insbesondere Gewässer vor Eutrophierung zu schützen.

Die Entfernung von Stickstoffverbindungen erfolgt mittels mikrobiologischer Umsetzungsprozesse. Im Zuge der Nitrifikation wird das eingetragene  $NH_4^+$  unter aeroben (molekularer Sauerstoff liegt gelöst im Wasser vor) Bedingungen in zwei Teilschritten, der Nitritation zu Nitrit ( $NO_2^-$ ) und der Nitratation zu Nitrat ( $NO_3^-$ ) transformiert. Diese Umwandlung wird von zwei Gruppen von Bakterien katalysiert. Die erste Gruppe sind die ammoniumoxidierenden Bakterien (AOB). Sie verstoffwechseln das Ammonium ( $NH_4^+$ ) zu Nitrit ( $NO_2^-$ ). Die zweite Gruppe sind die nitritoxidierenden Bakterien (NOB). Organis-

men dieser phylogenetischen Gruppe setzen das  $\text{NO}_2^-$  zu  $\text{NO}_3^-$  um. Diese beiden Teilreaktionen sind *in situ* sehr eng aneinandergelockt. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Umsetzung von  $\text{NH}_4^+$  zu  $\text{NO}_2^-$ , da die Oxidation des Ammoniums zu Nitrit relativ langsam verläuft. Beim Nitrifikationsprozess müssen für 1 mg abgebauten Ammonium-Stickstoff 4,6 mg Sauerstoff zugeführt werden. So ist dieser Prozessschritt aus ökonomischer Sicht sehr kostenintensiv. Denn der benötigte Sauerstoff muss mittels Kompressoren in das zu behandelnde Wasser gebracht werden.

In einem zweiten technischen Schritt, der Denitrifikation, wird Nitrat unter Verwendung von organischem Kohlenstoff ( $\text{C}_{\text{org}}$ ) zu molekularem Stickstoff umgesetzt, welcher dann aus dem Wasser als Gas in die Atmosphäre entweicht. Diese Reaktion wird von der phylogenetisch diversen Gruppe der Denitrifikanten durchgeführt. Diese Bakterien nutzen das Nitrat, um unter anoxischen Bedingungen (verfügbarer Sauerstoff liegt nur in chemisch gebundener Form vor) Nitrat über Nitrit, Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid ( $\text{N}_2\text{O}$ , Lachgas) zu molekularem Stickstoff zu verstoffwechseln.

Der Prozess der Nitrifikation/ Denitrifikation ist zwar ein etablierter, aber aufgrund der benötigten Belüftungsleistung, ein sehr kostenintensiver Prozess. Die Entdeckung des Anammox-Prozesses, der anaeroben Ammonium-Oxidation, ermöglicht ein hohes Einsparpotenzial, da lediglich knapp 60 % der konventionell zu erbringenden Belüftungsenergie für eine vorherige partielle Nitrifikation (PN) benötigt werden, d.h. einer Nitritation (De Prá et al., 2016). Eine Etablierung des partiellen Nitrifikation/ Anammox-Prozesses (PN/A) könnte Kläranlagen sogar in Anlagen mit einer positiven Energiebilanz umwandeln, wenn es gelingt, den im Abwasser enthaltenen, organischen Kohlenstoff mittels Faulung zu Methan umzusetzen und dieses zur Stromerzeugung zu nutzen (Kuenen et al., 2011).

Abbildung 1 gibt die wichtigsten Teilreaktionen des Stickstoffkreislaufs wieder. Detaillierte Informationen zu den einzelnen Prozessen werden in den nächsten Abschnitten dargestellt.

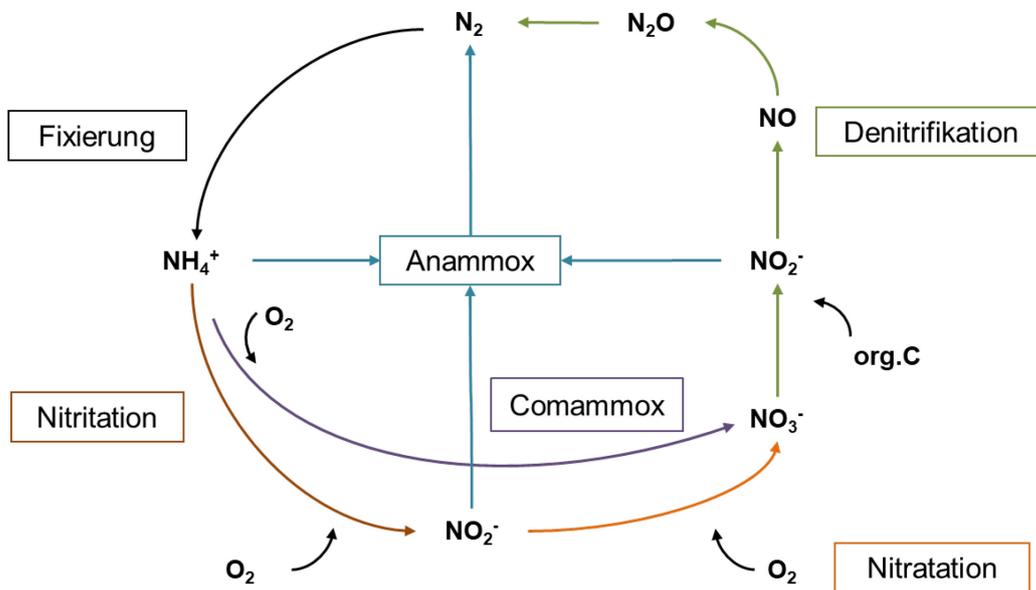


Abbildung 1 Stickstoffkreislauf mit den wichtigsten Prozessen

## 1.1 Nitrifikation/ Nitratation

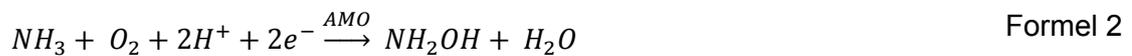
Die Nitrifikation ist in zwei Teilschritte unterteilt, welche von unterschiedlichen Bakteriengruppen durchgeführt werden. Im ersten Teilschritt, der sogenannten Nitritation, wird Ammonium zu Nitrit oxidiert. Beim zweiten Teilschritt, der Nitratation, wird Nitrit zu Nitrat oxidiert. Neuere Studien entdeckten *Nitrospira*-Spezies, die in der Lage sind, die gesamte Nitrifikation durchzuführen (Daims et al., 2015). Sie werden als Comammox-Bakterien (**complete ammonium oxidation**) bezeichnet. Nach jetzigem Kenntnisstand wurden sie zwar in Kläranlagen nachgewiesen, spielen aber nur eine untergeordnete Rolle in der Biozönose der Kläranlagen und werden deshalb nicht näher betrachtet (Gonzalez-Martinez et al., 2016).

### 1.1.1 Nitritation

Beim Prozess der Nitritation wird Ammonium zu Nitrit umgesetzt. In Formel 1 wird die stöchiometrische Reaktionsgleichung dargestellt. Die Bakteriengruppe wird als ammoniumoxidierende Bakterien (AOB) zusammengefasst. Bekannte Vertreter dieser Gruppe sind *Nitrosomonas*, *Nitrospira* und *Nitrococcus* (Prosser, 2007).



In der Zelle laufen zwei enzymkatalysierte Reaktionen ab. Bei der ersten wird Ammoniak ( $NH_3$ ) zu Hydroxylamin ( $NH_2OH$ ) umgesetzt. Verantwortlich dafür ist das membrangebundene Enzym Ammonium-Monooxygenase (AMO) (Hollocher et al., 1981). Das Hydroxylamin wird dann durch das periplasmatische Enzym Hydroxylamin-Oxidoreduktase (HAO) zu salpetriger Säure ( $HNO_2$ ) umgesetzt. Zwei der vier dabei freigesetzten Elektronen werden für den ersten Schritt bei der Reaktion mit dem Enzym AMO genutzt. Die restlichen zwei Elektronen werden für die Energiegewinnung durch Reduzierung von Sauerstoff zu Wasser genutzt (Kowalchuk and Stephen, 2001).



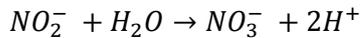
Es wird davon ausgegangen, dass AOB Ammoniak anstatt Ammonium aufnehmen (Kowalchuk and Stephen, 2001). Durch die Freisetzung der Elektronen kann allerdings je nach Pufferung der pH-Wert absinken, was zu geringeren Ammoniakkonzentrationen im Wasser führt. Allerdings wird eine aktive Ammonium-Aufnahme angenommen, welche die geringe Substratverfügbarkeit zum Teil kompensieren könnte (Weidinger et al., 2007). Die Kohlenstofffixierung aus Kohlenstoffdioxid ( $CO_2$ ) findet über den Calvin-Zyklus statt (Cabello et al., 2009). Der optimale pH-Bereich liegt zwischen 6,5 und 8,8 (Kowalchuk and Stephen, 2001). Bei winterlichen Temperaturen (9 – 15 °C) sind *Nitrospira* häufiger anzutreffen (Siripong and Rittmann, 2007), wobei üblicherweise *Nitrosomonas*-Arten die dominierende Spezies in Kläranlagen ist.

### 1.1.2 Nitratation

Die Nitratation ist der Folgeschritt der Nitritation. Beide Teilprozesse werden als Nitrifikation bezeichnet.

Die Nitritoxidoreduktase vollführt die Nitritoxidation. Dieses Enzym enthält Molybden und Eisensulfat-Zentren. Der exakte molekulare Mechanismus der Nitritoxidation ist noch nicht gänzlich aufgeklärt (Cabello et al., 2009).

Ein Mol Nitrit reagiert mit einem halben Mol Sauerstoff, welches aus einem Mol Wasser stammt, zu Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ).



Formel 4

Typische Vertreter der nitritoxidierenden Bakterien werden den Gattungen *Nitrobacter*, *Nitrospira* und *Nitrococcus* zugeordnet (Prosser, 2007). *Nitrobacter* wird allgemein als die bedeutendste Gattung angesehen. Allerdings sind *Nitrospira* oftmals spezialisierter und können somit unter bestimmten Bedingungen dominant sein (Ge et al., 2015). So etwa bei hohen Konzentrationen von anorganischem Kohlenstoff (IC) ( $\text{IC} > 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) (Fukushima et al., 2013). Die drei genannten Gattungen sind mesophil mit Temperaturoptima von über 30 °C. Es wurde „*Candidatus Nitrogota arctica*“ entdeckt, welcher auch noch bei 4 °C aktiv ist (Alawi et al., 2009).

### 1.1.3 Diskriminierung von NOB

Bei der Hemmung der vollständigen Nitrifikation, kommt es darauf an, NOB gegenüber AOB zu diskriminieren. Somit kann eine vollständige Nitrifikation verhindert und Nitrit für den Anammox-Prozess bereitgestellt werden.

Prozesse wie der SHARON-Prozess (**S**ingle reactor system for **H**igh activity **A**mmonium **R**emoval **O**ver **N**itrite) (Hellinga et al., 1998), CANON-Prozess (**C**ompletely **A**utotrophic **N**itrogen **R**emoval **O**ver **N**itrite) (Third et al., 2001) und der DEMON-Prozess (**D**eammonification **O**ver **N**itrite) (Wett, 2007) nutzen Temperaturen von über 25 °C in einem SBR (**S**equencing **B**atch **R**eactor). Es wird hier auf das schnellere Wachstum der AOB gegenüber den NOB bei Temperaturen von über 25 °C gesetzt. Dadurch werden, durch Wahl einer adäquaten hydraulischen Verweilzeit (HRT), die NOB mit der Zeit aus dem Schlamm ausgewaschen (Hellinga et al., 1998). Diese Systeme benötigen recht hohe Zulauffrachten und -konzentrationen (z.B.  $1000 \text{ mg NH}_4^{+} \cdot \text{L}^{-1}$ ), um Sauerstoffakkumulation zu verhindern (Third et al., 2001). Die hohen Ammonium-Konzentrationen führen bei leicht alkalischen pH-Werten, aufgrund des Dissoziationsgleichgewichts zwischen Ammonium und Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ), zu signifikanten Konzentrationen von  $\text{NH}_3$ .  $\text{NH}_3$  hemmt NOB stärker als AOB. Anthonisen et al. (1976) stellten bei *Nitrosomonas spp.* (AOB) Hemmkonzentrationen von 10 bis  $150 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  und bei *Nitrobacter spp.* (NOB) 0,1 bis  $1,0 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  fest. Der gleiche Effekt trifft zwischen Nitrit und salpetriger Säure auf.

Wobei hier wieder NOB stärker durch salpetrige Säure gehemmt werden als AOB (B. Ma et al., 2017; Park and Bae, 2009). Allerdings konnte B. Ma et al. (2017) auch feststellen, dass sich „*Candidatus Nitrotoga*“ (NOB) adaptierte. Bei *Nitrospira* wurde dies nicht festgestellt. Konzentrationen von über  $50 \text{ mg C}^*\text{L}^{-1}$  anorganischen Kohlenstoffs (IC) führten ebenfalls zu einer geringeren Hemmung der AOB gegenüber den NOB. Eine IC-Limitierung führte zu einer stärkeren Hemmung der AOB bei erhöhten Ammoniakkonzentrationen und erhöhten Konzentrationen salpetriger Säure (Torà et al., 2010). Erhöhte Salzkonzentrationen von  $10 \text{ g NaCl}^*\text{L}^{-1}$ , wie sie in Industriekläranlagen vorkommen können, besitzen ebenfalls das Potential AOB gegenüber NOB zu bevorzugen (Liu et al., 2008). Diese Reaktortypen werden bereits häufig zur Teilstrombehandlung eingesetzt (Lackner et al., 2014).

Allerdings eignen sich diese Reaktoren nicht für den Hauptstrom einer Kläranlage, da hier weder die benötigten Temperaturen noch die hohen Ammoniumkonzentrationen vorliegen oder hohe Salzkonzentrationen vorhanden sind.

Es müssen demnach andere Möglichkeiten zur Diskriminierung von NOB gefunden werden. Kornaros et al. (2010) konnten nach mehrstündigen anoxischen Phasen eine stärkere Lag-Phase der NOB im Vergleich zu den AOB feststellen. Mehrstündige Belüftungspausen sind nicht kosteneffizient und somit nicht für praktische Anwendungen geeignet, denn lange Belüftungspausen verringern die mögliche Abbauleistung des Reaktors. Es wird pro Zeiteinheit wenig Sauerstoff zur Verfügung gestellt. Jardin & Hennerkes (2012) konnten NOB mit 8 Minuten Belüftung und 18 Minuten anoxischen Bedingungen unterdrücken. Yang et al. (2015) nutzten erfolgreich ein Belüftungsregime von 15 Minuten Belüftung und 45 Minuten anoxischen Bedingungen, um NOB zu unterdrücken. Gilbert et al. (2014a) testeten anoxische Phasen zwischen 5 und 60 Minuten und erreichten eine signifikante Lag-Phase der NOB ab 15 bis 20 Minuten Belüftungspause.

Mit diesem Belüftungsregimen konnte auch bei niedrigen Temperaturen bis zu  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  operiert werden (Gilbert et al., 2014b). Hier wurde nicht ein Schlammsystem, sondern ein MBBR (**M**oving **B**ed **B**iofilm **R**eactor) eingesetzt.

Die Konzentration des gelösten Sauerstoffs (DO) beeinflusst ebenfalls die partielle Nitrifikation. AOB sind wesentlich sauerstoffaffiner als NOB (Blackburne et al., 2008a; Picioreanu et al., 2016). Dadurch sind sie in der Lage, bei geringeren DO-Konzentrationen höhere Umsatzraten zu erzielen. Allerdings konnten Picioreanu et al. (2016) zeigen, dass es aufgrund größerer AOB-Cluster und des beschriebenen schnelleren Sauerstoffverbrauchs wesentlich schneller zu einer Sauerstofflimitierung und somit zu einer Aktivitätsabnahme kommen kann. Das bedeutet, dass NOB-Cluster insgesamt sauerstoffaffiner sind oder sein können als AOB-Cluster in Flocken, Granulas oder Biofilmen.

So wurden bei Yang et al. (2015) in einem PN/A-Reaktor mit dem oben erwähnten Belüftungsregime 16,9 % bei 1,5 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> des abgebauten NH<sub>4</sub><sup>+</sup> zu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> umgesetzt. Bei 2,5 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> wurden 27,3 % zu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> umgesetzt.

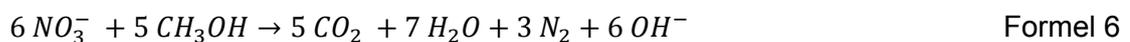
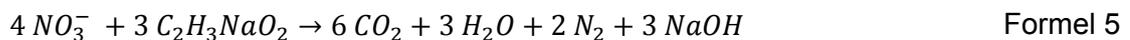
## 1.2 Denitrifikation

Denitrifikation ist ein Prozess in dem Nitrat, Nitrit, Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid als alternative terminale Akzeptoren für den Elektronentransport dienen und Distickstoff das Endprodukt ist. Der Prozess wird nacheinander folgend von verschiedenen Enzymen durchgeführt. Diese sind die Nitratreduktase, die Nitritreduktase, die Stickstoffmonoxidreduktase und die Distickstoffmonoxidreduktase (Cabello et al., 2009).

Denitrifizierende Organismen gehören zu den Proteobakterien, sowie zu den halophilen und thermophilen *Archaeen*. Zwei der bekanntesten Denitrifizierer-Gattungen sind *Pseudomonas* und *Paracoccus* (Mrkonjic Fuka et al., 2007). Abhängig von den anwesenden Bakterien-Gruppen (Martienssen & Schöps, 1997) und dem genutzten Reaktordesign (Cao et al., 2013) ist auch eine partielle Denitrifikation möglich. Hierbei stoppt die Denitrifikation beim Nitrit als Produkt.

Eine effiziente Denitrifikation findet allgemein nur unter anoxischen Bedingungen statt, d.h. unter Abwesenheit von gelöstem molekularem Sauerstoff und lediglich Nitrat als Energiequelle. Des Weiteren ist organischer Kohlenstoff als Elektronendonator essentiell.

Nachfolgend sind zwei Reaktionsgleichungen der Denitrifikation mit Natriumacetat (Formel 5) und Methanol (Formel 6) als Kohlenstoffsubstrat dargestellt (Giustinianovich et al., 2018; Val del Rio et al., 2018).



## 1.3 Anammox-Bakterien

Broda (1977) prognostizierte, dass es lithotrophe Bakterien geben müsse die Ammonium und Nitrat als Edukte für die Stickstoffgasbildung nutzen, da dies aus thermodynamischen und evolutionären Gründen eine Nische darstelle. 1995 wurde der Anammox-Prozess erstmalig nachgewiesen (Van de Graaf et al., 1995).

### 1.3.1 Physiologie

Es sind bislang fünf Gattungen und elf Spezies von Anammox-Bakterien identifiziert worden. Alle wurden taxonomisch als 'Candidatus' klassifiziert, d.h. diese Spezies bzw. Gattungen konnten bisher noch nicht kultiviert werden. Die bisher entdeckten sind „Candidatus Brocadia“, repräsentiert durch *Brocadia fulgida*, *Brocadia sinica*, *Brocadia anammoxidans* (Kartal et al., 2008a; Oshiki et al., 2011; M Strous et al., 1999), „Candidatus Kuenenia“ repräsentiert durch *Kuenenia stuttgartiensis* (Schmid et al., 2000), „Candidatus Anammoxoglobus“ repräsentiert durch *Anammoxoglobus proponicus* (Kartal et al., 2007b) und „Candidatus Jettenia“ repräsentiert durch *Jettenia asiatica* (Quan et al., 2008), *Jettenia caeni* (Ali et al., 2015), „Candidatus Scalindua“ repräsentiert durch *Scalindua sorokinii* (Kuypers et al., 2003), *Scalindua arabica* (Woebken et al., 2008), *Scalindua profunda* (Van de Vossenberg et al., 2013), *Scalindua wagneri* und *Scalindua brodae* beide (Schmid et al., 2003). „Candidatus Kuenenia“, „Candidatus Brocadia“, „Candidatus Anammoxoglobus“ und „Candidatus Jettenia“ wurden alle in aktiviertem Schlamm nachgewiesen. Wohingegen „Candidatus Scalindua“ in Minimum-Sauerstoff-Zonen anzutreffen ist (Kawagoshi et al., 2009).

### 1.3.2 Zellaufbau

Das Cytoplasma der Zelle ist in drei Zellkompartimente mit individuellen Membranen aufgeteilt. Das Paryphoplasma ist das äußere Kompartiment, welches relativ dünn ist und nahe der Zellwand liegt. Das Riboplasma ist das zweite Zellkompartiment. Das größte Kompartiment ist das Anammoxosom.

#### 1.3.2.1 Das Anammoxosom

Das Anammoxosom ist einzigartig und in ihm findet der Stickstoff-Stoffwechselprozess der Bakterien statt (van Niftrik et al., 2004). Es ist eine unabhängige Zellorganelle ohne permanente Bindungen zu anderen Kompartimenten (Neumann et al., 2014).

Das Anammoxosom liegt in gefalteter Form vor (Abbildung 2). Teilweise hat es auch röhrenförmige Ausstülpungen. Vorteil der Faltung ist, dass Proteine in Abhängigkeit der Membranbiegung besser andocken können. Des Weiteren schafft eine Faltung mehr reaktive Oberfläche (van Niftrik et al., 2008). Es wird durch eine einzigartige Ladderan-Lipid-Schicht von den anderen Zellkompartimenten abgetrennt. Die Schicht umfasst drei

bis fünf linear-verkettete Cyclobutan-Teile mit Cis-Ring-Verbindungen welche als Fettsäuren, Fettalkohole und verschiedenen Ethern oder Estern vorliegen (Sinninghe et al., 2005). Grund für diese Einzigartigkeit ist der langsame Katabolismus von Anammox. Die Existenz der Ladderan-Lipide wird als essentiell für den Anammox-Prozess angesehen. Aber die genaue Funktion und deren Bildung sind noch spekulativ (Neumann et al., 2014). Jedenfalls wird eine sehr geringe Permeabilität der Anammoxosom-Membran benötigt, um eine ausreichende ATP-Synthese durchführen zu können. Ansonsten würde sich kein hinreichender Ionengradient entlang der Membran etablieren (van Niftrik & Jetten, 2012). In allen Gattungen konnten innerhalb des Anammoxosoms von van Niftrik et al. (2008b) Glycogen-Partikel nachgewiesen werden. Deren Funktion ist allerdings noch nicht aufgeklärt.

Die Zellgrößen der Gattungen *Brocadia* und *Kuenenia* liegen bei 800 nm, wobei das Anammoxosom 61 %  $\pm$  5 % des Zellvolumens einnimmt. *Scalindua* besitzt einen durchschnittlichen Durchmesser von 950 nm. Das Anammoxosom ist absolut ähnlich groß wie bei den zuvor genannten. Verhältnismäßig nimmt es nur 51 %  $\pm$  8 % des Zellvolumens ein. *Anammoxoglobus* weist einen Durchmesser von 1100 nm auf. Hier sind ca. zwei Drittel (66 %  $\pm$  6 %) des Zellvolumens mit dem Anammoxosom ausgefüllt (van Niftrik et al., 2008b).

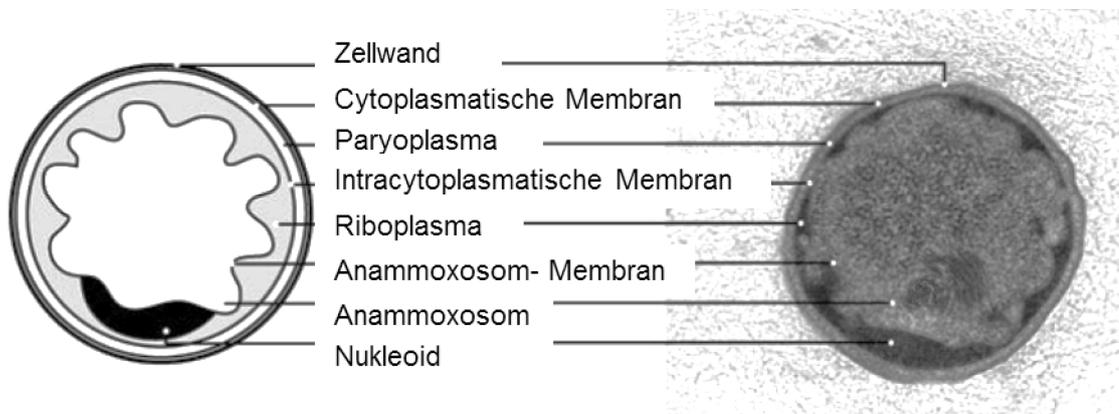


Abbildung 2 Aufbau eines Anammox-Bakteriums der Gattung „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ (links: schematisch, rechts: transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme) Abbildung modifiziert nach (van Niftrik et al., 2009).

### 1.3.2.2 Das Riboplasma

Das Riboplasma ähnelt stark dem, anderer Bakterien. In ihm befinden sich die Ribosomen und das Nukleoid. Hier finden vermutlich Transkriptions- und Translationsprozesse

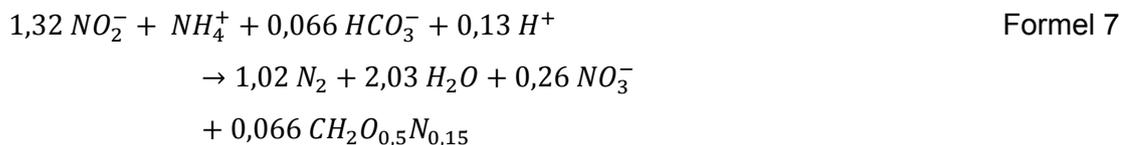
statt. Es ist allerdings noch nicht geklärt, wie Anammox-Bakterien in der Lage sind Transport-Proteine vom Riboplasma in das Anammoxosom oder Paryphoplasma zu befördern (van Niftrik & Jetten, 2012).

### 1.3.2.3 Das Paryphoplasma

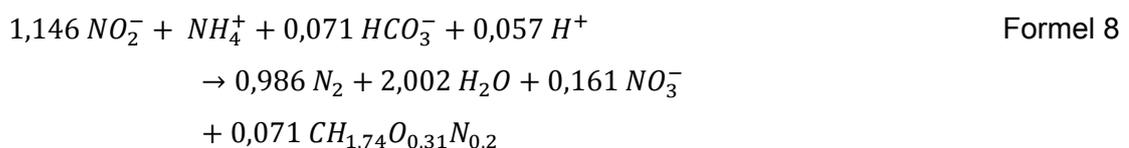
Es ist nicht klar, ob das Paryphoplasma ein cytoplasmisches Kompartiment oder ein periplasmischer Raum ist. Genetische Untersuchungen legen nahe, dass es sich um ein reguläres Periplasma handelt. Es sprechen einige experimentelle Beobachtungen wie bspw. das Vorhandensein des Zellteilungsrings im Paryphoplasma für die These eines cytoplasmischen Kompartiments (van Niftrik & Jetten, 2012).

### 1.3.3 Stoffwechsel

Anammoxbakterien sind chemolithoautotroph. Das bedeutet, diese Bakterien beziehen ihre Energie aus anorganischen Verbindungen, nutzen anorganische Stoffe als Elektronendonatoren und beziehen den Kohlenstoff für ihren Baustoffwechsel aus  $\text{CO}_2$ . Sie leben im anaeroben bzw. anoxischen Milieu. Der Anammox-Prozess benötigt Ammonium, Nitrit sowie Hydrogencarbonat. Hierbei werden Ammonium und Nitrit nicht zu gleichen Teilen benötigt. Es entstehen Stickstoffgas, Wasser, Nitrat und Biomasse. Strous et al. (1998) stellten eine allgemein gültige stöchiometrische Anammox-Gleichung auf.



Lotti et al. (2014b) untersuchte fein suspendierte Anammox-Biomasse, bei der der Massentransfer aufgrund sehr geringer Partikelgrößen nicht gehemmt war und kam zu folgender stöchiometrischer Gleichung



Der höhere Nitritverbrauch bei Anammox ist nötig, da auch Teile zu Nitrat oxidiert werden, um die Kohlenstofffixierung zu fördern (Strous et al., 1999).

Es wird angenommen, dass Ammonium und Hydroxylamin mit Hilfe der Hydrazin-Hydrolase (HH) zu Hydrazin verbunden werden. Hydrazin liegt dann im Anammoxosom vor und wird folgend, unter Nutzung eines Hydrazin oxidierenden Enzyms (HZO), weiter oxidiert (Jetten et al., 1998; Lindsay et al., 2001). Bei der im Anammoxosom stattfindenden Oxidation entstehen vier Protonen und vier Elektronen. Diese vier Elektronen werden mit fünf Protonen des Riboplasmas genutzt, um mit einem nitritreduzierendem Enzym Nitrit zu Hydroxylamin zu reduzieren (van Niftrik et al., 2004). Es wird ein Protonengradient erzeugt, da im Riboplasma Protonen verbraucht und im Anammoxosom produziert werden. Es entsteht eine pH-Wert-Differenz (pH-Wert im Anammoxosom etwas niedriger), ebenso entsteht auch ein elektrischer Gradient bei dem das Anammoxosom positiv, im Vergleich zum Riboplasma, geladen ist (van Niftrik et al., 2004). Dieses Gefälle kann die ATP-Synthese katalysieren. Hier ist eine membrangebundene Adenosintriphosphatase maßgeblich beteiligt. Die Protonen fließen, dem Gradient folgend, zurück in das Riboplasma (van Niftrik et al., 2004).

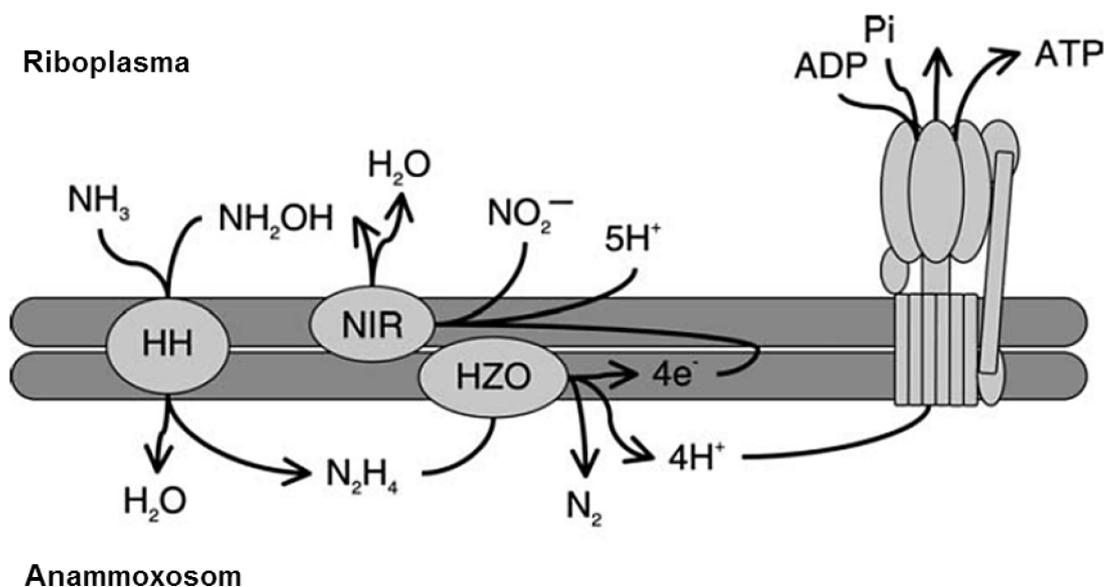


Abbildung 3 postulierte Anammox-Reaktion an der Membran des Anammoxosoms (Abbildung modifiziert nach van Niftrik et al. (2004) HH: Hydrazin-Hydrolase; NIR: nitritreduzierendes Enzym; HZO: Hydrazin oxidierendes Enzym; ATP: Adenosintriphosphat; ADP: Adenosindiphosphat;  $\text{P}_i$ : Phosphor

Neben Ammonium können manche Anammox-Bakterien auch Eisen(II)-Formiat, Acetat, Propionat und Methylamine als Elektronendonatoren nutzen (Kartal et al., 2007, 2008;

Strous et al., 2006). Die Kohlenstofffixierung läuft über den Acetyl-Co-Enzym-A-Umsetzungspfad. Sie nutzen dabei Hydrogencarbonat als Kohlenstoffquelle, um daraus Zellbiomasse zu gewinnen (Strous et al., 2006).

Als Verdopplungszeiten werden unter Idealbedingungen in einer Bandbreite zwischen 7 – 11 Tagen angegeben. Dies sind 7 Tage bei Oshiki et al. (2011), 11 Tage bei Strous et al. (1998) und 10,6 Tage bei Jetten et al. (2001). Lotti et al. (2015a) erreichte durch Selektierung eine Verdopplungszeit von 3 Tagen. Neueste Untersuchungen konnten mit in Gel immobilisierten Anammox-Bakterien der Spezies „*Candidatus Brocadia sinica*“ bzw. „*Candidatus Jettenia caeni*“ bei 37 °C Verdopplungszeiten von 2,1 bzw. 3,9 Tage erreichen (Zhang et al., 2017).

Die charakteristische langsame Wachstumsgeschwindigkeit der Anammox-Bakterien wird teilweise kompensiert durch eine hohe Substrataffinität ( $K_s < 5 \mu\text{M NH}_4^+$ ) (Jetten et al., 2009). Puyol et al. (2013) belegen hier allerdings auch eine große Bandbreite an Ergebnissen zwischen einzelnen Studien von 0,003 bis 13,7  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

### 1.3.4 Hemmung

Die für diese Arbeit wichtigsten Hemmstoffe für den Anammox-Prozess sind Nitrit bzw. salpetrige Säure ( $\text{HNO}_2$ ), Salz, insbesondere NaCl, Sauerstoff und organischer Kohlenstoff.

#### 1.3.4.1 Nitrit und salpetrige Säure

In der Literatur gibt es verschiedene Aussagen darüber, ob salpetrige Säure ( $\text{HNO}_2$ ) (Fernández et al., 2012; Jin et al, 2012) oder Nitrit die Haupthemmstoffe (Lotti et al., 2012) sind. Lotti et al. (2012) stellten bei zwei unterschiedlichen pH-Werten (6,8 und 7,8), was einer Konzentrationsänderung von  $\text{HNO}_2$  um den Faktor 10 entsprach, nur eine Aktivitätsabnahme von maximal 2,7 % fest. Puyol et al. (2014b) haben in einem Modell festgestellt, dass bei pH Werten von über 7,1 Nitrit die Hemmung maßgeblich beeinflusst. Die Hemmkonstante von Nitrit wird dort mit 40  $\text{mM N}\cdot\text{L}^{-1}$  angegeben. Die Hemmkonstante von salpetriger Säure ist mit 8,3  $\mu\text{M N}\cdot\text{L}^{-1}$  angegeben. In der folgenden Tabelle sind einige Nitritkonzentrationen aufgeführt, die zur (teilweisen) Hemmung führten. Es bleibt festzuhalten, dass die Schwankungsbreite groß ist. Deshalb sollte für die jeweils verwendete Biomasse die individuelle Hemmkonzentration ermittelt werden. Hohe Nitritkonzentrationen entstehen zum einen, wenn Zwei-Reaktor-Systeme verwen-

det werden oder wenn in Ein-Reaktor-Systemen die Anammox-Reaktion langsamer abläuft als die Nitritbildung (z. B. durch niedrige Temperaturen) und sich somit Nitrit akkumuliert, was dann zusätzlich Anammox hemmen kann.

Tabelle 1 Hemmende Wirkung von Nitrit auf unterschiedliche Anammoxbiomasse

Nitrit-konzentration [mM]	Temp.	pH	Reaktorsystem/ BM-Typ	Wirkung	Referenz
15	30	7,4-7,5	Suspendiert/granular	komplett	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
10,8	30	7,4-7,5	Suspendiert	IC 50	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
13,2	30	7,4-7,5	Granular	IC 50	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
25	30	7,8	Suspendiert	IC 50	Dapena-Mora et al. (2007)
25,6	30	7,8	Biofilm	IC 50	Fernández et al. (2012)
10	30	7,8	Flockuliert	70 % Hemmung	Fernández et al. (2012)
28,6	30	7,5	Granular	IC 50	Lotti et al. (2012)
3	30		Granular	Keine Hemmung	Abma et al. (2010)
20	37		Festbett	Noch keine Hemmung	Isaka et al. (2007)
8,6	35	7-8	MBBR	Noch keine Hemmung	Jaroszynski et al. (2012)
16	37	7,8	Resuspendierter Biofilm	IC 50	Oshiki et al. (2011)
53,6	30		Gel Carriers	90 % Hemmung	Kimura et al. (2010)

30,7	30	Gel Carriers	37 % Hemmung	Kimura et al. (2010)
19,6	30	Gel Carriers	Noch keine Hemmung	Kimura et al. (2010)
14,3mM		Membranbelüfteter Biofilm	Keine Hemmung	Pellicer-Nächer et al. (2014)

### 1.3.4.2 Organischer Kohlenstoff

Organischer Kohlenstoff liegt im Hauptstrom-Zulauf einer Kläranlage vor. Dieser kann durch Hochlaststufen durch Belüftung entfernt werden. Allerdings werden Restkonzentrationen vorhanden sein. Diese könnte Anammox negativ beeinflussen. Methanol und Ethanol haben eine vergleichsweise starke Hemmwirkung, wohingegen Acetat recht gut toleriert wird.

Tabelle 2 Hemmende Wirkung verschiedener organischer Substanzen auf Anammox-Bakterien

Verbindung	Konz. [mM]	pH	Reaktorsystem/ BM-Typ	Wirkung	Referenz
Acetat	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	1 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)
Acetat	39	7,8	suspendiert	IC 50	Dapena-Mora et al. (2007)
Acetat	3		suspendiert /Batch	5 % Hemmung	Güven et al. (2005)
Propansäure	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	2 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)
Glukose	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	5% Steigerung der Aktivität	Oshiki et al. (2011)

Ameisensäure	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	36 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)
Methanol	0,5		suspendiert /Batch	Komplette Hemmung	Güven et al. (2005)
Methanol	5		Gel Carrier /Batch	75 % Hemmung	Isaka et al. (2008)
Methanol	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	86 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)
Ethanol	1	7,8	Resuspendierter Biofilm	91 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)

#### 1.3.4.3 Salz

Salz, insbesondere Natriumchlorid (NaCl), wird in vielen Industriebereichen eingesetzt. Industriebereiche bei denen erhöhte Salzkonzentrationen auftreten können, sind: die chemische Industrie, die pharmazeutische Industrie, die ölverarbeitende Industrie, die fischverarbeitende Industrie sowie die Textilindustrie, hier im Besonderen die Färbung von Textilien. Weitere Abwässer mit erhöhten Salzkonzentrationen sind Sickerwässer von Deponien, Gülle von Mastanlagen sowie Abwässer aus Gerbereien (Bassin et al., 2012; Jin et al., 2011; Ma et al., 2013; Val del Rio et al., 2018). Salz ist als Stressor für Bakterien bekannt und führt deshalb zu einer Veränderung der mikrobiellen Gemeinschaft und/ oder zu einer Verringerung der spezifischen Aktivität (Chen et al. 2015; Gonzalez-Silva et al. 2017).

Yang et al. (2011) erreichten mit einer granularen „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ dominierten Biomasse eine stabile Reaktorleistung bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Liu et al. (2009) konnten Anammox-Bakterien in einem Festbettreaktor an  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  adaptieren. Erst über  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  wurde die Reaktorleistung instabil. Ma et al. (2012) untersuchten die Auswirkungen von Salzschocks auf Anammox-Bakterien. Bei Konzentrationen größer  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$

Bei der Hemmung von Anammox durch Salz muss beachtet werden, dass mithilfe von Adaptierung weit höhere Toleranzen gegenüber Salz erzielt werden können (Jin et al., 2011). Es wird auch berichtet, dass beispielsweise schon  $152 \text{ mg CaCl}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  die Toleranz erhöhen könne (Xing et al., 2015b).

Auch die Verteilung der verschiedenen Anammox- Gattungen in unterschiedlichen Habitaten ist stark von der Salzkonzentration abhängig (Sonthiphand et al., 2014). Der Salzgehalt war der Hauptselektionsfaktor für die Artenvielfalt. „*Candidatus Scalindua*“ war die Hauptgattung in Salzwässern. „*Candidatus Brocadia*“ und „*Candidatus Jettenia*“ kamen am häufigsten in nicht salzbelasteten Habitaten vor. „*Candidatus Kueningenia*“ war ebenfalls in fast allen Habitaten vertreten. „*Candidatus Kueningenia*“ und „*Candidatus Brocadia*“ stehen sich phylogenetisch am nächsten.

Tabelle 3 Literaturangaben zu Hemmwirkung von Salzen auf verschiedene Anammox-Systeme. Die pH-Werte liegen im neutralen Bereich zwischen 7 und 8.

Verbindung	Konz. [g*L <sup>-1</sup> ]	Gattung	Reaktorsystem/ BM-Typ	Wirkung	Referenz
NaCl	30	„ <i>Ca. B. sinica</i> “	Resuspendierter Biofilm	30 % Hemmung	Oshiki et al. (2011)
NaCl	5,4	„ <i>Ca. B. caroliensis</i> “, „ <i>Ca. B. fulgida</i> “	suspendiert	IC <sub>50</sub>	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
NaCl	11,7	„ <i>Ca. B. caroliensis</i> “, „ <i>Ca. B. fulgida</i> “	suspendiert	Komplette Hemmung	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
NaCl	8,7	„ <i>Ca. K. stuttgartensis</i> “	suspendiert	Keine Hemmung	Dapena-Mora et al. (2007)
NaCl	13,5	„ <i>Ca. K. stuttgartensis</i> “	suspendiert	IC <sub>50</sub>	Dapena-Mora et al. (2007)
KCl	200 mM	„ <i>Ca. K. stuttgartensis</i> “	suspendiert	IC <sub>50</sub>	Dapena-Mora et al. (2007)

NaCl	15	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR adaptiert	Kein neg. Effekt	Dapena-Mora et al. (2010)
NaCl	13,5	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR nicht adaptiert	IC <sub>50</sub>	Dapena-Mora et al. (2010)
90 %NaCl 10 % KCl	30	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR	Höchste Aktivität	Kartal et al. (2006)
90 %NaCl 10 % KCl	60	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR	IC <sub>50</sub>	Kartal et al. (2006)
90 %NaCl 10 % KCl	90	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR	Komplette Hemmung	Kartal et al. (2006)
90%NaCl 10% KCl	45	„Ca. K. stuttgartensis“	SBR	Komplette Hemmung bei längerfristiger Aussetzung	Kartal et al. (2006)
NaCl	15	Keine Angabe	UASB	Keine Hemmung	Xing et al. (2015b)
NaCl	50	„Ca. S. wagneri“	Marine Anammox	Keine Hemmung	Wei et al. (2016)
NaCl	30	Keine Angabe	UASB adaptiert	45,1 % Hemmung	Jin et al. (2011)
NaCl	30	Keine Angabe	UASB nicht adaptiert	67,5 % Hemmung	Jin et al. (2011)
NaCl	30	„Ca. K. stuttgartensis“	RBC/O-LAND nicht adaptiert	96 % Hemmung	Windey et al. (2005)
NaCl	30	„Ca. K. stuttgartensis“	RBC/O-LAND adaptiert	58 % Hemmung	Windey et al. (2005)

## 1.3.4.4 Sauerstoff

Sauerstoff ist nötig für die partielle Nitrifikation und somit für die Bereitstellung von Nitrit, allerdings wirkt Sauerstoff stark hemmend auf Anammox-Bakterien (Joss et al., 2011; Kalvelage et al., 2011; Oshiki et al., 2011). Der negative Effekt von Sauerstoff ( $O_2$ ) kann durch Biofilm oder granuläre Biomasse reduziert werden. Vázquez-Padín et al. (2010) maßen bei granulärer Biomasse und einer  $O_2$ -Konzentration von  $1,5 \text{ mg } O_2 \cdot L^{-1}$  nach 0,1 mm Tiefe keinen Sauerstoff mehr im Granular. Selbst bei  $8 \text{ mg } O_2 \cdot L^{-1}$  konnten nach 0,2 mm Tiefe kein Sauerstoff mehr nachgewiesen werden. Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass niedrige Sauerstoffkonzentrationen auch für die PN/A vorteilhaft sind um NOB zu diskriminieren.

Tabelle 4 Hemmende Wirkung von Sauerstoff auf unterschiedliche Anammox-Biomasse

Hemmende Verbindung	Konzentration [ $\text{mg} \cdot L^{-1}$ ]	pH	Reaktorsystem/ BM-Typ	Wirkung	Referenz
Sauerstoff	0,2		SBR	komplett	Joss et al. (2011)
Sauerstoff	0,36		BM aus OMZ aus Meer	$IC_{50}$	Kalvelage et al. (2011)
Sauerstoff	3,83		suspendiert	$IC_{50}$	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
Sauerstoff	2,24		granular	$IC_{50}$	Carvajal-Arroyo et al. (2013)
Sauerstoff	2,02	7,8	Resuspendierter Biofilm	$IC_{50}$	Oshiki et al. (2011)
Sauerstoff	0,5 % $O_2$ -Sättigung		granular	komplett	Strous & Jetten (1997)
Sauerstoff	0,2		Flocken	$IC_{50}$	Ijioma (2013)

#### 1.3.4.5 Anorganischer Kohlenstoff

Anorganischer Kohlenstoff ist für Anammox essentiell. Wenn dieser fehlt, kommt es zu Leistungseinbußen. Ma et al. (2014) untersuchten in einem Nitrifikation/ Anammox-Reaktor (MBBR) die Auswirkungen von zu niedrigen anorganischen Kohlenstoff-Konzentrationen (40 % der stöchiometrisch benötigten Mengen). Resultat war eine Verschlechterung der Abbaueffizienz von Stickstoff von 78 % auf 46 %. Im Reaktor lag eine Konzentration von 9,6 mg C\*L<sup>-1</sup> vor. Durch die Limitierung setzten sich die NOB Anammox durch und konnten um das 6-fache vermehren. Somit stellten sie 17 % der Gesamtpopulation. Es handelte sich hier um *Nitrospira* spp. Auch nach Beendigung der Limitierung blieb die Dominanz von *Nitrospira* spp. bestehen.

#### 1.3.5 Temperatur und pH

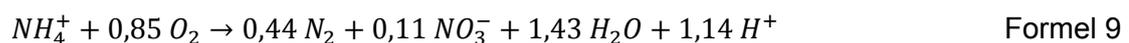
Maximale Aktivität kann bei 35 – 40 °C erreicht werden. Bei 45 °C kommt es zur Lysis der Anammox-Zellen. In Langzeit-Experimenten können in einem SBR Reaktor 18 °C als Arbeitstemperatur genutzt werden. Bei 15 °C wurde der Prozess instabil (Dosta et al., 2008).

Ältere Studien geben als optimalen pH-Bereich einen Bereich zwischen 6,5 und 8,3 an (Egli et al., 2001; Marc Strous et al., 1999; Van Hulle et al., 2007). Neuere Studien geben einen engeren optimalen pH-Bereich mit 7,0 bis 7,5 an (Carvajal-Arroyo et al., 2014; Lu et al., 2017; Puyol et al., 2014a; Tomaszewski et al., 2017).

#### 1.3.6 Vorkommen in natürlichen Gewässern und in der Abwasserbehandlung

#### 1.3.7 Partielle Nitrifikation/Anammox in der Abwasserbehandlung

Bei der PN/A wird wesentlich weniger Sauerstoff benötigt als dies bei der vollständigen Nitrifikation. De Prá et al. (2016) stellten eine Gleichung für die PN/A dar.



Es werden lediglich 0,85 mol Sauerstoff anstatt der 2 mol Sauerstoff bei der vollständigen Nitrifikation benötigt. Dies bedeutet eine Ersparnis von 57,5 %. Des Weiteren werden 11 % des umgewandelten Ammoniums zu Nitrat umgesetzt.

Lackner et al. (2014) untersuchten 100 Anlagen, welche PN/A nutzen. 50 % der Anlagen waren als SBR, 20 % als IC Reaktoren (Internal Circulation) und 10 % als MBBR ausgelegt. 75 % der Anlagen nutzen PN/A zur Behandlung von Schlammzentrat im Nebenstrom. 25 % der Anlagen werden bei industriellen Abwässern eingesetzt. Diese haben meist, wie auch Schlammzentrat, ein niedriges C/N Verhältnis. Die  $\text{NH}_4\text{-N}$  Konzentrationen liegen gewöhnlich zwischen 500 und 1500  $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}$ . Die meisten SBR-Reaktoren nutzen das DEMON-Verfahren. IC-Reaktoren sind aus dem zweistufigen SHARON/ANAMMOX-Prozess entwickelt worden (van der Star et al., 2007) und nutzen granulären Schlamm. MBBR-Reaktoren sind einstufig und nutzen Aufwuchskörper, welche aus sogenannten Biofarms anteilig (3 – 15 %) in neue Systeme mit unbewachsenen Trägern gegeben werden (Christensson et al., 2013).

Im Folgenden werden die bekanntesten Systeme kurz dargestellt. Alle Systeme werden bei 25 °C und höher betrieben.

### 1.3.7.1 OLAND

Der OLAND-Prozess wurde erstmals von Kuai & Verstraete (1998) beschrieben. OLAND steht hierbei für **Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification**, also für sauerstofflimitierte autotrophe Nitrifikation-Denitrifikation.

Es handelt sich um einen SBR, welcher nitrifizierenden Schlamm enthält. Die Steuergröße ist der pH-Wert. Sobald der pH-Wert 7,2 überschreitet wird der Reaktor gerührt und Sauerstoff zugegeben. Wenn der pH-Wert unter 7,0 sinkt, werden Belüftung und Rührung abgeschaltet bis der pH-Wert auf 7,2 ansteigt. In dieser Zeit ist dann das überschüssige Nitrit und Nitrat abgebaut.

### 1.3.7.2 SHARON

SHARON-Prozess steht für: **Single reactor system for High activity Ammonium Removal Over Nitrite**, was so viel wie Einzelreaktor-System für Hochaktivitäts-Ammonium-Entfernung über Nitrit bedeutet.

Der pH-Wert wird zwischen 7 und 8 gehalten. Der Prozess läuft ohne Schlammrückhalt und setzt damit auf das Ausspülen von Nitrit oxidierenden Bakterien. Es wird ein CSTR (continuously stirred tank reactor) verwendet mit 2-Stunden Zyklen. 80 Minuten werden aerob gefahren, und 40 Minuten anaerob, um mittels Denitrifikation den pH, welcher infolge der Nitrifikation abgesenkt wurde, wieder anzuheben. Es können Nitritbildungsraten

von ca. 50 % erreicht werden, was eine sehr gute Voraussetzung für Anammox bildet (Hellinga et al., 1998). An diesen Reaktor kann dann bspw. ein SBR mit Anammox-Biomasse angeschlossen werden (Dongen et al., 2001; van der Star et al., 2007).

### 1.3.7.3 CANON

CANON steht für **C**ompletely **A**utotrophic **N**itrogen Removal **O**ver **N**itrite, was übersetzt vollständige Stickstoff Entfernung über Nitrit bedeutet. Es wird ein SBR genutzt, welcher Anammox-Biomasse und nitrifizierende Biomasse enthält. Die Temperatur wird bei 30 °C gehalten und der pH-Wert wird ebenfalls konstant bei 7,8 gehalten. Der SBR wird kontinuierlich befüllt. Nach Erreichen des Füllstands werden Pumpe und Rührer gestoppt damit die Biomasse absinken kann. Daraufhin wird der Überstand abgezogen und der Reaktor wieder neu befüllt. Der Sauerstoffgehalt ist mit 25 % Sättigung im ersten Viertel der Befüllung am höchsten (Third et al., 2001). Wichtig bei diesem Verfahren sind hohe Frachten von mindestens  $0,1 \text{ kg N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ , da der Prozess sonst instabil wird und sich unerwünschte Bakterien wie *Nitrobacter* durchsetzen können.

### 1.3.7.4 DEMON

Im DEMON-Verfahren wird ein SBR verwendet. Es werden 8-Stunden-Zyklen gefahren. Sechs Stunden davon sind Reaktionszeit, in der die partielle Nitrifikation und Anammox-Reaktion stattfinden. Da die Nitrifikation den pH senkt und die Anammox-Reaktion den pH-Wert anhebt, kann mittels des pH-Wertes die Belüftung gesteuert werden. Der operative pH-Wert liegt zwischen 7,0 und 7,1 und wird auf 0,01 genau gesteuert. Wenn der pH-Wert zum Schalterpunkt abgesenkt ist, wird die Belüftung abgeschaltet. Durch die Anammox-Reaktion und den weiteren Zustrom von unbehandeltem Wasser steigt der pH-Wert wieder an bis die Belüftung einschaltet. Der maximal angestrebte gelöste Sauerstoff im System ist auf  $0,3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  festgelegt (Wett, 2007).

### 1.3.7.5 IFAS

IFAS steht für **I**ntegrated **f**ixed **F**ilm **A**ctivated **S**ludge. Dieses System nutzt Biofilme und Belebtschlamm. Es werden Kaldnes-Träger als MBBR und Belebtschlamm genutzt. Das System wird 15 Minuten belüftet und bis zu 45 Minuten nicht belüftet. Eine Sauerstoffkonzentration von  $1,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  wurde als optimal angesehen, um NOB gegenüber AOB

zu diskriminieren. Der pH-Wert wurde bei 6,9 gehalten. Der Suspendierte Schlamm wurde mit in einer Nachklärung gesammelt und zurückgepumpt. Durch den suspendierten Schlamm konnte die dreifache Abbaurate im Vergleich zu einem normalen MBBR erreicht werden (Malovanyy et al., 2015b; Zhang et al., 2015).

### **1.3.8 Partielle Nitrifikation/Anammox bei niedrigen Temperaturen und Eignung für die Hauptstrombehandlung**

Wenn Anammox und die partielle Nitrifikation im Hauptstrom von Kläranlagen bzw. in Kleinkläranlagen eingesetzt werden sollen, muss auch die Prozessstabilität bei niedrigen Temperaturen betrachtet werden. In letzter Zeit wurden hier einige Untersuchungen vorgenommen.

Wang et al. (2015) bewiesen, dass in konventionellen Kläranlagen Anammox-Bakterien vorhanden sind. Sie zeichneten für bis zu 7,26 % der Stickstoffproduktion verantwortlich. Allerdings konnten nur die Gattungen „*Candidatus Kuenenia*“ und „*Candidatus Brocadia*“ nachgewiesen werden. Diese stehen mit *Nitrospira* in Konkurrenz um das gebildete Nitrit.

Guo et al. (2015) betrieben einen UASB-Reaktor unter saisonalen Temperaturbedingungen. Die Temperatur lag zwischen 31,2 und 2,5 °C. Niedrige Temperaturen ließen den Prozess langsamer und instabiler laufen. Auch die Morphologie und Größe der Granular, EPS (extrazelluläre polymere Substanz), Sinkgeschwindigkeit, sowie die heme C-Konzentration (wichtige Eisenverbindung) wurden negativ beeinflusst. Der Reaktor benötigte auch eine lange Erholungsphase.

Lotti et al. (2014a) führten Tests mit einem Gas-Lift-Sequencing-Batch-Reaktor durch. Es wurde synthetisches Abwasser sowie granuläre Biomasse verwendet. Sie konnten NOB bei 20 °C und 15 °C erfolgreich unterdrücken und Abbauraten von 0,44 bzw. 0,4 g N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> erreichen. Sauerstoffkonzentrationen von bis zu 2,5 mg\*L<sup>-1</sup> wirkten sich nicht negativ aus. Bei länger anhaltenden Temperaturen von 10 °C wurde der Anammox-Prozess instabil. Weiterhin konnte Lotti et al. (2015c) feststellen, dass sich die Anammox-Aktivität zwischen 30 °C und 10 °C nicht mit nur einem Temperaturkoeffizienten darstellen lässt. Zudem reagiert Anammox empfindlicher auf niedrige Temperaturen als AOB. Des Weiteren war Anammox-Schlamm, welcher unter sauerstoffreicheren Bedingungen aufwächst, weniger temperaturempfindlich. Vázquez-Padín et al. (2011) verglichen den

SHARON- und den CANON-Prozess bei 20 °C und 15 °C. Der einstufige CANON-Prozess war dem SHARON-Prozess überlegen, da er durch den Biomasserückhalt und der damit 50-fach höheren Biomassekonzentration noch  $1 \text{ g N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  bei 20 °C und bei 15 °C noch eine Abbauleistung von  $0,2 \text{ g N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  erreichte. Es wurde darauf hingewiesen, dass die Aktivität der AOB kontrolliert werden muss, um eine Hemmung der Anammox-Bakterien durch Nitrit zu vermeiden. Als Kontrollparameter wird der gelöste Sauerstoff empfohlen. De Clippeleir et al. (2013) arbeiteten mit OLAND-Biomasse im Temperaturbereich von 29 °C bis 15 °C. Das verwendete Wasser war verdünntes Abwasser mit einem CSB-Gehalt von etwa  $110 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Das CSB/N-Verhältnis lag bei 2. Es konnten  $0,5 \text{ g N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  abgebaut werden. Allerdings lag die Abbaueffizienz bei nur 40 %.

Lotti et al. (2014c) untersuchte die Umsetzbarkeit der Integration des Anammox-Prozesses in den Hauptstrom einer kommunalen Abwasserbehandlung mittels eines „granular sludge fluidized“-Laborreaktors. Es wurde Wasser mit bis zu  $65 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$  und CSB-Konzentrationen von  $57 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  genutzt. Allerdings wurde durch die Zugabe von Nitrit nicht die partielle Nitrifikation untersucht. Durch die Senkung der Temperatur von 20 °C über 15 °C auf 10 °C stieg die Generationszeit von 35 über 77 auf 132 Tage. Bei 10 °C konnten noch  $0,43 \text{ g N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  bzw.  $0,08 \text{ g N} \cdot \text{gTS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  abgebaut werden. Die volumenbezogenen Abbauraten sind vergleichbar mit denen einer konventionellen Denitrifikation.

Es wurden auch MBBR auf ihre Niedrigtemperaturfähigkeit getestet. Gilbert et al. (2014b) nutzte Kaldnes-K3-Träger als Aufwuchsmaterial. Der Temperaturgradient umfasste einen Bereich zwischen 20 °C und 10 °C. Wobei pro Monat die Temperatur um 2 °C gesenkt wurde. Bei 20 °C war eine Abbauleistung von  $40 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  möglich. Am Ende, bei 10 °C, konnten immerhin noch  $15 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  abgebaut werden, allerdings musste die hydraulische Retentionszeit verdoppelt werden. PCR-Messungen zeigten, dass die Biomassezusammensetzung über den Temperaturgradienten stabil war. In der Dissertation bzw. Publikation von Gilbert, 2014 bzw. Gilbert et al., 2015 wurden auch SBR mit suspendierter und granulierter Biomasse sowie ein MBBR mit 2 mm breiten Chips als Aufwuchskörper verwendet. Es stellte sich heraus, dass bei den SBR die Anammox-Biomasse empfindlicher auf die niedrigen Temperaturen reagierte und somit eine Auswaschung und stärkere Nitritakkumulation stattfand. Suspendierte Biomasse akkumulierte Nitrit schon bei 16 °C. Granulierte und Biomasse auf den 2 mm breiten Chips erst bei 12 – 13 °C. Die Kaldnes-K3-Träger schützten Anammox aufgrund des dicken Biofilms am besten. Somit kam es zu geringeren Nitritakkumulationen und sogar einem Rückgang dieser. Granulierte und suspendierte Anammox-Biomasse unterlag zudem einem Auswaschungseffekt. Bei suspendierter Biomasse sank der Anammox-Anteil

von 16 % auf 0,8 % und bei granulierter Biomasse von 25,5 % auf 2,7 %. Die trägergebundene Biomasse blieb stabil. Persson et al. (2014) untersuchten ebenfalls die Zusammensetzung der Biomasse eines MBBR. Die Abbauraten nahmen bei Temperaturen zwischen 19 °C und 13 °C ab, aber der Prozess blieb stabil. Erst bei 10 °C wurde der Prozess instabil. Die Biomassezusammensetzung änderte sich im Untersuchungszeitraum nur unwesentlich.

Laureni et al. (2015) nutzten vorbehandeltes Faulwasser (71 mg CSB\*L<sup>-1</sup>; 19 mg NH<sub>4</sub>-N\*L<sup>-1</sup>), um Anammox auf die Möglichkeit des Einsatzes im Hauptstrom zu untersuchen. Hierfür wurden die Temperaturen auf bis zu 12,5 °C gesenkt. Die volumetrischen Abbauraten entsprachen im Temperaturbereich von 29 °C bis 12,5 °C denen herkömmlicher Abwasserbehandlungssysteme. Die Verringerung des organischen Kohlenstoffs verringerte die Konkurrenz zu heterotrophen Bakterien deutlich. Allerdings wirkte sich der verbliebene organische Kohlenstoff nachteilig auf die Wachstumsrate von Anammox aus. Sie verlangsamte sich um das Zwei- bis Dreifache. Laureni et al. (2016) konnten bei 15 °C vorbehandeltes Abwasser (21 mg NH<sub>4</sub>-N\*L<sup>-1</sup>; 69 mg CSB\*L<sup>-1</sup>) mittels SBR-MBBR langzeitstabil reinigen. Mit Abbauraten von 30 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>, welche denen herkömmlicher Denitrifikationsanlagen entsprechen. Die Sauerstoffkonzentrationen sollten mit 0,18 mg\*L<sup>-1</sup> niedrig sein, um NOB zu unterdrücken. Gängige Ablaufgrenzwerte konnten mit dem System eingehalten werden. Ab 11 °C wurde die Anammox-Aktivität instabil, allerdings war dieser Effekt reversibel.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass suspendierte und granuläre Biomasse durch niedrige Temperaturen stärker negativ beeinflusst werden als in Biofilmen immobilisierte Biomasse. Dies äußert sich durch schlechteres Absetzverhalten, geringerer Partikelgröße und somit langfristig in Biomasseverlust (Gilbert, 2014; Gilbert et al., 2015; Guillén et al., 2016; Guo et al., 2015; Vázquez-Padín et al., 2011). Biofilmsysteme scheinen niedrige Temperaturen besser tolerieren zu können, da sie nicht an Biomasseverlust leiden und sich somit adaptieren können (Gilbert, 2014; Gilbert et al., 2015; Persson et al., 2014). Weiterhin kann es zu Nitritakkumulation kommen, wenn Anammox temperaturbedingt stärker gehemmt wird als AOB (Gilbert, 2014; Gilbert et al., 2014b; Lotti et al., 2014a). Die Abbauraten von Anlagen mit PN/A sind bei niedrigen Temperaturen mit denen konventioneller Anlagen vergleichbar (Gilbert et al., 2014b; Laureni et al., 2016; Lotti et al., 2014c). Doch ab 11 °C bis 10 °C konnte bisher kein stabiler Prozess garantiert werden (Gilbert et al., 2014b; Laureni et al., 2016).

Tabelle 5 Literaturangaben der Reaktorkonfigurationen und Abbauleistung im Niedrigtemperaturbereich ( $\leq 20\text{ °C}$ ); \* = Instabiler Abbau; \*\* = angegebene Werte mussten umgerechnet werden

System	Abwasser	N-Gesamt-Abbaurrate [mg N $\cdot$ L $^{-1}$ $\cdot$ d $^{-1}$ ]	Temp. [°C]	Zulaufkonzentration [mg N $\cdot$ L $^{-1}$ ]	Referenz
MBBR	synthetisch	40 (15)*	20 (10)	50	Gilbert et al. (2014b)
Granulärer Schlamm	Aerob vorbehandeltes Abwasser	182	19	26,8	Lotti et al. (2015b)
MBBR	Verdünntes Faulturm-wasser	42	22	50	Kouba et al. (2016)
MBBR	synthetisch	334 (162) {110} [34]*	19 (16) {13} [10]	761 (810) {837} [517]	Persson et al. (2014)**
Gas lift SBR	synthetisch	440 (400) {100}	20 (15) {10}	160 (162) {61}	Lotti et al. (2014a)
Membranbelüfteter Biofilmreaktor	synthetisch	780	26	530-780	Pellicer-Nàcher et al. (2014)
SBR	synthetisch	ca. 60	12	70	Hu et al. (2013)
MBBR	Aerob vorbehandeltes Abwasser	47 (30)	25 (15)	21,2	Laureni et al. (2016)
MBBR 10 mm Träger	synthetisch	61 (13)	20 (10)	50	Gilbert (2014)
MBBR 2 mm Träger	synthetisch	29 (16)	20 (10)	50	Gilbert (2014)

Suspendierte Biomasse	synthetisch	6 (6)	20 (10)	50	Gilbert (2014)
granuliert	synthetisch	8 (6)	20 (10)	50	Gilbert (2014)
UMABR	synthetisch	77,6	25	70	Li et al. (2016)

### 1.3.9 Membranbelüftung

Bei der Membranbelüftung bilden sich gewollt Biofilme auf der Membran. Diese Reaktoren werden dann MBfR (**M**embrane-**B**iofilm **R**ector) genannt oder auch MABR (**M**embrane-**A**erated **B**iofilm **R**ector). Durch die angesprochene Membran diffundiert Sauerstoff zum Biofilm im Inneren des Reaktors. Das abzubauen Substrat diffundiert aus der wässrigen Phase in den Biofilm (Li et al., 2016). Bei der Membranbelüftung spricht man von einer sogenannten Gegendiffusion (counter diffusion), da das Gas die höchste Konzentration an der Biofilm-Basis aufweist und das abzubauen Substrat seine höchste Konzentration in den äußeren Bereichen des Biofilms hat. In herkömmlichen Biofilmen spricht man von einer Co-Diffusion, da hier Sauerstoff und Substrat aus der wässrigen Phase in den Biofilm diffundieren (Nerenberg, 2016). Somit ergibt sich eine andere Biofilmstruktur und Anordnung der jeweiligen Bakteriengruppen innerhalb des Biofilms.

Die verwendete Membran sollte eine möglichst geringe Wandstärke besitzen, um den Diffusionswiderstand gering zu halten. Ein geringer äußerer Durchmesser erhöht die spezifische Oberfläche. Das heißt, die Belüftungsoberfläche pro Reaktorvolumen kann gesteigert werden. Zu lange Membranen können unter Umständen Gasgradienten entlang ihrer Länge entwickeln. Zudem sollte das verwendete Material stabil genug sein, um den Biofilm zu tragen, sowie stabil genug gegen Scherkräfte sein (Martin & Nerenberg, 2012).

So entwickelten Li et al. (2016) einen „upflow membrane aerated biofilm reactor“ (UMABR). Dieser wurde mit niedrig belastetem ( $70 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ ) synthetischen Abwasser betrieben. Ziel war es, mit Hilfe eines Silikonschlauchs, reinen Sauerstoff in das System diffundieren zu lassen. Die Sauerstoffkonzentration wurde auf  $0,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  eingestellt. Es bildete sich ein Biofilm/ Granulargemisch. Die Granulars wurden aus bestehenden Reaktoren entnommen. Bei  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  Betriebstemperatur und einer HRT von 16 h konnte eine

Stickstoffabbaurate von  $77,6 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  erreicht werden.

Es war auffällig, dass nur 8 % des zugeführten Stickstoffs in  $\text{NO}_3\text{-N}$  umgesetzt wurde. Theoretisch sollten es 11 % sein. Dieser Umstand weist auf gleichzeitige Denitrifikation hin.

Auch hier wirkt sich intermittierende Belüftung positiv aus. Pellicer-Nàcher et al. (2014) konnten durch intermittierende Belüftung den Anteil der NOB im Membranbiofilm sehr stark reduzieren und gleichzeitig den Anteil der Anammox-Bakterien verzehnfachen. Des Weiteren konnten sie AOB bis zu einer Biofilmtiefe von  $170 \text{ }\mu\text{m}$  nachweisen, was der ungefähren Sauerstoffeindringtiefe in Biofilme entspricht.

### **1.3.10 Anammox in hochsalinen Wässern**

Anammox wird schon sehr häufig in der Teilstrombehandlung, meist zur Behandlung von Faulturmwässern, eingesetzt (Lackner et al., 2014).

Die nächste Herausforderung ist es, Anammox an spezifische Wasserzusammensetzungen zu adaptieren. Ein sehr bedeutender Parameter ist die Salinität. Erhöhte Salzkonzentrationen kommen in vielen Industriezweigen vor, wie beispielsweise, in der chemischen-, pharmazeutischen-, ölverarbeitenden Industrie sowie in der Textil-, Fisch-, Gerbereiindustrie und Viehhaltung (Jin et al., 2011; Bassin et al. 2012; Ma et al. 2012). Salz, insbesondere NaCl, ist als Stressor bekannt und führt oft zu verringerter mikrobieller Aktivität (Chen et al. 2015; Gonzalez-Silva et al. 2017).

Yang et al. (2011) erreichten eine stabile Reaktorleistung bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  mit granulärer „*Candidatus* Kuenenia stuttgartiensis“ dominierter Biomasse. Liu et al. (2009) konnten Festbettbiomasse auf bis zu  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  gewöhnen. Bei höheren Konzentrationen wurde die Abbauleistung des Reaktors instabil. Ma et al. (2012) untersuchten den Effekt von Salzschocks auf die Anammox-Biomasse. Konzentrationen von mehr als  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  führten zu Einbrüchen in der SAA (spezifische Anammox Aktivität). Die Salzschocks führten auch zu verlängerten Erholungszeiten. Diese Studien wurden *in situ* durchgeführt. Andere Autoren, wie Jiang et al. (2017) und Gonzalez-Silva et al. (2017), konnten in Langzeitexperimenten mit erhöhten Salzkonzentrationen Populationsänderung innerhalb des Anammox-Konsortiums feststellen.

### **1.3.11 Lagerung von Anammox-Biomasse**

Da Anammox-Bakterien eine hohe Verdopplungszeit haben (Strous et al. 1998; Oshiki et al. 2011), kommt es zu langen Anfahrphasen für neue Anammox-Reaktoren. Deshalb wird häufig auf eine Inokulation der Reaktoren mit Biomasse aus schon bestehenden Reaktorsystemen zurückgegriffen (Jeanningros et al. 2010). Um durch die Lagerung und den Transport des Inokulums keine Aktivitätseinbußen hinnehmen zu müssen, sind adäquate Lagerungsbedingungen nötig. Ein weiteres mögliches Anwendungsgebiet für die Lagerung von Anammox sind saisonal betriebene Anlagen, wie sie in touristischen Gebieten vorkommen, wie beispielsweise Kläranlagen von Hotels oder Campingplätzen. Es sollte nach einer Unterbrechung des Betriebs möglichst schnell zu einem Normalbetrieb übergegangen werden können.

Bisher wurden in verschiedenen Publikationen eine Reihe von Konservierungsmethoden dargestellt. Vlaeminck et al. (2007) konnten nachweisen, dass OLAND-Biomasse nach zwei Monaten Lagerung bei  $-20\text{ °C}$  irreversibel geschädigt wurde und keine Aktivität mehr aufwies. Rothrock et al. (2011) konnten Anammox-Biomasse nach 4 Monaten Lagerung in  $-200\text{ °C}$  kaltem flüssigen Stickstoff reaktivieren. Gefriertrocknung konnte nur 11 % der initialen SAA erbringen. Magrí et al. (2012) schlossen Anammox in Polyvinylalkohol bei  $-8\text{ °C}$  für 17 Stunden ein. Nach vier Monaten wurden 80 % der anfänglichen SAA wiederhergestellt. Heylen et al. (2012) konnten nach sieben Monaten durch Zugabe eines „Frostschutzmittels“ 80 % der SAA wiederherstellen. Die Lagerung fand bei  $-80\text{ °C}$  statt. Ji & Jin (2014) konnten nach einer zweimonatigen Lagerung bei  $-40\text{ °C}$ , ohne „Frostschutzmittel“ und einer Reaktivierungszeit von zwei Wochen 78,6 % der SAA wiederherstellen. Die beschriebenen Gefrierlagerungen sind zwar recht erfolgreich, aber auch sehr arbeits-, energie- und somit kostenintensiv.

## **1.4 Zielstellung der Arbeit**

Das Ziel dieser Arbeit war die Etablierung einer energie- und ressourcensparenden Betriebsstrategie zum Abbau anorganischer Stickstoffverbindungen in häuslichem Abwasser unter Verwendung der anaeroben Ammonium-Oxidation (Anammox). Hierbei werden anorganische Stickstoffverbindungen unter Sauerstoffausschluss zu elementarem Stickstoff umgewandelt. Die technischen Vorteile gegenüber klassischer Verfahren sind: 1. die Sauerstoffzugabe kann um bis zu 60 % reduziert werden, 2. Anammox-Bakterien benötigen keine organische Kohlenstoffquelle für ihr Wachstum, 3. Anammox-Bakterien produzieren deutlich weniger Biomasse, so dass die zu entsorgende Schlammmenge

gering ist. Folglich ist das Anammox-Verfahren deutlich preiswerter als das konventionelle Nitrifikation/Denitrifikationsverfahren.

Ein besonderer Fokus lag auf Betriebsstrategien zur Umsetzung des Anammox-Prozesses unter Bedingungen, die in Kleinkläranlagen vorherrschen. Der Ansatz war in einem ersten belüfteten Reaktor Ammonium teilweise zu Nitrit zu oxidieren (partielle Nitrifikation), welches in einem nachgeschalteten Reaktor mit dem verbleibenden Ammonium unter Sauerstoffausschluss zu elementarem Stickstoff reduziert wird (Anammox).

Dazu wurden verschiedene Reaktorkonfigurationen und Biomassensysteme sowie die Bereitstellung von Nitrit über die partielle Denitrifikationsreaktion untersucht. Ein weiteres Ziel war es, einen Nitrifikanten/Anammox-Biofilm auf einer sauerstoffdurchlässigen Membran zu etablieren. In einem nächsten Schritt wurde untersucht, ob mittels membranbelüfteter Biofilm-Reaktoren der Partielle Nitrifikation/Anammox-Prozesses auch bei niedrigen Betriebstemperaturen ( $< 20\text{ °C}$ ) stabil betrieben werden kann. Darüber hinaus sollte die Auswirkung hoher Salzgehalte auf den Reaktionsprozess sowie der Einfluss von Salz auf adaptierte bzw. nicht adaptierte Anammox-Biofilme analysiert werden. Da es bei kleinen Kläranlagen auch zu saisonbedingten Betriebspausen kommen kann, wurde zusätzlich die Lagerfähigkeit von Anammox-Bakterien mit einer kostengünstigen Lagerungsmethode untersucht.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Reaktorsysteme

#### 2.1.1 Synthetisch betriebene Anammox-Reaktoren

Zwei Reaktoren wurden praktisch identisch mit synthetischem Abwasser betrieben. In einem Reaktor wurden anfänglich hauptsächlich Levapor-Träger (Levapor GmbH, Bonn, Deutschland) verwendet. Diese sind sehr feinporige aktivkohlebeschichtete Polyurethan-Schaumstoffträger mit den Abmaßen  $20 \times 20 \times 5$  mm. Im Folgenden wird der parallel betriebene baugleiche Reaktor beschrieben.

Der synthetisch betriebene Anammox-Reaktor umfasste ein Arbeitsvolumen von 3,7 L, fast vollständig mit einem Festbett gefüllt (Abbildung 4). Der Reaktor nutzte zu Beginn die Träger K3 der Firma Kaldnes (Tønsberg, Norwegen). Diese wurden dann mit Trägern K1 gemischt. Die Träger bieten eine Oberfläche von  $800 \text{ m}^2$  pro  $\text{m}^3$  Schüttung. Später wurden auch die in den membranbelüfteten Reaktoren verwendeten PU-Schaumstoffwürfel als Aufwuchsträger eingesetzt. Eine detaillierte Beschreibung erfolgt dort (Vgl.2.1.5.) Als Vorlagebehälter wurden 5 L Glasflaschen genutzt, welche gasdicht verschlossen, anschließend mit Stickstoff eine Stunde lang anaerobisiert und nochmals 60 Sekunden mit  $\text{CO}_2$  gespült wurden, um den pH-Wert auf einen Bereich zwischen 7,0 und 7,5 zu senken. Das Nährmedium wurde mit einer Schlauchpumpe (Ismatec ISM 833C, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) in den Boden des Reaktors befördert. Um Gradienten innerhalb des Reaktors zu vermeiden, wurde eine Rezirkulationspumpe (Masterflex Console Drive 1-100 rpm, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) betrieben. Das Rezirkulationswasser wurde schon vor Erreichen des Reaktors mit dem zufließenden Nährmedium gemischt.

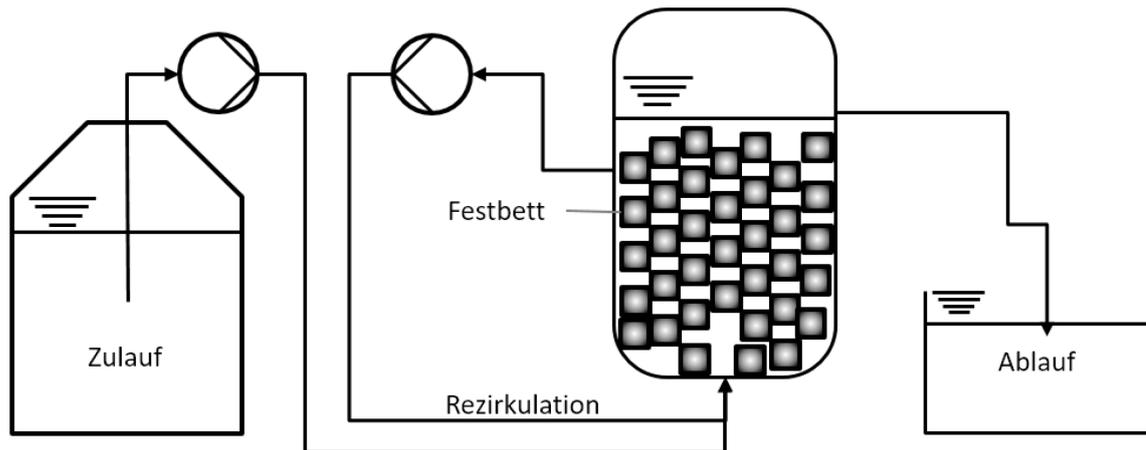


Abbildung 4 Reaktorkonfiguration des synthetisch betriebenen Anammox-Reaktors

### 2.1.2 Nitritationsreaktor

Der Reaktor besaß ein Arbeitsvolumen von 3,2 L mit einem Innendurchmesser von 10,5 cm und einer Höhe von 42 cm. In den Messreihen 1 bis 5 wurde der Reaktor als MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) oder auch Wirbelbettreaktor genannt, betrieben. Dafür wurden K1-Träger (Kaldnes, Tønsberg, Norwegen) verwendet. Der Füllgrad wurde auf 40 % des Reaktorvolumens festgesetzt (Abbildung 5). Als Nährmedium wurde mechanisch vorgeklärtes Abwasser der Kläranlage Cottbus genutzt und bei 8 °C in einem 25 L-Kanister vorrätig gehalten. Das Nährmedium wurde mittels einer Schlauchpumpe (Ismatec ISM 833C, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) transportiert. Der verwendete Kompressor stammt von der Firma Yasunaga (Iga, Japan) und war vom Typ LP-80. Der Luftvolumenstrom wurde mit einem Mass Flow Controller (MFC, Aalborg Instruments & Controls, Inc, New York, USA) auf  $3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  eingestellt. Der Lufteintrag wurde mittels eines Diffusorsteins feinblasig verteilt und gleichzeitig zur Verwirbelung des Wirbelbetts genutzt. Die Sauerstoffmessung erfolgte optisch mit dem System PreSens Fibox 3 (PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg, Deutschland). Das genutzte Programm zum Loggen der Daten war das Programm OxyView PST3 (Fibox 3 trace v3 für PSt3/PSt6 Version 7.01, PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg, Deutschland). Das behandelte Abwasser wurde in einem Sedimentationsbecken ( $V_{\text{Becken}} = 1 \text{ L}$ ) aufgefangen. Die Belüftung wurde entweder über eine Zeitschaltuhr oder über die Sauerstoffkonzentration gesteuert. Um die Sauerstoffkonzentration als Steuergröße nutzen zu können, musste das gesendete Signal der Fibox 3 verstärkt werden. Dazu wurde ein Signalverstärker vom Typ IAMA 3535 (Red Lion Controls, York, USA) verwendet und

zur Steuereinheit (Array Electronic Co., Ltd., Nanjing, China) gesendet. Detaillierte Angaben befinden sich im Ergebnisteil dieser Arbeit.

Das Sedimentationsbecken wurde in den Messreihen 4 und 5 als nachgeschaltetes Denitrifikationsbecken genutzt. Dazu wurde noch Denitrifikationsschlamm dem System zugefügt. Dieser wurde täglich aus dem Denitrifikationsbecken zurück in den Reaktor befördert.

Ab Messreihe 6 wurde das System auf ein Belebtschlammssystem umgestellt.

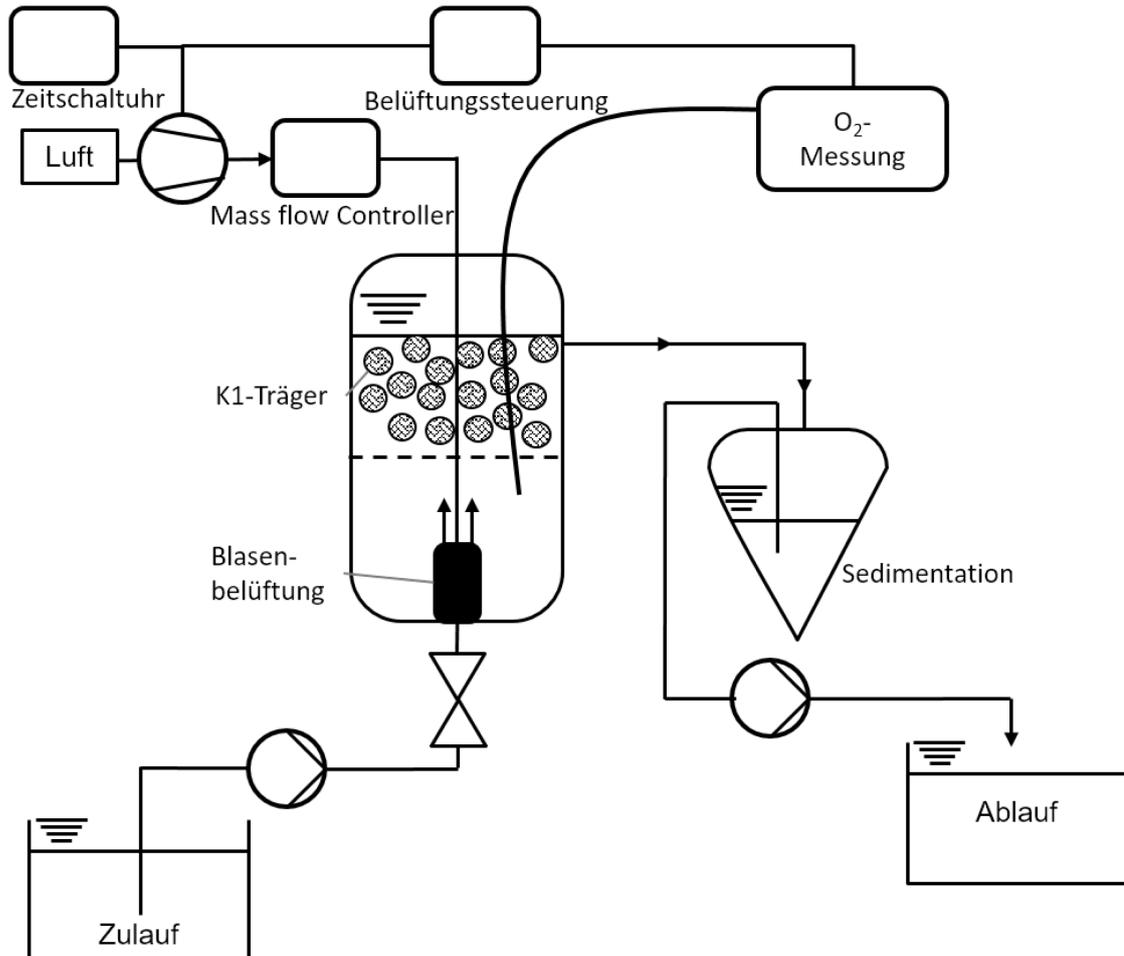


Abbildung 5 Reaktorkonfiguration des Nitritationsreaktors in den Messreihen 1 bis 7. In den Messreihen 6 und 7 wurde Belebtschlamm anstatt Trägermaterial verwendet.

In Messreihe 8 wurde eine Denitrifikation vorgeschaltet und das Reaktorschema veränderte sich wie folgt (Abbildung 6). Das Denitrifikationsbecken umfasste ein Volumen von 1 L. Das Rezirkulationsverhältnis betrug 1 : 4.

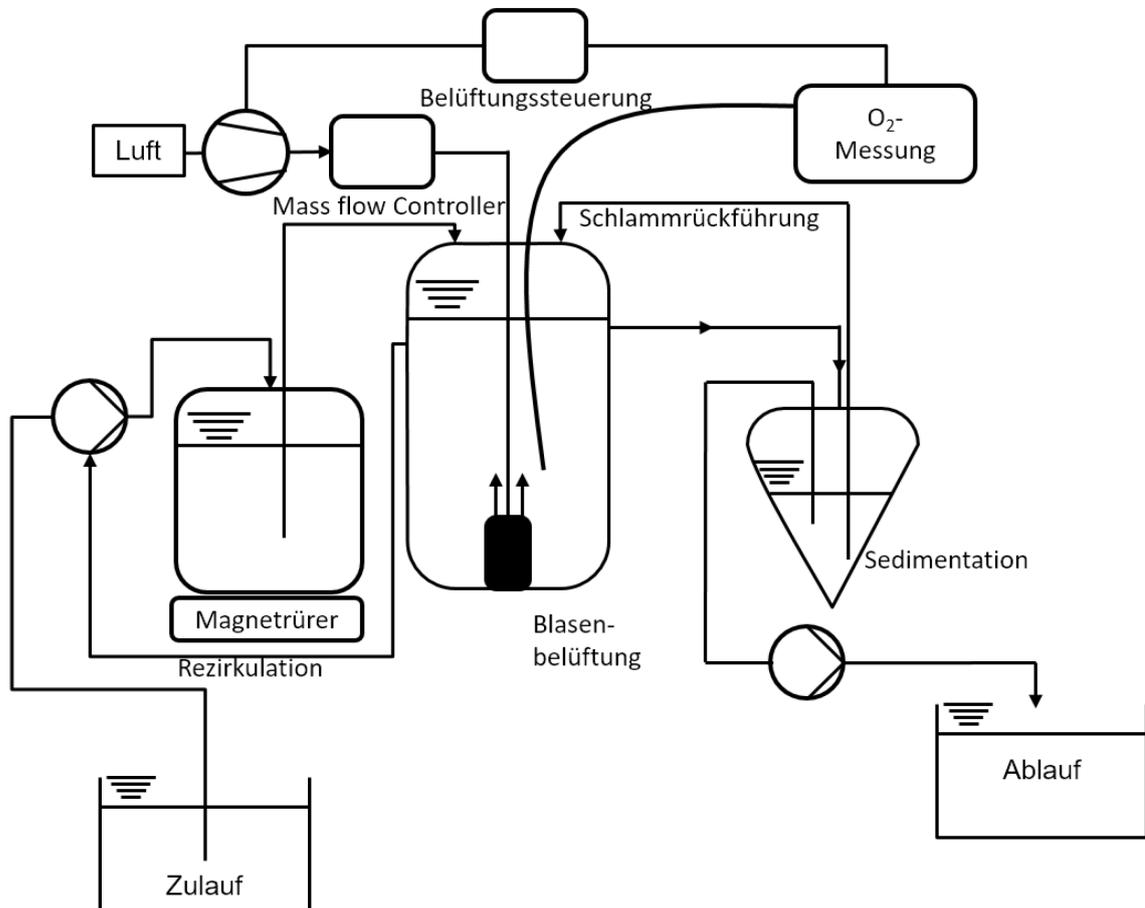


Abbildung 6 Reaktorkonfiguration des Nitritionsreaktors in der Messreihe 8

Für Messreihe 9 wurde ein Betriebsmodell der Kläranlage Cottbus verwendet. Die Versuchsanlage besteht hier aus zwei vorgeschalteten Denitrifikationsstufen, einer anschließenden Nitrifikationsstufe und einer abschließenden Nachklärungsstufe. Als Zulaufwasser wurde vorgeklärtes Abwasser der Kläranlage Cottbus genutzt (Abbildung 7). Die Denitrifikationsbecken umfassen je ein Volumen von 1,1 Liter, das Nitrifikationsbecken umfasst ein Volumen von  $V = 5,7$  Liter, das Nachklärbecken umfasst ein Volumen von  $V = 1$  Liter. Die Betriebstemperatur wurde auf  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$  festgelegt. Das Kläranlagenmodell ist prinzipiell genauso angeordnet wie die weiter oben beschriebene Nitritions säule

und unterscheidet sich lediglich in der Geometrie und im Volumen von der oben beschriebenen Ausführung. Zu- und Ablaufkanister umfassten jeweils ein Volumen von 25 L. Die Belüftungsintervalle und -Pausen sind im Ergebnisteil detailliert dargestellt.

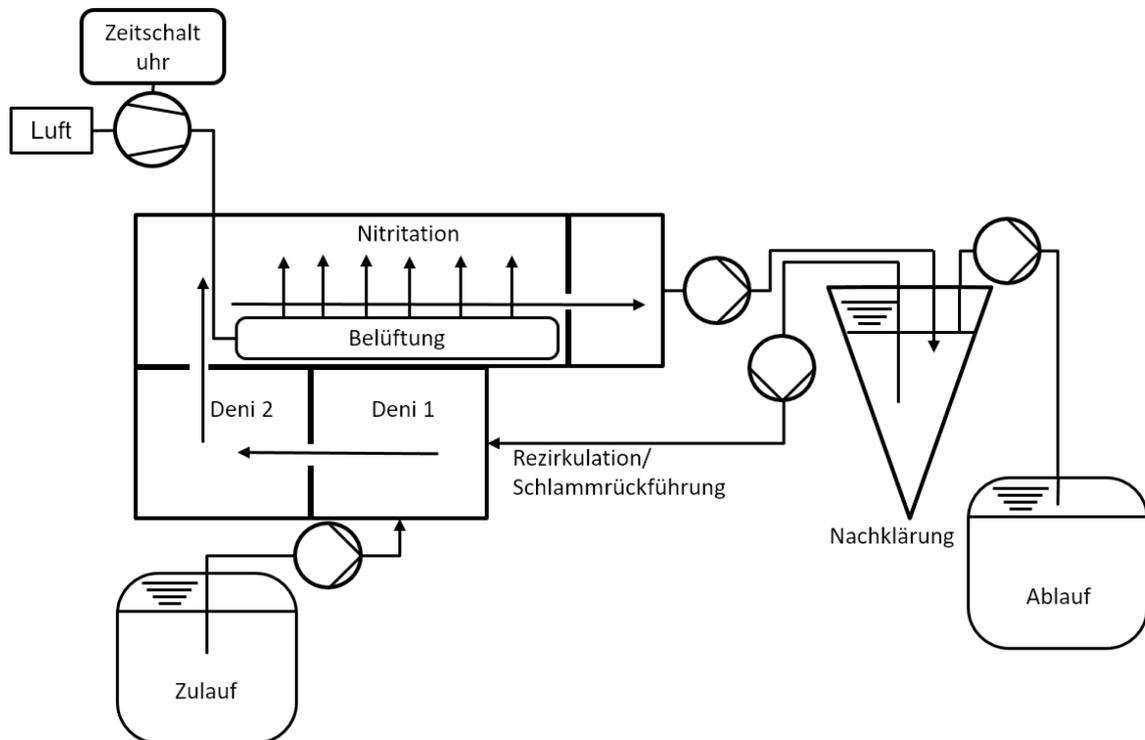


Abbildung 7 Reaktorkonfiguration des Modells der Kläranlage Cottbus in Messreihe 9

### 2.1.3 Reaktoren zur partiellen Denitrifikation

Hier wurden parallel fünf Flaschen ( $V_{\text{Flasche}} = 1 \text{ L}$ ) mit Nährmedium und variierenden TOC-Konzentrationen als Zulaufbehälter genutzt. Diese Flaschen wurden versiegelt und Schläuche mit Kanülen am Ende genutzt, um den Boden der Flaschen zu erreichen. Schläuche und das Nährmedium wurden autoklaviert. Die Schläuche wurden mit einer Schlauchpumpe (Watson Marlow 205S, Watson-Marlow Limited, Falmouth, England) verbunden. Die Pumpe überführte das Nährmedium in die jeweiligen Reaktoren. Diese waren kleine braune Fläschchen mit einem Volumen von 128 mL. Das Reaktionsvolumen wurde auf 128 oder 64 mL festgelegt, abhängig von der gewünschten HRT. Die Reaktoren waren mit gasdichten Septen versehen um anoxische Bedingungen zu garantieren. Der Zu- und Ablauf wurde durch Kanülen realisiert (Abbildung 8). Für die Durchmischung wurde eine Magnetrührplatte (Thermo Scientific; POL.Y15) genutzt. Es

wurden jeweils 4 mL flockulierte Denitrifikanten-Biomasse aus dem Denitrifikationsbecken der Kläranlage Cottbus bzw. der gezüchteten, durch Verdünnung isolierten Denitrifikanten (vgl. Abschn. 2.5.6) verwendet.

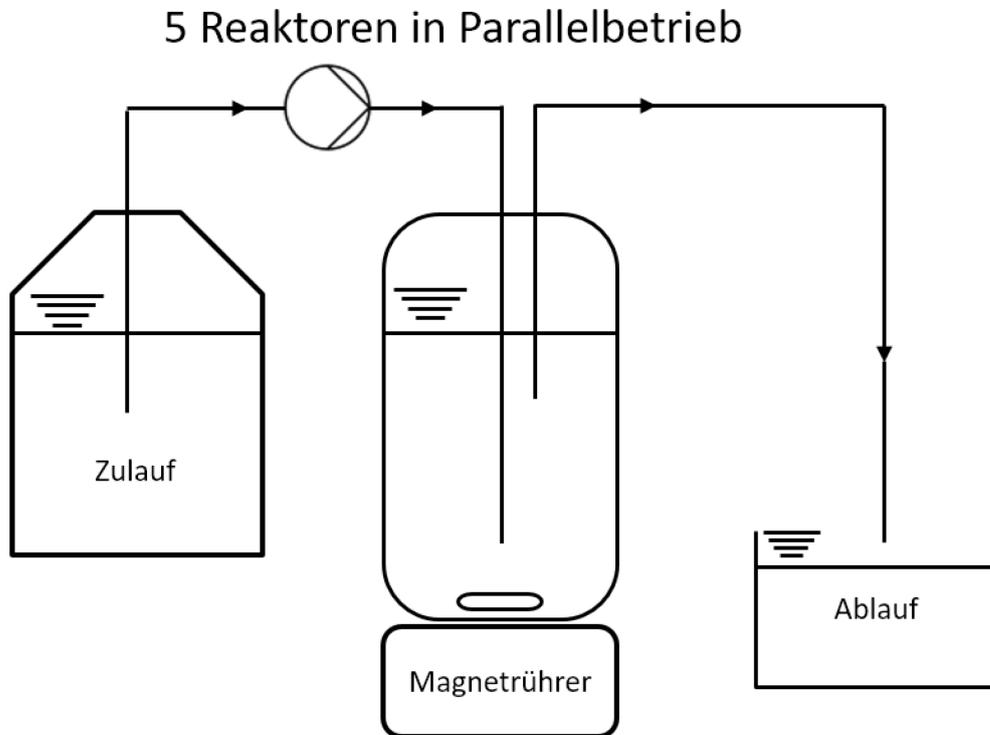


Abbildung 8 Konfiguration der Reaktoren zur partiellen Denitrifikation

#### 2.1.4 Schlauchreaktoren S1 und S2

Als Schlauchmaterial wurde, aufgrund der guten Diffusionseigenschaften gegenüber Sauerstoff, Silikon verwendet. Die Reaktoren waren 5 m lang mit einem Innendurchmesser von 8 mm. Das sich daraus ergebende Reaktorvolumen entspricht 0,2513 L. Die Schlauchwandstärke betrug 1,5 mm (Abbildung 9). Durch Schlauchreaktor S1 wurde das Nährmedium mit  $167 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$  rezirkuliert. Somit wurde das Reaktorvolumen 664-mal pro Tag ausgetauscht. Es sollte somit ein mechanisch belastbarer Biofilm erzeugt werden. Das Nährmedium bestand zu 75 % aus vorgeklärtem Abwasser der Kläranlage Cottbus und zu 25 % aus geklärtem Abwasser der Kläranlage Cottbus. Der Schlauch wurde spiralförmig um ein Polyethylenrohr (Durchmesser 10 cm) gewickelt.

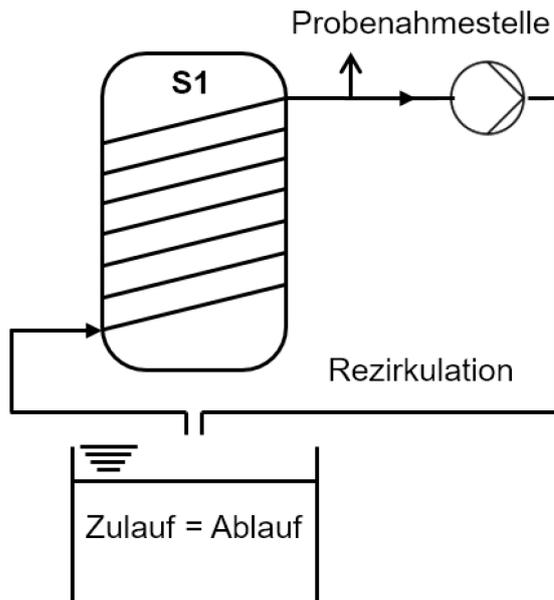


Abbildung 9 Konfiguration des Schlauchreaktors S1 während der Aufwuchsphase des Nitrifikantenbiofilms

Der Schlauchreaktor S2 ist identisch zu S1. Als Medium wurde vorgeklärtes Abwasser der Kläranlage Cottbus genutzt. Dieses Wasser wurde mittels eines Rührers belüftet, um den Kohlenstoffabbau zu forcieren und anschließend in einen Zwischenspeicher überführt, welcher als Vorlage für den Schlauchreaktor diente. Aus diesem wurde dann das vorbehandelte Abwasser mit einem Volumenstrom von  $1,4 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$  durch den Schlauchreaktor gepumpt (Abbildung 10).

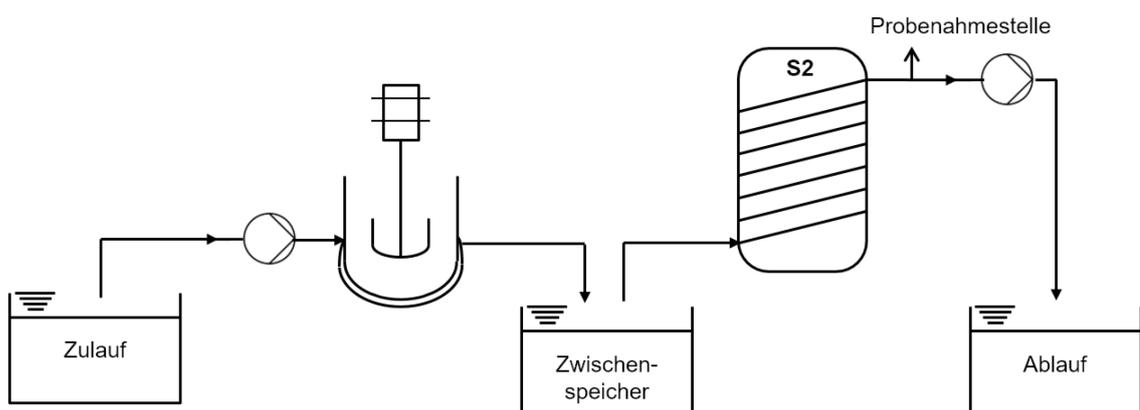


Abbildung 10 Konfiguration des Schlauchreaktors S2 während der Aufwuchsphase des Nitrifikantenbiofilms

Nachdem die Nitrifikanten-Biofilme aufgewachsen waren, wurden beide Schlauchreaktoren an, mit semirealem Abwasser betriebene, Anammox-Reaktoren angeschlossen. Dazu wurden sie in die Rezirkulation dieser Reaktoren integriert (Abbildung 11). Semi-reales Abwasser wurde aus geklärtem Abwasser der Kläranlage Cottbus, welches am Ablauf dieser entnommen wurde und zugegebenen Nitrit und Ammonium hergestellt. Die Konzentrationen von Ammonium und Nitrit entsprechen denen der mit synthetischem Abwasser betriebenen Reaktoren

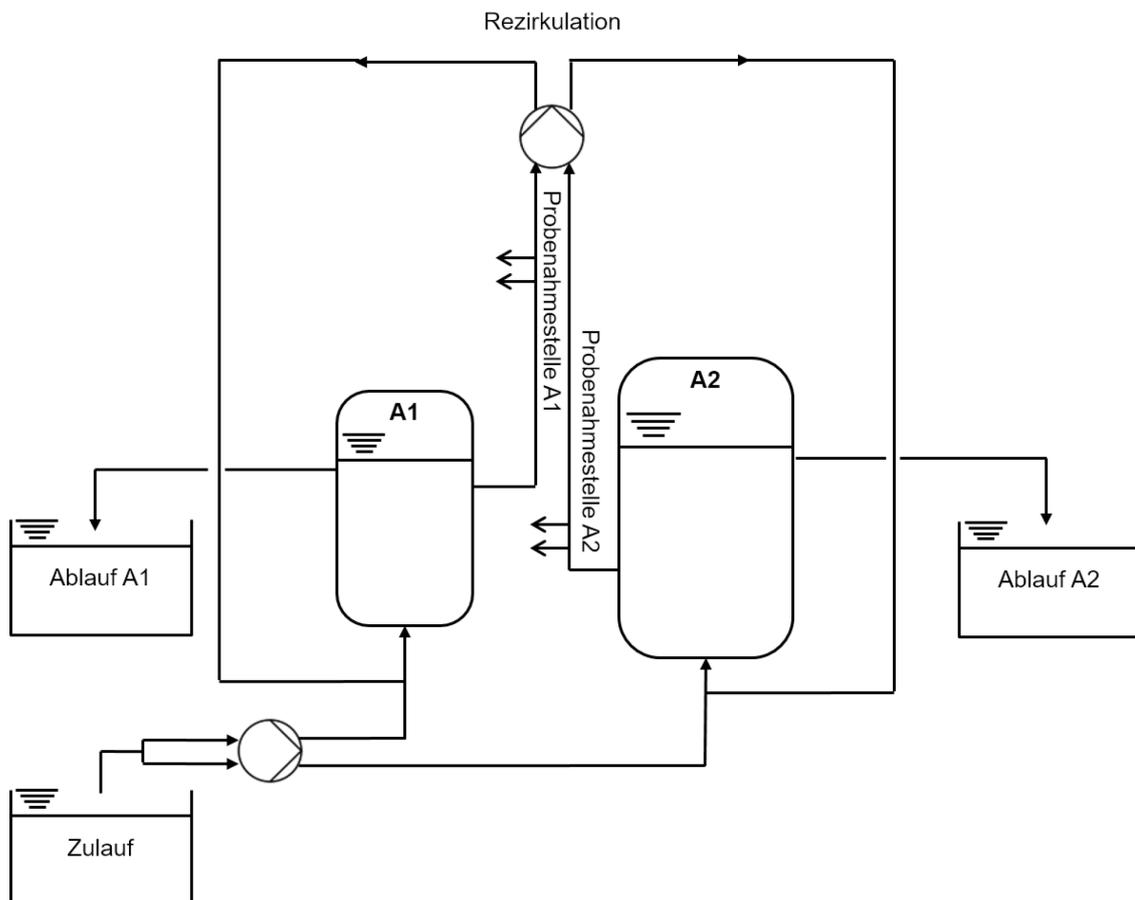


Abbildung 11 Konfiguration der Schlauchreaktoren S1 und S2 in der Phase des Aufwuchses von Anammox-Biomasse.

### **2.1.5 Reaktoraufbau des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors**

Als Belüftungsmembran wurde ein 2 m langer transluzenter Silikonschlauch mit 2 mm Innendurchmesser und einer Wandstärke von 0,5 mm verwendet, was einem Außendurchmesser von 3 mm und einer äußeren Membranfläche von 0,01885 m<sup>2</sup> entspricht. Der Schlauch wurde spiralförmig um Polyurethanschaum (PU) aufgewickelt. Dieser PU-Schaum wurde auch als Aufwuchskörper für die Anammox-Biomasse verwendet. Die Struktur des Trägermaterials wird als total offenporig beschrieben mit 30 Poren pro Zoll. Das spezifische Gewicht war mit 25 kg\*m<sup>-3</sup> angegeben. Das Material ist ausscheidungsfrei. Die Herstellerfirma ist die ISP GmbH & Co. KG aus Limburg, Deutschland. Die Produktbezeichnung lautet: ISP Filterschaum PPI 30 Ä.

Um als Aufwuchsträger zu dienen, wurde der PU-Schaum in Würfel von 2 cm Kantenlänge geschnitten und in den, mit synthetischem Nährmedium betriebenen, Anammox-Reaktor gegeben. Aufgrund der Offenporigkeit verfiel sich die teils als Flocken vorliegende Biomasse sofort in dem Schaum und war somit fixiert. Die Träger wurden noch zwei Monate im synthetischen Reaktor belassen, bevor sie auf Stäben (Schaschlik-Stäbe, Wenco-Service Marketing GmbH & Co.KG, Essen, Deutschland) zu je fünf fixiert in den Membranreaktor überführt wurden. Insgesamt wurden 20 Trägerwürfel installiert.

Der Reaktor (1 L) wurde über eine Schlauchpumpe (Ismatec ISM 833C, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) mit gekühltem (8 °C) anaerobisierten Medium (5 L-Vorlagebehälter) versorgt. Er wurde als Chemostat ausgelegt. Das heißt, Volumenzustrom und -abstrom stehen im Gleichgewicht. Der Reaktor wurde mittels eines Magnetrührers (Ikamag Reo, IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland) kontinuierlich durchmischt, welcher auf 400 Umdrehungen pro Minute eingestellt war. Die Belüftung erfolgte mittels eines Kompressors (Yasunaga LP-80 H, Iga, Japan) durch die Diffusion von Sauerstoff durch die unter Druck (5 PSI = 0,34 bar) stehende Membran. Die Belüftung wurde je nach Einstellung über eine Zeitschaltuhr oder über einen Zielsauerstoffwert gesteuert. Im letzteren Fall wurde die gemessene Sauerstoffkonzentration als Stellgröße verwendet. Die Messung erfolgte über eine optische Sauerstoffmessung mit dem System PreSens Fibox 3. Zum Loggen der Daten wurde das Programm OxyView PST3 (Version 7.01) (Fibox 3 trace v3 für PSt3/PSt6 Version 7.01, PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg, Deutschland) verwendet. Der Reaktor stand in einem Wasserbad, welches über einen Kryostat (Huber Minichiller, Peter Huber Kältemaschinenbau AG, Offenburg, Deutschland) gekühlt wurde (Abbildung 12). Das Wasserbad war abgedeckt, um möglichst effizient zu sein. Der Reaktor war zusätzlich mit einer Plane abgedeckt.

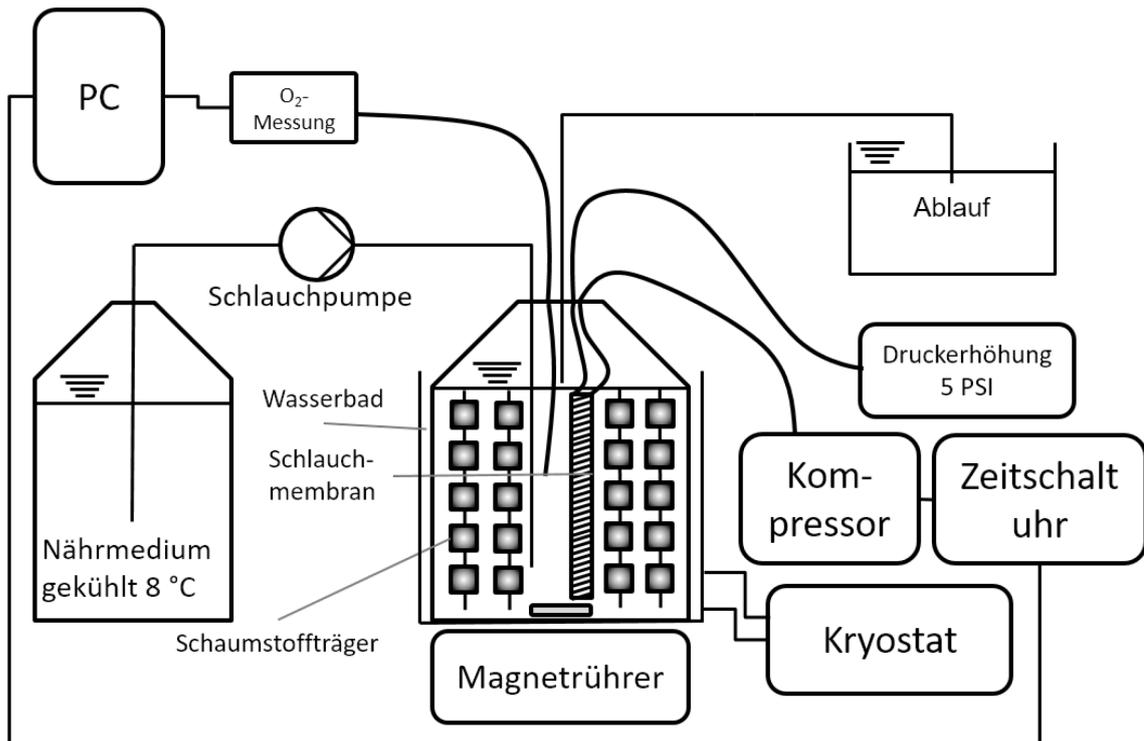


Abbildung 12 Reaktorschema des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors.

### 2.1.6 Reaktoraufbau des membranbelüfteten hochsalinen Festbettreaktors

Ein 25 L-Kanister diente als Vorlagebehälter für das Nährmedium und wurde bei 8 °C gekühlt. Der Aufbau des hochsalinen Reaktors ist im Prinzip gleich dem des Niedrigtemperaturreaktors. Membran und Trägermaterial wurde in gleicher Qualität und Menge eingesetzt (Vgl. 2.1.5). Allerdings hatte der Reaktor ein Reaktionsvolumen von 3,2 L. Die Temperatur wurde mit einem Wärmebad (Grant GD 120, Grant Instruments, Cambridge, England), welches mit der Wasserjacke des Reaktors verbunden war, auf 30 °C eingestellt. Die Sauerstoffkonzentration und der pH-Wert wurden mit Clark-Sonden (O<sub>2</sub>: Applisens Z001023510, pH: Applisens Z010023520 (Applikon Biotechnology, Foster City, USA)) gemessen (Abbildung 13). Es wurden Sollwerte eingestellt. Der pH-Wert wurde auf pH 7,4 festgelegt. Sobald er abfiel, wurde über eine Schlauchpumpe, welche an der BioConsole ADI 1030 (Applikon Biotechnology, Foster City, USA) installiert war und über den Biocontroller ADI 1030 gesteuert wurde, 1M NaOH hinzudosiert. Die Sauerstoffsoll-sättigung wurde auf 2 % eingestellt, was bei 30 °C 0,15 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> entspricht. Doch diese wurde fast nie erreicht und befand sich immer bei nahe null Prozent. Es war mit der verwendeten Regelhardware (BioConsole ADI 1030, Applikon Biotechnology, Foster

City, USA) leider nicht möglich, eine intermittierende Belüftung einzurichten. Somit wurde eine Dauerbelüftung genutzt. Es wurde hier die anliegende Druckluftleitung verwendet. Im Abstrom der Membran wurde ebenfalls eine Druckerhöhung installiert. Somit lag hier ein Druck von 10 PSI (0,69 bar) auf der Belüftungsmembran. Der Reaktor wurde mit einem Rührwerk (Applikon P100, Applikon Biotechnology, Foster City, USA), an dem zwei Rührblätter installiert waren, mit 200 Umdrehungen pro Minute gerührt. Dieses war ebenfalls mit dem BioConsole ADI 1030 (Applikon Biotechnology, Foster City, USA) verbunden und konnte dort eingestellt werden. Die Beschickung mit Nährmedium erfolgte über eine Schlauchpumpe, welche an der BioConsole ADI 1030 (Applikon Biotechnology, Foster City, USA) installiert war und über den Biocontroller ADI 1030 ((Applikon Biotechnology, Foster City, USA) gesteuert wurde. Da sich die Drehzahl nicht einstellen ließ, wurde eine quasikontinuierliche Beschickung verwendet, d.h. die Pumpe wurde intermittierend an und ausgeschaltet, um den gewünschten Volumenstrom zu erreichen.

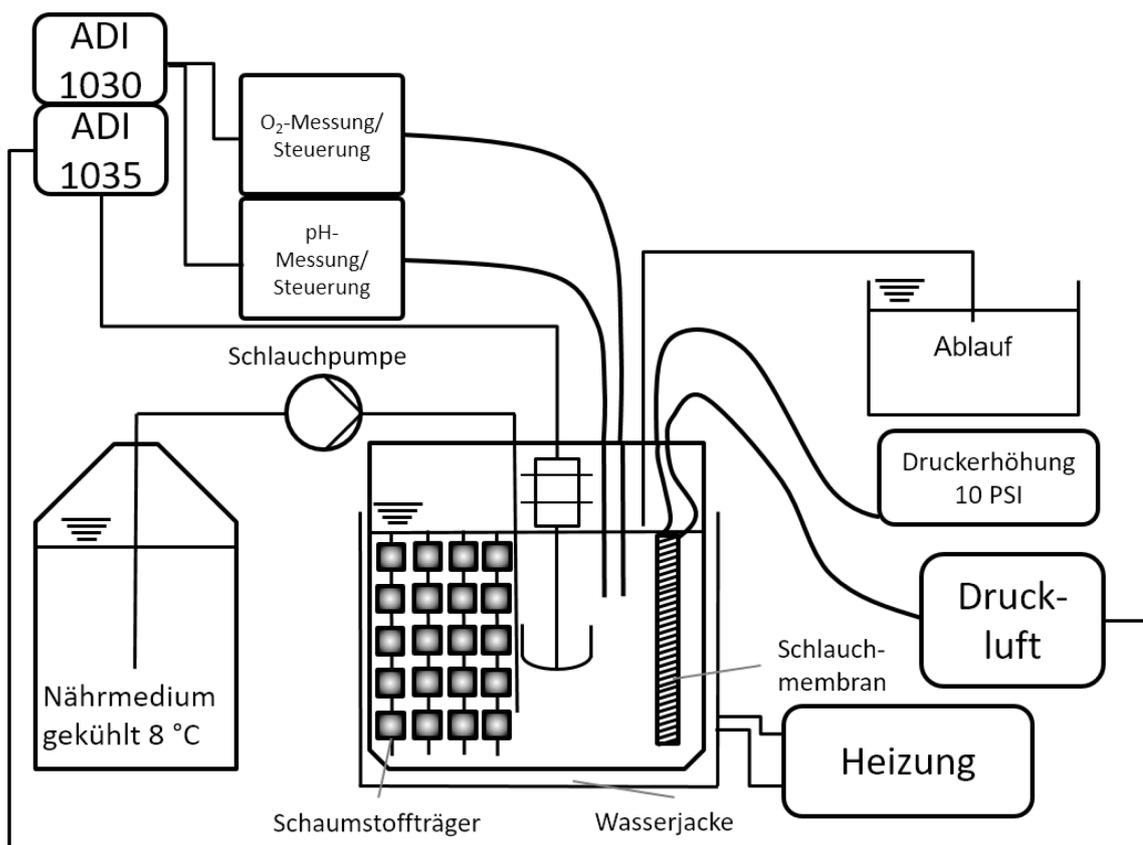


Abbildung 13 Reaktorschema des membranbelüfteten hochsalinen-Festbettreaktors.

## 2.2 Nährmedien

Die Nährmedien der einzelnen Reaktoren bzw. Versuche werden im folgendem beschrieben.

Die Zusammensetzung der synthetischen Nährmedien war im Grunde immer gleich und wurde von van de Graaf et al. (1996) adaptiert. Als Grundlage wurde destilliertes Wasser verwendet. Dem Nährmedium wurden  $1,5 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$  Spurenelemente-Lösung zugesetzt.

Tabelle 6 synthetisches Nährmedium

Chemikalie	Konzentration [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]
$\text{KHCO}_3$	1500
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	114
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	14
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	12
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	300
Spurenelementelösung	1,5 mL

Die Spurenelementelösung setzte sich wie folgt zusammen.

Tabelle 7 Spurenelementelösung

Chemikalie	Konzentration [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	626
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	349
$\text{MnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	968
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	364
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	320
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	276
$\text{Na}_2\text{SeO}_4$	84

FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	17
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	102
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	21825

Die Reaktoren und Versuche nutzten die gerade beschriebenen Medien und variierten in der zugegebenen Konzentration von NH<sub>4</sub>Cl und NaNO<sub>2</sub>. Weitere Zugaben an Chemikalien sind ebenfalls aufgelistet. Bei den Lagerungstests wurden noch zusätzlich Molybdat oder Nitrat als Redoxpuffer eingesetzt. Sie wurden jeweils 3 mM zugegeben. Bei den Tests zur Salzadaption war natürlich jeweils die entsprechende NaCl-Konzentration zugegeben worden. Beim membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor wurde ab M9 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> zugegeben, um das Medium vergleichbar zu den vorherigen Phasen zu halten.

Tabelle 8 Zusätzliche Chemikalien der Reaktoren und Versuche, welche mit synthetischem Medium durchgeführt wurden

	Konzentration [mg*L <sup>-1</sup> ]	Konzentration [mg N*L <sup>-1</sup> ]
Synthetischer Anammox-Reaktor		
NH <sub>4</sub> Cl	4361,4	1141
NaNO <sub>2</sub>	5625,0	1141
Lagerungstests		
NH <sub>4</sub> Cl	160,5	42
NaNO <sub>2</sub>	207,0	42
NaNO <sub>3</sub> (Redoxpuffer)	255	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O (Redoxpuffer)	726	
Tests zur Salzadaption		
NH <sub>4</sub> Cl	180	47
NaNO <sub>2</sub>	21	57
Membranbelüfteter Niedrigtemperatur-Festbettreaktor		
M1		

NH <sub>4</sub> Cl	982	257
NaNO <sub>2</sub>	1158	235
M2		
NH <sub>4</sub> Cl	1250	327
NaNO <sub>2</sub>	1198	243
M3		
NH <sub>4</sub> Cl	1548	405
NaNO <sub>2</sub>	1198	243
M4		
NH <sub>4</sub> Cl	1452	380
NaNO <sub>2</sub>	1084	220
M5		
NH <sub>4</sub> Cl	1681	440
NaNO <sub>2</sub>	1045	212
M6		
NH <sub>4</sub> Cl	1811	474
NaNO <sub>2</sub>	897	182
M7		
NH <sub>4</sub> Cl	1811	474
NaNO <sub>2</sub>	695	141
M8		
NH <sub>4</sub> Cl	1299	340
NaNO <sub>2</sub>	168	34
M9-M23		
NH <sub>4</sub> Cl	1260	330
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	265	

M24		
NH <sub>4</sub> Cl	550	145
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	265	

### 2.2.1 Nährmedium der Versuche zur partiellen Denitrifikation

Als TOC-Quelle wurde Pepton verwendet. Dazu wurde eine Stammlösung Pepton hergestellt und mit Reinstwasser angesetzt. Sie enthielt 6,278 g\*L<sup>-1</sup> Pepton. Dies entsprach einer TOC-Konzentration von 2000 mg\*L<sup>-1</sup>. Für das eigentliche Medium wurde Leitungswasser verwendet. Diesem wurden 0,7218 g KNO<sub>3</sub>\*L<sup>-1</sup> zugesetzt. Dies entspricht einer Konzentration von 100 mg NO<sub>3</sub>-N\*L<sup>-1</sup>. Des Weiteren wurden 100 mg PO<sub>4</sub>\*L<sup>-1</sup> in Form von KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (142 mg\*L<sup>-1</sup>) zugegeben. Das Medium wurde autoklaviert um Abbauprozesse im Vorlagebehälter zu minimieren. Vor dem Autoklavieren wurde der pH-Wert mittels HCl auf pH 5 abgesenkt, da es bei der Denitrifikation zu einer pH-Anhebung kommt.

### 2.2.2 Nährmedium des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors

Es wurde Leitungswasser und entweder 15 oder 30 g NaCl\*L<sup>-1</sup> genutzt. In MS9 wurde die Ammoniumkonzentration gesenkt. 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> wurden in den Phasen MS3 bis MS5 verwendet und in MS6 wurde die Konzentration auf 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup> erhöht.

Tabelle 9 Nährmediumzusammensetzung des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors

	Konzentration [mg*L <sup>-1</sup> ]	Konzentration [mg N*L <sup>-1</sup> ]
MS1-8		
NH <sub>4</sub> Cl	684	179
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	66	
C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> (40 mg TOC*L <sup>-1</sup> )	137	
C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> (100 mg TOC*L <sup>-1</sup> )	342	
MS9		

NH <sub>4</sub> Cl	271	71
--------------------	-----	----

### 2.3 Lagerungs- und Aktivitätstests

Die Biomasse für die Lagerungstests wurde von einem Festbettreaktor entnommen. Dessen Volumen betrug 3,7 L, Durchmesser 10,5 cm, Höhe 37,0 cm. Die verwendeten Biofilmträger sind K1-Träger. Der Reaktor wurde bei Raumtemperatur betrieben mit einer Durchschnittstemperatur von 26,6 °C. Die mittlere HRT lag bei 9,5 Tagen mit einer durchschnittlichen N-Gesamt-Abbaurrate von 244,0 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>.

Es wurde das in Abschnitt 2.2 beschriebene synthetisches Medium und die Spurenelementelösung verwendet.

Drei Parameter wurden während der Lagerung verändert. Diese waren Temperatur, der verwendete Redoxpuffer sowie die Nährstoffversorgung. Vor der Lagerung wurden die bewachsenen Träger (Kaldnes-K1, Kaldnes, Tønsberg, Norwegen) aus dem Reaktor entnommen und in synthetischem Nährmedium (ohne NH<sub>4</sub><sup>+</sup> und NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) gewaschen. Es wurden jeweils 7 einzelne Träger in ein 20 mL Headspace Vial (Dr. Lange, Düsseldorf, Deutschland) transferiert. In jedes Vial wurden 13 mL synthetisches Medium mit einer Konzentration von 3 mM NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (42 mg NO<sub>2</sub>-N\*L<sup>-1</sup>) und 3 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (42 mg NH<sub>4</sub>-N\*L) gegeben. Die Vials wurden mit Butyl-Gummi-Stopfen und Alukappen versiegelt und anschließend mindestens 2 Minuten mit N<sub>2</sub>-Gas gespült.

Es wurden insgesamt 10 verschiedene Lagerungsbedingungen eingestellt. Jede Einzelne wurde als Dreifachansatz durchgeführt. Bei der Wahl der Bedingungen wurde sich an Ali et al. (2014b) orientiert. Die Vials wurden bei 4 °C und bei 20 °C gelagert. Der verwendete Redoxpuffer war entweder Molybdat (Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>\*2H<sub>2</sub>O) oder Nitrat (NaNO<sub>3</sub>). Sie wurden zu Beginn mit 3 mM bzw. 5,7 mM zugegeben. Des Weiteren wurde die Häufigkeit der intervallmäßigen Nährstoffzugabe zwischen alle 12 Tage, alle 23 Tage und gar keiner weiteren Zugabe variiert. Eine detaillierte Auflistung ist in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10 Lagerungsbedingungen, verwendete Redoxpuffer und Häufigkeit der Nährstoffzugabe

1	2	3	4	Lagerungsbedingung	5	6	7	8	9	10
4°C	4°C	4°C	4°C	Lagerungstemperatur	20°C	20°C	20°C	20°C	20°C	20°C
+	/	+	/	Zugabe des Redoxpuffers Nitrat	+	+	/	/	+	/
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/		NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	/	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/
/	+	/	+	Zugabe des Redoxpuffers Nitrat Molybdat	/	/	+	+	/	+
/	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	/	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>		/	/	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	/	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
+23d	+23d	n.z.	n.z.	Häufigkeit der Nährstoffzugabe	+23d	+12d	+23d	+12d	n.z.	n.z.

/: keine Zugabe

+ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: anfängliche Zugabe von 5.7 mM Nitrat als Redoxpuffer

+ MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>: anfängliche Zugabe von 3 mM Molybdat als Redoxpuffer

+12 d, +23 d, n. z.: Nährstoffzugabe (3 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup> / 3 mM NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) alle 12 Tage, 23 Tage oder nicht zugegeben. Für die Zugabe wurden von Nährstoffen wurden 0,9 mL des Mediums im Vial entnommen und mit 0,9 mL des nährstoff- und redoxpufferhaltigen Mediums ausgetauscht. Danach fand eine 2-minütige N<sub>2</sub>- Begasung statt.

## 2.4 Aktivitätsmessungen der an Salz adaptierten und der nicht adaptierten Anammox-Biomasse

### 2.4.1 Probenvorbereitung

Die spezifische Anammox-Aktivität (SAA) wurde bei 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 und 50 g NaCl\*L<sup>-1</sup> bestimmt. Die Adaptierung an die Salzkonzentrationen fand in einem mit synthetischem Abwasser betriebenen Anammox-Festbettreaktor statt (Vgl. 2.1.1). Die NaCl-Konzentrationen wurden schrittweise angehoben. Nachdem der Reaktor stabiles Abbauverhalten aufzeigte, wurde eine Probe entnommen.

Dazu wurde der Reaktor geöffnet und Trägermaterial (Polyurethanträger, Levapor GmbH, Bonn) aus dem oberen, mittleren und unteren Drittel der Reaktorhöhe entnommen. Die Träger wurden mit Nährmedium (ohne NH<sub>4</sub><sup>+</sup> und NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) gewaschen geviertelt und in 20 mL Headspace Vials überführt. Es wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Jedes Vial erhielt somit 6 Viertel der Träger. Anschließend wurden 14 mL Nährmedium ohne Stickstoffkomponente hinzugefügt. Anschließend wurden die Vials mit Butylgummistopfen und Alukappen versiegelt. Nun wurden die Vials für je 2 Minuten mit Stickstoff begast, um anaerobe Verhältnisse einzustellen. Über Nacht wurden die Vials in einer Box bei Raumtemperatur gelagert. Am Folgetag fand die eigentliche Messung statt.

Nicht adaptierte Biomasse wurde aus dem Reaktor entnommen, als dieser keiner erhöhten Salzkonzentration ausgesetzt war. Die Träger wurden in je ein Vial mit einer der zu messenden Salzkonzentration überführt. Somit stand zu einem Messpunkt immer eine komplette Salzkonzentrationsreihe zur Verfügung. Dies wurde dann später an zwei weiteren Terminen wiederholt, um so für jede Konzentration ein Tripel zu erhalten.

### 2.4.2 Aktivitätsmessung

Am Folgetag wurden den Vials 0,9 mL synthetisches Medium mit 730 mg NH<sub>4</sub>-N\*L<sup>-1</sup> und 886 mg NO<sub>2</sub>-N\*L<sup>-1</sup> zugefügt. Dies resultierte in Konzentrationen von 47 mg NH<sub>4</sub>-N\*L<sup>-1</sup> (3,3 mmol\*L<sup>-1</sup>) und 57 mg NO<sub>2</sub>-N\*L<sup>-1</sup> (4,1 mmol\*L<sup>-1</sup>), was zu einem NO<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub>-Verhältnis von 1,24 führte. Danach wurden die Vials für 3 Minuten mit Stickstoffgas gespült. Proben (immer 0,9 mL) zur Messung der Ammonium- und Nitritkonzentrationen wurden direkt im Anschluss, nach 1,5, 3, 4,5 und nach 6 Stunden entnommen. Nach jeder zweiten Messung erfolgte eine weitere Stickstoffspülung.

### 2.4.3 Bestimmung der spezifischen Anammox-Aktivität

Die gemessenen Konzentrationen zu den verschiedenen Zeitpunkten wurden in Stoffmenge pro Vial umgerechnet. Dies war wichtig, da sich bei jeder Probenahme das Verhältnis zwischen Biofilmbakterien und verfügbarer Flüssigkeit in Richtung des Biofilms verschob. Das bedeutet, dass die gleiche Anzahl weniger Reaktorflüssigkeit behandeln musste, was zu einer schnelleren Konzentrationsabnahme führte und somit einen schnelleren Abbau vorgetäuscht hätte. Aber durch die Umrechnung auf Stoffmenge konnte der Volumenverlust berücksichtigt werden.

## 2.5 Analytik

### 2.5.1 Photometrie

#### 2.5.1.1 Ammoniumbestimmung

Zu 5 mL (ggf. verdünnter) Probe wird mit 0,2 mL 50 % Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung (Seignettesalz,  $C_4H_4KNaO_6$ ) versetzt und geschüttelt. Im Anschluss werden 0,2 mL Kaliumtetraiodomercurat(II)-Lösung (Nessler-Reagenz,  $K_2[HgI_4]$ , VWR Fertigreagenz) hinzugegeben und wieder geschüttelt. Nach einer 5 – 10 minütigen Wartezeit wird die Extinktion bei 425 nm am Photometer (UV/VIS-Spektrometer UV- 2450, Shimadzu, Kyoto, Japan) gemessen (Höll, 1968). Bei der Reaktion entsteht Kaliumjodamalgam aus  $HgCl$  und  $KI$ . Es kommt zu einer dunkelgelben Färbung.

#### 2.5.1.2 Nitritbestimmung

Zu 5 mL (ggf. verdünnter) Probe werden 2 mL SA/NED Lösung hinzugegeben und nach 20 Minuten am Photometer (UV/VIS-Spektrometer UV- 2450, Shimadzu, Kyoto, Japan) bei 540 nm gemessen. Die SA/NED Lösung besteht zu 50 % aus Reinstwasser und zu je 25 % aus 1 %-iger Sulfanilamid-Lösung (1 % Sulfanilamid in 1,5N HCl) und 0,02 %-iger NED-Lösung (N-1 Naphtyl)-Ethylendiamindihydrochlorid) (Snell and Snell, 1948). Bei der Reaktion kommt es zu einer Diazotierung von Sulfanilsäure und einer anschließenden Azokopplung mit  $\alpha$ -Naphtylamin. Es kommt zu einer Rosafärbung.

### 2.5.1.3 Nitratbestimmung

50  $\mu\text{L}$  der (ggf. verdünnten) Probe werden mit 0,2 mL 5 % Salicylsäure gelöst in konzentrierter Schwefelsäure versetzt und geschüttelt. Nach 20 Minuten werden 4 mL 2N NaOH zugegeben und geschüttelt. Nach Abkühlung auf RT wird bei 410 nm photometrisch (UV/VIS-Spektrometer UV- 2450, Shimadzu, Kyoto, Japan) gemessen (Cataldo et al., 1975). Bei der Reaktion findet eine alkalische Nitrierung von Salicylsäure statt und es bildet sich Nitrosalicylsäure. Es kommt zu einer gelben Färbung.

### 2.5.1.4 Aufschlussverfahren für die Proteinbestimmung

Mit Biomasse besetzte Träger werden auf einen Filter (45  $\mu\text{m}$  Whatman ME 25/21, GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg, Deutschland) gebracht, drei Mal mit Leitungswasser und zwei Mal mit 0,1M  $\text{KPO}_4$  (pH7) gewaschen. Die Träger und die Biomasse auf dem Filter werden in Vials gegeben. Dazu werden 20 mL 1N NaOH gegeben und bei RT 15 Minuten inkubiert. Anschließend werden die Vials 5 Minuten lang auf 100 °C erhitzt und gelegentlich geschüttelt. Nach Ablauf der 5 Minuten werden die Vials sofort mittels eines Eisbades abgekühlt. Daraufhin wird die Flüssigkeit aus den Vials in Zentrifugenröhrchen überführt und für 15 Minuten bei 5300 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird zur Proteinbestimmung genutzt (Stecker, 1994).

### 2.5.1.5 Proteinbestimmung

Die Proteinbestimmung wird nach Lowry et al. (1951) durchgeführt. Es werden Reagenz A und B benötigt. Reagenz A setzt sich zu 50 % aus 1 %-iger  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -Lösung und zu 50 % aus 2 %-iger Kalium-Natrium-Tartrat-Lösung zusammen. Reagenz B besteht aus 50 mL einer 2 %-igen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, gelöst in 0,1N NaOH-Lösung und 1 mL von Reagenz A. Nach 10 Minuten werden 0,2 mL Folin-Ciocalteu-Reagenz hinzugegeben. Nach 60 Minuten werden unmittelbar vor der photometrischen Messung (DU 640, Beckman Coulter, Brea, USA) 2 mL Reinstwasser hinzugegeben und geschüttelt. Die Messung wird bei 570 nm durchgeführt. Es werden die Reduktionsprodukte eines Phosphor-Molybdän-Phosphor-Wolfram-Reagenzes mit einem Kupfer-Protein-Komplex gebildet. Es entsteht eine bläuliche Färbung. Die gemessene Konzentration muss anschließend durch 50 geteilt werden, da die Proteine nur in 20 mL NaOH gelöst wurden und nicht in einem Liter.

### 2.5.2 TOC-Messung

Die Messung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) wurde mit dem Gerät DIMA TOC-100 durchgeführt.

### 2.5.3 Molekularbiologische Methoden

#### 2.5.3.1 Isolierung bakterieller DNA aus Biofilmen

500  $\mu\text{L}$  Probenmaterial wurde in ein 2 mL Eppendorf-Tube überführt und bei 12 000 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur (RT) zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert, das Pellet mit einer Mischung aus 1 mL Extraktionspuffer (2 % CTAB, 0,1 M Tris-HCl, 20 mM EDTA, 1,4 M NaCl, pH 8) und 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K (20  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) versetzt und unter Schütteln eine Stunde bei 65 °C inkubiert. Nach Zugabe von 20  $\mu\text{L}$  RNase A (10  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) erfolgte eine weitere Inkubation für eine Stunde bei 65 °C. Anschließend wurde erneut bei 12 000 x g bei RT für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues 2 mL Eppendorf-Tube überführt und mit Chloroform im Verhältnis 1:1 versetzt. Die Mischung wurde durch gründliches Mischen homogenisiert, anschließend bei 12 000 x g 10 Minuten bei RT zentrifugiert und der Überstand in ein neues 2 mL Eppendorf-Tube überführt. Die DNA wurde durch Zugabe von CTAB-Lösung (Cetyltrimethylammoniumbromid (0,5 %, 40 mM NaCl) im Verhältnis 2:1 präzipitiert, mittels Zentrifugation für 5 Minuten bei RT mit 12 000 x g sedimentiert und anschließend in 350  $\mu\text{L}$  1,2 molarer NaCl-Lösung resuspendiert. Dazu wurden 350  $\mu\text{L}$  Chloroform gegeben, homogenisiert und bei 12 000 x g für 10 Minuten bei RT zentrifugiert. Das entstandene Pellet wurde mit 500  $\mu\text{L}$  70 % Ethanol gewaschen, zentrifugiert (12 000 x g, 10 Minuten, RT), luftgetrocknet und abschließend in 100  $\mu\text{L}$  Reinstwasser aufgenommen.

#### 2.5.3.2 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Im Folgenden sind die verwendeten PCR-Protokolle für den Nachweis der untersuchten Bakteriengruppen: Bakterien (universal), Nitrifikanten, Denitrifikanten und Anammox-Bakterien aufgeführt. Für die Amplifikation der DNA wurden die Agenzien basierend auf dem DreamTaq-System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) in einem 0,2 mL PCR-Reaktionsgefäß zusammen pipettiert. Das Gesamtvolumen eines PCR-Ansatzes betrug 25  $\mu\text{L}$ . Die verwendeten Primer sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Die Ansätze wurden in einem Thermocycler (Primus 96., MWG Biotech, Ebersberg, Deutschland) inkubiert. Zur Sichtbarmachung der entstandenen Amplifikate wurde ein Agarosegel (1 %) hergestellt. Dazu wurde die Agarose (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) in 1x

TAE- Puffer (Mischung aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on im Verhältnis 3 zu 1) suspendiert, drei Mal kurz in der Mikrowelle aufgekocht, bei RT abgekühlt, 10 µL Ethidiumbromid (interkalierender Farbstoff (Stammlösung 1 µg\*µL<sup>-1</sup>) hinzu pipettiert und warm in vorbereitete Gelschlitten gegossen. Neben den Amplifikaten wurde ein Größenstandard (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder, Thermo Scientific, Waltham, USA) aufgetragen. Bei einer Spannung von 100 V (Volt) und einer Laufzeit von einer Stunde wurden die DNA- Fragmente der Größe nach aufgetrennt und mittels UV- Transilluminator (Vilber Lourmat, Eberhardzell, Deutschland) sichtbar gemacht. Zur Quantifizierung der DNA-Menge wurden die Gelelektrophoresebilder mittels der Software GelixOne g230 (biostep GmbH, Burkhardtsdorf, Deutschland) ausgewertet (Rathsack et al., 2014).

### 2.5.3.3 PCR- Methodenprotokolle

Tabelle 11 Bakterien (Zielgen: 16S-rDNA, universal) Reaktionsansatz

Reagenz	Konz./ Endkonz.	µL/ 25 µL
PCR-Wasser		13,4
DreamTaqPuffer + MgCl <sub>2</sub>	10x/ 1x 2 mM	2,5
Forward Primer: 27f	5 µM/0,2 µM	1
Reverse Primer: 1525r	5 µM/0,2 µM	1
BSA	20 mg*ml <sup>-1</sup> / 0,8 mg*ml <sup>-1</sup>	1
dNTP	10 mM/ 0,2 mM	0,5
DMSO		0,5
DreamTaq DNA- Polymerase	5U/ 1U	0,1
Gesamtvolumen		20

Tabelle 12 Temperatur-Zeitprogramm für 16S-rDNA, universal

Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elongation	Abkühlung
95°C	94°C	55°C	72°C		72°C	
15 min	30 s	60 s	90 s	30x	10 min	8°C

Amplifikatlänge: 1565 bp

Tabelle 13 Anammox (Zielgen: Anammox spezifische 16S-rRNA) Reaktionsansatz

Reagenz	Konz./ Endkonz.	µL/ 25 µL
PCR-Wasser		13,4
DreamTaq- Puffer + MgCl <sub>2</sub>	10x/ 1x 2 mM	2,5
Forward Primer: Amx368F	25 µM/ 1 µM	1
Reverse Primer: Amx820r	25 µM/ 1 µM	1
BSA	20 mg*ml <sup>-1</sup> / 0,8 mg*ml <sup>-1</sup>	1
dNTP	10 mM/ 0,2 mM	0,5
DMSO		0,5
DreamTaq DNA- Polymerase	5U/ 1U	0,1
Gesamtvolumen		20

Tabelle 14 Temperatur-Zeitprogramm für Anammox spezifische 16S-rRNA

Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elongation	Abkühlung
94 °C	94 °C	50 °C	72 °C			
5 min	60 s	60 s	90 s	10x		
	94 °C	54 °C	72 °C		72 °C	

Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elongation	Abkühlung
94 °C	94 °C	50 °C	72 °C			
	60 s	60 s	60 s	20x	10 min	8 °C

Amplifikatlänge: 425 bp

Tabelle 15 Denitrifikanten (Zielgen: Nitritreduktase- Gen, *nirK*) Reaktionsansatz

Reagenz	Konz./Endkonz.	µL/ 25 µL
PCR-Wasser		11,4
Maxima HotStart Puffer	10x/ 1x	2,5
MgCl <sub>2</sub> (HotStart)	25 mM/ 2 mM	2
Forward Primer: F1aCu	5 µM/ 0,2 µM	1
Reverse Primer: R3Cu	5 µM/ 0,2 µM	1
BSA	20 mg*ml <sup>-1</sup> / 0,8 mg*ml <sup>-1</sup>	1
dNTP	10 mM/ 0,2 mM	0,5
DMSO		0,5
Maxima HS Taq- polymerase	5U/ 1U	0,1
Gesamtvolumen		20

Tabelle 16 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen *nirK*

Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elongation	Abkühlung
94 °C	94 °C	57 °C	73 °C		75 °C	Halt
3 min	30 s	60 s	60 s	35x	10 min	8 °C

Amplifikatlänge: 425 bp

Tabelle 17 Denitrifikanten (Zielgen: Nitritreduktase- Gen, *nirS*) Reaktionsansatz

Reagenz	Konz./ Endkonz.	µL/ 25 µL
PCR-Wasser		11,4
Maxima HotStart-Puffer	10x/ 1x	2,5
Forward Primer: nirScd3aF	5 µM/ 0,2 µM	1
Reverse Primer: nirSR3cd	5 µM/ 0,2 µM	1
MgCl <sub>2</sub> (HotStart)	25 mM/ 2 mM	2
BSA	20 mg*ml <sup>-1</sup> / 0,8 mg*ml <sup>-1</sup>	1
dNTP	10 mM/ 0,2 mM	0,5
DMSO		0,5
Maxima HS Taq-Polymerase	5U/ 1U	0,1
Gesamtvolumen		20

Temperatur-Zeitprogramm PCR

Tabelle 18 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen *nirS*

Denaturie- rung	Denaturie- rung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elon- gation	Abkühlung
94 °C	94 °C	56 °C	72 °C		72 °C	
2 min	30 s	90 s	90 s	36x	10 min	8 °C

Amplifikatlänge: 406 bp

Tabelle 19 Nitrifikanten (Zielgen: Ammoniummonooxygenase, *amoA*) Reaktionsansatz

Reagenz	Konz./ Endkonz.	$\mu\text{L}/ 25 \mu\text{L}$
PCR-Wasser		14,4
DreamTaqPuffer + $\text{MgCl}_2$	10x/ 1x 2mM	2,5
Forward Primer: <i>amoA1F</i>	10 $\mu\text{M}/ 0,2 \mu\text{M}$	0,5
Reverse Primer: <i>amoA2R</i>	10 $\mu\text{M}/ 0,2 \mu\text{M}$	0,5
BSA	20 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}/ 0,8 \text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$	1
dNTP	10 mM/ 0,2 mM	0,5
DMSO		0,5
DreamTaq DNA-Polymerase	5U/ 1U	0,1
Gesamtvolumen		20

Tabelle 20 Temperatur-Zeitprogramm PCR für Gen *amoA*

Denaturierung	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklen	finale Elongation	Abkühlung
94 °C	94 °C	60 °C	72 °C		72 °C	Halt
5 min	60 s	90 s	90 s	40x	10 min	8 °C

Amplifikatlänge: 491bp

#### 2.5.4 DNA-Extraktion und Amplifizierung mittels quantitativer Realtime-PCR (qPCR)

Mittels Chloroform/ Isopropanol- Extraktion wurde die DNA von 0,5 mL Probenmaterial extrahiert. Die DNA wurde in 100  $\mu\text{L}$  Reinstwasser eluiert und bei -80 °C gelagert. Das Extraktionsverfahren wird detailliert in Rathsack et al. (2014) beschrieben. Die DNA Amplifizierungen wurde für verschiedene funktionelle Gene durchgeführt und wird in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21 Ziel-Gene, Primer, Sequenzen, Reaktionsmischung und qPCR Bedingungen der DNA Amplifikation

Ziel-Gen	Primer	Sequenz	Quelle	Master Mix	qPCR Bedingungen
				PCR Mastermix 12,5 µL SYBR Green I, SYBR Green PCR-Puffer, HotStart Tag DNA Polymerase und dNTP Mix (Roche, Deutschland), Gesamtvolumen 25 µL	
<i>16S rDNA</i>	NadF	5'-TCCTACGGGAGGCAGCAGT-3'	Nadkarni et al. (2002)	0,25 µM Primer, 2,0 µL DNA verdünntes Template und PCR-Wasser	600 s bei 95 °C, 35 Zyklen von 10 s bei 95 °C, 20 s bei 60 °C und 25 s bei 72 °C
	NadR	5'-GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT-3'			
<i>nirS</i>	cd3aF	5'-GGGGTTTCTACTGGTGGT-3'	Throbäck et al. (2004)	0,4 µM Primer, 5,0 µL DNA verdünntes Template und PCR-Wasser	900 s bei 95 °C, 40 Zyklen von 10 s bei 95 °C, 20 s bei 59 °C und 22 s bei 72 °C
	R3cd	5'-CCCCTC(G/T)G(G/C)AAAGCCTTCTTC-3'			
<i>nirK</i>	1F	5'-GGMATGGTKCCSTGGCA-3'	Modifiziert nach Braker et al. (1998)	0,5 µM Primer, 5,0 µL DNA verdünntes Template und PCR-Wasser	900 s bei 95 °C, 9 Zyklen Touchdown von 15 s bei 95 °C, 20s bei 59-63 °C, 30 s bei 72 °C, 30 Zyklen von 15 s bei 95 °C, 20 s bei 59 °C und 30 s bei 72 °C
	5R	5'-GCCTCGATCAGRTRRTGGTT-3'			
<i>amoA</i>	amoA-1F	5'-GGGGTT TCT ACT GGT GGT-3'	Rotthauwe & Witzel (1997)	0,4 µM Primer, 5,0 µL DNA verdünntes Template und PCR-Wasser	900 s bei 95 °C, 40 Zyklen von 10 s bei 95 °C, 20 s bei 56 °C und 16 s bei 72 °C
	amoA-2R	5'-CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC-3'			
<i>hzsA</i>	hzsA 1597F	5'-WTYGGKTATCARTATGTAG-3'	Harhangi et al. (2012)	0,5 µM Primer, 5,0 µL DNA verdünntes Template und PCR-Wasser	600 s bei 95 °C, 40 Zyklen von 10 s bei 95 °C, 15 s bei 55 °C und 20 s bei 72 °C
	hzsA 1857R	5'-AAABGGYGAATCATARTGGC-3'			

Die qPCR wurde in einem LightCycler® Nano Instrument (Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) durchgeführt. Die Spezifität jedes qPCR Assays wurde durch Nutzung der Schmelzkurvenanalyse am Ende jeder Reaktion mit einer Temperaturwechselrate von  $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$  verifiziert. Das Programm LightCycler® Nano Software 1.1 wurde für die Auswertung verwendet. Die Standardkurven wurden mit bekannten Mengen an Plasmid-DNA (Coban, 2015), erstellt. Diese gereinigte Plasmid-DNA wurde mit PicoGreen® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) markiert und die Kopienanzahl pro Mikroliter wurde aus der Zahl der Basenpaare des Plasmids berechnet. Das durchschnittliche Gewicht eines Basenpaares in doppelsträngiger DNA (660 Da) und die Konzentration in ng/  $\mu\text{L}$  wurde von der Quantifizierung übernommen. Jede Standardkurve basierte auf einer Reihe von 10 Verdünnungen in einem Messbereich von  $10^1$  bis  $10^7$  Kopien pro qPCR. Jede qPCR wurde als Dreifachbestimmung mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R^2 > 0,99$  durchgeführt. Eine Verifizierung fand durch Schmelzkurvenanalysen und durch 1,0 % (w/v) Agarose Gel Elektrophorese statt. Die erhaltene Anzahl an Gen-Kopien wurde mit der Zellzahl durch Division mit der bekannten Anzahl an Gen-Kopien korreliert. Fogel et al. (1999) evaluierten, sodass die durchschnittliche *16S rDNA* Kopienzahl pro Zelle bei 3,8 liegt. Demzufolge entspricht die erhaltene Gen-Kopien Anzahl 26,3 % der *in situ* Bakterienzahl. In der gleichen Weise wurde dies für das funktionelle Gen *nirS* durch Multiplizierung mit dem Faktor 1 (Philippot and Hallin, 2005), für das Gen *amoA* mit dem Faktor 0,5 (Norton, et al., 2002) und für das Gen *hzsA* mit dem Faktor 1 (Sokoll et al., 2012) durchgeführt.

### 2.5.5 Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH)

Die FISH Analyse wurde nach Amann et al. (1990) ausgeführt. Um die Gesamtzahl der Bakterien zu ermitteln, wurde die Sonde EUB 338 I (5'- GCT GCC TCC CGT AGG AGT -3') genutzt (Amann et al., 1990). Des Weiteren wurden drei Anammox spezifische Sonden verwendet. Diese waren für das Bakterium "*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*" die Sonde KST157 (5'-GTTCCGATTGCTCGAAAC-3') (Schmid et al., 2001), für das Bakterium "*Candidatus Brocadia anammoxidans*" die Sonde BAN162 (5'-CGG-TAGCCCCAATTGCTT-3') (Schmid et al., 2000) und für das Bakterium "*Candidatus Brocadia fulgida*" die Sonde BFU613 (5'-GGA TGC CGT TCT TCC GTT AAG CGG-3') (Kartal et al., 2008b). Für nitrifizierende Bakterien wurden die Sonden NSO1225 (5'-CGC CAT TGT ATT ACG TGT GA -3'), spezifisch für ammoniumoxidierende  $\beta$ -*Proteobakterien*, NSV443 (5'- CCG TGA CCG TTT CGT TCC G -3'), spezifisch für *Nitrosolobus multiformis*, *Nitrospira briensis* und *Nitrosovibrio tenuis*, NSM156 (5'- TAT-TAGCACATC TTTCGAT-3'), spezifisch für *Nitrosomonas C-56*, *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas eutropha* und *Nitrosococcus mobilis* (alle Mobarry et al., 1996) und

NIT3 (5'- CCTGTGCTCCATGCTCCG-3'), spezifisch für *Nitrobacter spp.* (modifiziert nach Wagner et al. (1996)), NSTPA712 (5'-CGC CTT CGC CAC CGG TGT TCC -3') (Daims et al., 2001), spezifisch für fast alle *Nitrospira* verwendet. Die Proben wurden mit DAPI-Lösung (4',6-Diamidin-2-phinyindol 100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) gegengefärbt. Die Bilder wurden mit einem Epifluoreszenz-Mikroskop (Nikon Eclipse LV100 Pol, Nikon, Tokyo, Japan) aufgenommen und mit der Software NIS-Elements BR 3.10 (Nikon, Tokyo, Japan) ausgewertet.

### 2.5.6 Isolation von Denitrifikanten mittels Verdünnungsverfahren

Mit der Verdünnungs-Methode sollten Denitrifikanten isoliert werden, die nur bis zum Nitrit denitrifizieren. Die Durchführung ist an Michels et al. (2008) und Rathsack et al. (2014) angelehnt. Dafür wurde ein Nährmedium hergestellt und 15 g Nährbouillon II der Firma Sifin und 1,5 g  $\text{KNO}_3$  in einem Liter destilliertem Wasser gelöst. Anschließend wurde der pH-Wert auf 7,2 eingestellt. Je 9 mL der Nährlösung wurden in mit Durhamgläschen bestückte Schraubverschlussröhrchen überführt und folgend für 15 Minuten bei 121 °C autoklaviert.

Der nächste Schritt ist die Herstellung der Verdünnungsreihen. Es wurden 7 Verdünnungsstufen ( $10^{-1}$  bis  $10^{-7}$ ) durchgeführt. Hierzu wurden die Verdünnungsröhrchen, gefüllt mit 9 mL verdünntem (1:100) und sterilem Nährmedium, jeweils mit 1 mL der vorherigen Verdünnungsstufe versetzt. Die Verdünnungen werden jeweils gemischt, bevor mit jeweils einer neuen Pipettenspitze 1 mL für die nächste Verdünnungsstufe entnommen wurde. Es wurden ebenfalls Negativkontrollen mitgeführt. Je 1 mL der jeweiligen Verdünnungen wurden dann in jeweils 5 Schraubverschlussröhrchen überführt. Anschließend wurden die Ansätze bei RT für 6 Tage und anschließend nochmals für 3 Tage bei 36 °C inkubiert. Nun wurde geprüft, ob die Röhrchen Gasbildung in den Durhamgläschen aufzeigten. Gasbildung deutete auf eine komplette Denitrifikation hin. Diese Röhrchen wurden somit verworfen. Wenn eine Trübung im Röhrchen erkennbar war, deutete dies auf Bakterienwachstum hin. Hier wurde dann die höchste Verdünnungsstufe gewählt. Es wurde nun die Nitritkonzentration ermittelt (Vgl. 2.5.1.2). Es wurde ein Verdünnungsfaktor von 100 verwendet. Nitritbildung wurde nur augenscheinlich durch die Stärke der Verfärbung ermittelt. Wenn Nitrit gefunden wurde, konnte diese Probe weiter in Flüssigkultur, wie beschrieben, für weitere zwei Wochen bei RT gezüchtet und anschließend für die Experimente zur partiellen Denitrifikation verwendet werden.

## 2.6 Berechnungen

### 2.6.1 Abbaurate NH<sub>4</sub>-N

$$B_{NH_4-N} = (Q * C_{NH_4-N_{Zu}}) - (Q * C_{NH_4-N_{Ab}}) \quad \text{Formel 10}$$

$B_{NH_4-N}$  : Abbaurate NH<sub>4</sub>-N [mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>]

Q : Zulaufvolumenstrom [L\*d<sup>-1</sup>]

$C_{NH_4-N,Zu}$  : Zulaufkonzentration NH<sub>4</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

$C_{NH_4-N,Ab}$  : Ablaufkonzentration NH<sub>4</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

### 2.6.2 Abbaurate NO<sub>2</sub>-N

$$B_{NO_2-N} = (Q * C_{NO_2-N_{Zu}}) - (Q * C_{NO_2-N_{Ab}}) \quad \text{Formel 11}$$

$B_{NO_2-N}$  : Abbaurate NO<sub>2</sub>-N [mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>]

Q : Zulaufvolumenstrom [L\*d<sup>-1</sup>]

$C_{NO_2-N,Zu}$  : Zulaufkonzentration NO<sub>2</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

$C_{NO_2-N,Ab}$  : Ablaufkonzentration NO<sub>2</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

### 2.6.3 Bildungsrate NO<sub>3</sub>-N

$$B_{NO_3-N} = (Q * C_{NO_3-N_{Ab}}) - (Q * C_{NO_3-N_{Zu}}) \quad \text{Formel 12}$$

$B_{NO_3-N}$  : Abbaurate NO<sub>3</sub>-N [mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>]

Q : Zulaufvolumenstrom [L\*d<sup>-1</sup>]

$C_{NO_3-N,Zu}$  : Zulaufkonzentration NO<sub>3</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

$C_{NO_3-N,Ab}$  : Ablaufkonzentration NO<sub>3</sub>-N [mg\*L<sup>-1</sup>]

### 2.6.4 Abbaurrate N-Gesamt

$$B_{N-Gesamt} = Q * (C_{NH_4-N_{Zu}} + C_{NO_2-N_{Zu}} + C_{NO_3-N_{Zu}}) - (C_{NH_4-N_{Ab}} + C_{NO_2-N_{Ab}} + C_{NO_3-N_{Ab}}) \quad \text{Formel 13}$$

### 2.6.5 Berechnung der Aktivität

$$SAA = \frac{(n N_{txn.P.} - n N_{tyv.P.})}{(t_x - t_y) * m_{Protein}} \quad \text{Formel 14}$$

SAA : spezifische Anammox-Aktivität [ $\mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ]

$n N_{txn.P.}$  : Stoffmenge im Vial direkt nach der Probenahme zum Zeitpunkt x genommen wurde [ $\mu\text{mol}$ ]

$n N_{tyv.P.}$  : Stoffmenge im Vial direkt vor Probenahme zum Zeitpunkt y [ $\mu\text{mol}$ ]

$t_x$ ;  $t_y$  : Messzeitpunkte [h]

$m_{Protein}$  : Masse der gemessenen Proteine

Es wurde von jedem Vial der Zeitabschnitt mit der zweithöchsten Aktivität gewählt. Somit konnte der Einfluss von Ausreißern auf die Ergebnisse minimiert werden.

### 2.6.6 Maximal mögliche Stickstoffabbau durch heterotrophe Denitrifikation

Die Berechnung wurde nach Giustinianovich et al. (2016) und Val del Rio et al. (2018) durchgeführt.

$$N - Gesamt_{Deni} = (C_{TOC_{Zu}} - C_{TOC_{Ab}}) * 0,933 \quad \text{Formel 15}$$

$N - Gesamt_{Deni}$  : maximale theoretische heterotrophe Denitrifikationskapazität

$C_{TOC_{Zu}}$  : TOC-Zulaufkonzentration [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]

$C_{TOC_{Ab}}$  : TOC-Ablaufkonzentration [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ]

0,933: stöchiometrischer Faktor (als  $\text{g NO}_3\text{-N/g C}$ ), welcher den Nitrat- und Kohlenstoffverbrauch der heterotrophen Denitrifikation bei der Nutzung von Essigsäure beschreibt.

Es könnten auch die Frachten zur Berechnung genutzt werden, aber zur Veranschaulichung eignen sich die Konzentrationen besser.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Synthetischer Anammox-Reaktor

Grundvoraussetzung der Arbeit war der erfolgreiche Betrieb von Anammox-Reaktoren, um später geeignete Biomasse zur Verfügung zu haben. Der Reaktor nutzte zu Beginn Träger K3 der Firma Kaldnes (Tønsberg, Norwegen). Diese wurden dann mit Trägern K1 gemischt. Die Träger bieten eine innere Oberfläche von 800 m<sup>2</sup> pro m<sup>3</sup> Schüttung. Es wurde die maximale Abbauleistung ermittelt, in dem die Fracht so lang erhöht wurde, bis die Konzentrationen im Ablauf des Reaktors anstiegen. Es konnten 350 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> bis 400 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> erreicht werden, in der Spitze waren auch 450 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> möglich (siehe

Abbildung 14). Später wurden auch, die in den membranbelüfteten Reaktoren verwendeten PU-Schaumstoffwürfel als Aufwuchsträger eingesetzt.

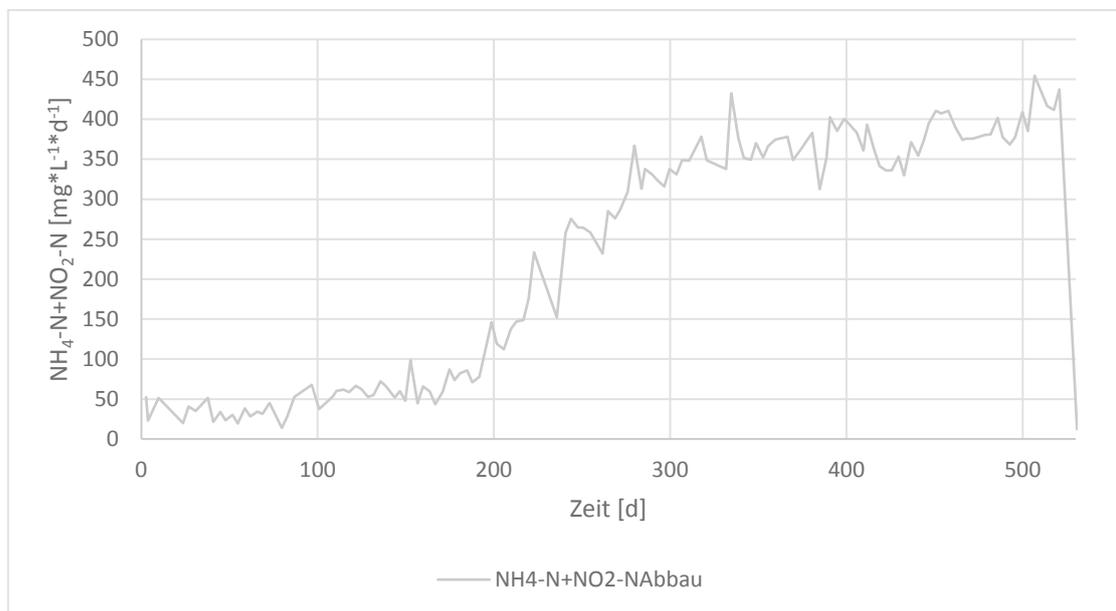


Abbildung 14 Reaktorabbauleistung des synthetisch betriebenen Anammox-Reaktors

### 3.2 Nitritationsreaktor als Vorstufe für einen Anammox-Reaktor

Der Reaktor war als Vorstufe für einen nachfolgenden Anammox-Reaktor konzipiert. Das Ziel des Reaktors war eine stabile Nitritation. Im Idealfall sollte die Nitritationsstufe ein Medium bereitstellen, welches etwa 50 % Nitrit-Stickstoff und 50 % Ammonium-Stickstoff enthält mit möglichst wenig Nitrat-Stickstoff und totalen organischen Kohlenstoff (TOC).

Da der Projektpartner in seiner Nitrifikationsstufe Biomasseträger des Typs Kaldnes K1 nutzt, wurden bei den Experimenten zur Nitritation ebenfalls diese Träger verwendet. Später wurde auf ein Belebtschlammverfahren umgestellt, da zum einen mit dem Trägersystem keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden konnten und zum anderen in der Literatur Belebtschlammssysteme erfolgreich eingesetzt wurden, wenn auch mit anderen Rahmenbedingungen, um Nitrit zu produzieren.

Im folgenden Kapitel werden die Hauptcharakteristiken der einzelnen Messreihen dargestellt. Daraufhin werden die einzelnen Messreihen detailliert in ihren einzelnen Phasen beleuchtet. Die folgende Tabelle beschreibt die jeweiligen Hauptcharakteristika der einzelnen Messreihen sowie die Unterschiede der einzelnen Phasen untereinander innerhalb einer Messreihe.

Tabelle 22 Hauptcharakteristika und Unterschiede der einzelnen Messreihen für eine mögliche Vorstufe (Nitritationsstufe) eines Anammox-Reaktors

Messreihe	Phasen	Hauptcharakteristika	Unterschiede in einzelnen Phasen
1	1 - 4	Belüftung 1 min, HRT konstant	Ruhepausen
2	5 - 9	Belüftung 0,75 min, HRT konstant	Ruhepausen
3	10 - 18	Belüftung quasikontinuierlich	O <sub>2</sub> Konzentration
4	19 - 23	Nachgeschaltete Deni, O <sub>2</sub> -Konzentration 0,1 mg*L <sup>-1</sup> , HRT konstant	Temp. TS

5	24 - 32	Nachgeschaltete Deni, sequentielle Belüftung	Belüftung und Ruhepausen einheitlich HRT und wech- selnde HRT
6	33 - 39	Belebtschlamm, Quasikont. Belüftung, pH Zulauf 8,5	HRT, Temp.;
7	40 - 46	Belebtschlamm, quasikont. niedrige Temp.	Temp, O <sub>2</sub> HRT
8	47 - 57	Belebtschlamm, vorgeschaltete Deni sequentielle Belüftung	Belüftung und Ruhepau- sen, HRT
9	58 - 65	Modell-Kläranlage Cottbus	Belüftung und Ruhepausen Rezirkulationsverhältnis

Der Nitritationsreaktor wurde in den Messreihen 1 bis 5 mit Kaldnes K1-Trägern als Aufwuchskörper betrieben. Der Füllgrad lag bei 40 Vol. %. In den Messreihen 5 bis 8 wurde Belebtschlamm verwendet. In Messreihe 9 wurde ein Modell der Kläranlage Cottbus genutzt.

### 3.2.1 Messreihe 1 (Belüftungsdauer 1 Minute; divergierende Belüftungspausen)

*Teile dieser Ergebnisse sind in der Studienarbeit von Eifler (2012) beschrieben.*

Das Belüftungsregime in der Messreihe 1 (Phase 14) und der Messreihe 2 (Phasen 5-9) wurde mit Hilfe einer Zeitschaltuhr realisiert. Die Steuerung der zugeführten Luftmengen erfolgte mittels Massendurchflussregler (MFC, Aalborg Instruments & Controls, Inc, New York, USA) und der Sauerstoffgehalt des Reaktors wurde kontinuierlich geloggt. Die Beschickung des Nitritationsreaktors erfolgt mit Hilfe von realem Abwasser aus der Kläranlage Cottbus. Als Aufwuchskörper wurden die Träger Kaldnes-K1 der Firma Kaldnes verwendet. Sie wurden mit einem Füllgrad von 40 Vol. % in den Reaktor gegeben. In Tabelle 23 werden die wesentlichen Prozessbedingungen der Nitritation und Ergebnisse der ersten Messreihe zusammengefasst.

Während der Messreihe 1 betrug die Belüftungsdauer stets eine Minute. Der eingeblasene Luftstrom lag bei rund  $3,0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . Die Dauer der Belüftungspausen variierte von 30 Minuten, 20 Minuten, 15 Minuten bis 10 Minuten. Raumtemperaturbedingt sank die Temperatur im Reaktor von  $26,5 \text{ °C}$  auf  $22,9 \text{ °C}$  (Vgl. Tabelle 23).

Während Phase 1 mit einer 30-minütigen Belüftungsphase wurden lediglich rund 3 % des zugeführten Stickstoffs in Nitrit-Stickstoff (NO<sub>2</sub>-N) umgesetzt. In den Phasen 2 bis 4 wurden zwischen 16,5 % und 28 % der zulaufenden Ammonium-Stickstoff-Fracht (NH<sub>4</sub>-N-Fracht) in NO<sub>2</sub>-N umgesetzt. Allerdings wurden besonders in den Phasen 3 und 4 79,3 % bzw. 92,2 % des NH<sub>4</sub>-N abgebaut, was mit einem Anstieg des Nitrat-Stickstoffs (NO<sub>3</sub>-N) einhergeht.

Tabelle 23 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritationsreaktors in der ersten Messreihe. HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur), ± (Standardabweichung)

Phasen Nr.	Belüftung aus an [min]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulauffracht NH <sub>4</sub> -N [mg * L <sup>-1</sup> * d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
1	30 - 1	1,10 ±0,20	26,5 ±1,0	7,72 ±0,10	92,6 ±13,3	39,6 ±8,2	45,3 ±13,9	3,0 ±3,3	2,7 ±3,1
2	20 - 1	1,04 ±0,08	25,7 ±0,7	7,66 ±0,15	94,2 ±12,8	34,1 ±6,9	57,1 ±6,9	16,4 ±5,2	6,6 ±3,4
3	10 - 1	1,09 ±0,02	23,3 ±0,0	7,20 ±0,00	79,9 ±3,1	34,4 ±11,5	92,1 ±2,2	28,0 ±5,4	29,9 ±10,9
4	15 - 1	1,07 ±0,03	22,9 ±0,2	7,56 ±0,10	76,0 ±2,6	43,2 ±5,0	79,3 ±1,3	19,4 ±3,5	16,6 ±6,4

### 3.2.2 Messreihe 2 (Belüftungsdauer 0,75 Minuten/ 0,5 Minuten; divergierende Belüftungspausen)

Teile dieser Ergebnisse sind in der Bachelorarbeit von (Buck, 2013) beschrieben.

In Messreihe 2 sollten die hohen Nitritbildungsraten, der Phasen 3 und 4 aus Messreihe 1, bei stetig sinkenden Reaktortemperaturen reproduziert werden. Zusätzlich wurde in dieser Messreihe die Belüftungsdauer herabgesetzt. Dadurch sollte die Verfügbarkeit hoher Konzentrationen freien Sauerstoffs eingeschränkt und somit die Nitratbildungsrate gesenkt werden. Das eingetragene Luftvolumen wurde nicht verändert und betrug wie im vorangegangenen Versuch  $3,0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . Es wurden weiterhin K1-Träger genutzt.

Die Nitritbildungsrate war in allen Messphasen annähernd gleich. Im Vergleich zu einer Belüftungszeit von 0,75 Minuten ergaben Belüftungszeiten von 0,5 Minuten weit geringere Nitratkonzentrationen und erhielten mehr Ammonium. Jedoch blieb der Gesamtstickstoff-Abbau bei allen Einstellungen vergleichbar.

Tabelle 24 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritationsreaktors in der zweiten Messreihe (Phasen 5-9). HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur),  $\pm$  (Standardabweichung)

Phasen Nr.	Belüftung aus an [min]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufkonz. $\text{NH}_4\text{-N}$ [ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ]	N-Ges Abbau [%]	$\text{NH}_4\text{-N}$ - Abbau [%]	$\text{NO}_2\text{-N}$ -Bildung [%]	$\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung [%]
5	18 - 0,75	1,21 0,47	22,3 $\pm 1,3$	7,41 $\pm 0,42$	86,6 $\pm 61,9$	22,6 $\pm 3,8$	65,3 $\pm 29,3$	8,5 $\pm 8,1$	62,1 $\pm 47,1$
6	25 - 0,75	1,12 $\pm 0,03$	22,4 $\pm 0,6$	6,93 $\pm 0,63$	56,7 $\pm 32,3$	28,1 $\pm 15,3$	67,5 $\pm 26,1$	7,3 $\pm 12,7$	41,3 $\pm 34,5$
7	18 - 0,75	1,19 0,06	19,1 $\pm 1,1$	7,45 $\pm 0,11$	75,8 $\pm 5,1$	22,1 $\pm 3,5$	71,5 $\pm 7,4$	9,0 $\pm 4,9$	36,3 $\pm 16,4$
8	18 - 0,5	1,23 $\pm 0,50$	17,5 $\pm 0,4$	7,48 $\pm 0,38$	81,5 $\pm 21,1$	25,6 $\pm 7,5$	45,2 $\pm 19,2$	8,4 $\pm 7,2$	11,1 $\pm 8,4$
9	18 - 0,5	0,97 $\pm 0,07$	18,7 $\pm 1,1$	7,59 $\pm 0,07$	99,0 $\pm 6,7$	31,1 $\pm 3,2$	51,7 $\pm 4,2$	4,8 $\pm 1,7$	15,8 $\pm 3,7$

### 3.2.3 Messreihe 3 (quasikontinuierliches Belüftungsregime; divergierende Sauerstoffkonzentrationen)

Teile dieser Ergebnisse sind in der Studienarbeit von (Gruchot, 2014) beschrieben.

Während der Messreihe 3 (Phasen 10–18) dienten ebenfalls Kaldnes K1 als Biomasse-träger. Die Belüftung erfolgte quasikontinuierlich, d.h. es wurde bis zu einer Ziel-Sauerstoffkonzentration belüftet. Bei Erreichen dieser wurde die Belüftung abgestellt. Sobald die Sauerstoffkonzentration wieder unterhalb der gewünschten Konzentration absank wurde wieder belüftet. Die Ziel-Sauerstoffkonzentrationen wurden stufenweise von 4,0 mg\*L<sup>-1</sup> auf 0,1 mg\*L<sup>-1</sup> gesenkt. Die hydraulische Retentionszeit lag bei rund einem Tag. Die Reaktortemperatur schwankte sich zwischen 18,0 °C und 22,5 °C. Die pH-Werte lagen im neutralen Bereich.

Zu keiner Zeit konnten mehr als 2 % des zugeflossenen Stickstoffs in Nitrit umgesetzt werden. Der N-Gesamt-Abbau lag zumeist bei ca. 20 %. Ansonsten waren keine eindeutigen Trends erkennbar.

Tabelle 25 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitritationsreaktors in der dritten Messreihe (Phasen 10-18) HRT (hydraulische Retentionszeit), Temp. (Reaktortemperatur), ± (Standardabweichung)

Phasen-Nr.	O <sub>2</sub> -Sollkonz. [mg*L <sup>-1</sup> ]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
10	4	1,09 ±0,08	18,0 ±0,9	7,44 ±0,04	65,9 ±3,9	18,0 ±2,2	62,1 ±10,2	1,3 ±0,4	42,8 ±11,7
11	3	1,03 ±0,15	18,8 ±0,3	7,41 ±0,19	46,9 ±21,4	25,5 ±0,0	96,1 ±4,5	2,0 ±1,4	87,3 ±58,4
12	2	1,13 ±0,03	18,0 0,3	7,37 ±0,21	77,4 ±7,6	25,5 ±13,4	73,2 ±3,9	0,8 ±0,8	46,9 ±11,5

13	1	1,22 ±0,12	18,7 ±1,1	7,28 ±0,18	55,8 ±6,2	17,3 ±3,5	81,2 ±16,0	0,8 ±0,4	51,3 ±27,4
14	0,4	0,93 ±0,08	18,3 ±0,5	7,70 ±0,06	89,5 ±10,7	19,7 ±4,5	20,2 ±4,5	0,2 ±0,1	0,3 ±0,1
15	0,7	1,06 ±0,25	19,6 ±1,1	7,50 ±0,09	78,0 ±16,0	25,9 ±3,3	63,0 ±12,1	1,9 ±0,8	35,2 ±12,0
16	0,6	0,90 ±0,14	22,4 ±2,0	6,62 ±0,13	76,1 ±12,4	4,5 ±5,6	90,9 ±5,0	1,4 ±0,6	85,0 ±4,0
17	0,4	0,84 ±0,07	20,2 ±0,22	7,34 ±0,17	83,0 ±8,1	11,7 ±2,7	45,6 ±4,7	0,9 ±0,3	32,9 ±4,3
18	0,1	1,00 ±0,52	20,1 ±0,1	7,66 ±0,10	93,4 ±27,7	17,7 ±4,8	20,3 ±6,8	0,5 ±0,2	2,1 ±2,8

### 3.2.4 Messreihe 4 (Sauerstoffkonzentration 0,1 mg\*L<sup>-1</sup>; nachgeschaltete Denitrifikationsreaktion; divergierende Temperaturen und TS-Gehalte)

*Teile dieser Ergebnisse sind in der Studienarbeit von (Gruchot, 2014) beschrieben.*

Zur Bemessung des Nitritbildungspotentials wurde in Messreihe 4 eine Denitrifikationsreaktion nachgeschaltet. Die Sauerstoff-Soll-Konzentration wurde auf 0,1 mg\*L<sup>-1</sup> begrenzt. Die hydraulische Retentionszeit betrug knapp 2 Tage. Während Phase 20 wurde ein erhöhter TS-Gehalt eingesetzt. Phase 21 und Phase 22 liefen bei erhöhten Betriebstemperaturen von 25 °C bzw. 30 °C. In Phase 23 wurde nicht quasikontinuierlich belüftet, stattdessen fand eine 10- minütige Belüftungspause statt.

Trotz sehr geringer Sauerstoffkonzentrationen von 0,1 mg\*L<sup>-1</sup> wurden, wie in M3, zu keiner Zeit mehr als 2 % des vorgelegten Stickstoffes zu Nitrit umgesetzt. Während Phase 21 und Phase 22 (erhöhten Betriebstemperaturen bei quasikontinuierlicher Belüftung) wurden eine hohe Nitratbildungsrate sowie ein deutlich erhöhter Ammonium-Umsatz detektiert.

Tabelle 26 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitrifikationsreaktors in der vierten Messreihe (Phasen 19 – 23)

Phasen-Nr.	O <sub>2</sub> -Sollkonz. [mg*L <sup>-1</sup> ]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]	TS [%]
19	0,1	1,95 0,18	20,6 ±0,2	7,44 ±0,15	45,1 ±4,9	27,7 ±3,7	58,7 ±14,9	1,6 ±0,3	29,4 ±18,1	0,07
20	0,1	1,95 ±0,09	20,2 ±0,3	7,48 ±0,07	51,0 ±10,2	31,3 ±4,6	61,9 ±3,5	1,9 ±0,1	28,7 ±5,7	0,21
21	0,1	1,74 ±0,51	25,0 ±0,2	6,96 ±0,35	65,7 ±21,6	18,5 ±4,1	80,8 ±6,4	1,3 ±0,4	61,0 ±2,8	0,07
22	0,1	1,74 ±0,44	29,5 ±0,2	6,64 ±0,34	56,7 ±13,9	18,9 ±3,3	91,2 ±5,9	1,1 ±0,5	71,2 ±7,0	0,07
23	0,1 10 min Pause	1,69 ±0,08	28,6 ±1,6	7,70 ±0,17	44,8 ±7,6	25,8 ±5,4	31,1 ±12,8	0,3 ±0,3	5,0 ±10,8	0,07

Auf die detaillierte Darstellung der nachgeschalteten Denitrifikation wird hier verzichtet, da sich keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Nitritbildung ergaben.

### 3.2.5 Messreihe 5 (nachgeschaltete Denitrifikationsreaktion; sequentielle Belüftung; divergierende HRT; wechselnde Belüftungsintervalle)

Teile dieser Ergebnisse sind in der Studienarbeit von (Lindner, 2014) beschrieben.

Bei Messreihe 5 wurde die Belüftungsdauer auf 5 bis 60 Sekunden erhöht. Sobald die Sauerstoffkonzentration nach der Belüftung wieder auf 0,1 mg\*L<sup>-1</sup> gesunken war, wurde zwischen 10 und 15 Minuten gewartet bis erneut belüftet wurde. Die Temperatur war durchgängig auf 30 °C eingestellt und der pH-Wert im Reaktor lag bei 7,8. Während Phase 30 bis Phase 32 wurde zusätzlich die HRT täglich variiert. In schneller Abfolge

wechselnde HRT üben Stress auf das mikrobiologische Konsortium aus. Dadurch sollte eine Nitritakkumulation provoziert werden.

Auch in der Messreihe der sequentiellen Belüftung konnten nicht mehr als 2 % des Zulaufstickstoffs zu Nitrit-Stickstoff umgesetzt werden. Aufgrund der niedrigen Belüftungsrate kommt es zu einer relativ geringen Nitratakkumulation, da hier gute Voraussetzungen für Denitrifikation gegeben waren. Auch der rhythmische Wechsel der hydraulischen Retentionszeiten (Phasen 30 bis 32) hatte keinen positiven Einfluss auf die Nitritbildung. Es wurden allerdings Ammonium und Gesamt-Stickstoff in sehr viel größeren Teilen abgebaut.

Tabelle 27 Darstellung maßgeblicher Messgrößen der analysierten Phasen des Nitrationsreaktors, Messreihe 5 (Phase 24–32)

Phasen-Nr.	Belüftung an aus	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulauffracht NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
24	10 s 10 min	1,85 ±0,07	29,7 ±0,4	7,50 ±0,14	40,6 ±4,1	49,8 ±11,8	64,0 ±19,2	1,3 0,4	12,9 ±7,2
25	5 s 10 min	1,81 ±0,05	30,7 ±0,2	7,39 ±0,06	39,3 ±3,0	59,6 ±2,4	73,1 ±2,8	1,1 ±0,2	12,5 ±2,0
26	5 s 15 min	1,85 ±0,17	30,1 ±0,1	7,70 ±0,15	55,4 ±13,4	34,6 ±12,0	35,6 ±12,8	0,2 ±0,1	0,7 ±0,7
27	5 s 15 min	0,91 ±0,21	30,0 ±0,2	7,85 ±0,02	114,4 ±32,0	14,4 ±2,3	14,7 ±2,5	0,1 ±0,1	0,2 ±0,2
28	5 s 15 min	1,42 ±0,11	30,0 ±0,3	7,80 ±0,02	54,6 ±9,3	19,4 ±2,1	19,9 ±2,2	0,1 ±0,0	0,5 ±0,2
29	60 s 10 min	1,50 ±0,08	29,4 ±0,2	7,78 ±0,09	46,7 ±6,9	40,0 ±10,2	42,8 ±11,7	0,8 ±0,4	2,0 ±1,3

30	60 s 10 min	1,73			52,3	66,9	87,8	1,7	19,2
		$\pm 0,5$	29,0	7,63	$\pm 13,2$	$\pm 4,4$	$\pm 5,3$	$\pm 0,2$	$\pm 6,9$
	HRT wechselnd	0,81	$\pm 0,6$	$\pm 0,08$	106,7	65,6	76,0	2,4	8,0
		$\pm 0,12$			$\pm 4,7$	$\pm 1,1$	$\pm 0,6$	$\pm 0,2$	$\pm 0,8$
31	60 s 15 min	2,34			49,3	71,4	75,3	1,0	2,9
		$\pm 0,62$	28,9	7,72	$\pm 16,2$	$\pm 16,8$	$\pm 19,0$	$\pm 0,1$	$\pm 2,8$
	HRT wechselnd	0,88	$\pm 0,3$	$\pm 0,11$	110,9	53,7	54,8	0,7	0,3
		$\pm 0,12$			$\pm 20,9$	$\pm 17,7$	$\pm 18,2$	$\pm 0,6$	$\pm 0,1$
32	60 s 15 min	2,90			34,6	87,8	95,3	0,8	6,7
		$\pm 0,28$	29,3	7,84	$\pm 5,5$	$\pm 7,5$	$\pm 6,4$	$\pm 0,2$	$\pm 3,8$
	HRT wechselnd	1,13	$\pm 0,2$	$\pm 0,41$	85,7	63,4	66,1	1,2	1,4
		$\pm 0,05$			$\pm 3,8$	$\pm 6,5$	$\pm 5,9$	$\pm 0,4$	$\pm 0,8$

### 3.2.6 Messreihe 6 (Biomasse: Belebtschlamm; quasikontinuierliches Belüftungsregime; Zulauf: pH-Wert 8,5; divergierende HRT und wechselnde Temperaturen)

Während Messreihe 6 wurden die bewachsenen Biomasseträger Kaldnes K1 komplett entnommen. Der Reaktor wurde auf ein Belebtschlammverfahren umgestellt. Die HRT variierte zwischen 1,3 Tage und 0,6 Tage. Die Temperatur im Reaktor wurde sukzessive von 30 °C auf 16 °C gesenkt. Bedingt durch einen technischen Defekt wurde das Belüftungsprogramm während Phase 33 mittels einer Zeitschaltuhr realisiert. In den anschließenden Phasen (Phase 34–Phase 39) erfolgte die Justierung der Mindestsauerstoffwerte auf 0,6 mg\*L<sup>-1</sup> bis 0,8 mg\*L<sup>-1</sup>. Das heißt, bei Erreichen dieser Werte wurde belüftet. Es wurde sekundenweise belüftet und die Sauerstoffwerte stiegen auf 1,0 mg\*L<sup>-1</sup> bis 1,2 mg\*L<sup>-1</sup>. In der Folge entstand ein sägezahnartiges Sauerstoffprofil. Im Zulaufwasser unterschritt der pH-Wert zu keiner Zeit 8,5.

Die Entnahme des Biomasseträgermaterials führte zu einer signifikanten Steigerung der Nitritbildungsrate. Die höchsten Werte wurden mit bis zu 23 % bei 30 °C erreicht (Phase 33, Phase 34). Kürzere HRT und relativ niedrige Temperaturen (26 °C–20 °C) resultierten in niedrigeren prozentualen Nitritbildungsraten von rund 12 % bis 16 % (Phase 35–Phase 38). Während Phase 39, mit einer Temperatur von 16°C, sank die Nitritbildungsrate auf 2,8 %.ab. Dafür wurde hier viel Nitrat gebildet.

Tabelle 28 Darstellung maßgeblicher Messgrößen der analysierten Phasen des Nitritationsreaktors, Messreihe 6 (Phasen 33–39)

Phasen-Nr.	Phaseneinstellung; O <sub>2</sub> - Mindestkonz. [mg * L <sup>-1</sup> ]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
33	ZSU HRT 1; 29°C	1,04	29,1 ±0,2	7,60 ±0,18	75,0 ±19,3	25,9 ±13,7	59,0 ±25,2	13,2 ±8,3	19,9 ±14,3
34	HRT 1,1 30°C; 0,6	1,10	29,5 ±0,1	7,50 ±0,23	76,6 ±14,0	42,0 ±9,6	74,3 ±16,2	23,1 ±15,0	9,2 ±6,3
35	HRT 1,3 26°C; 0,6	1,27	26,1 ±1,0	7,27 ±0,17	69,9 ±9,3	49,3 ±17,1	94,1 ±10,9	15,9 ±9,1	28,9 ±20,5
36	HRT 0,6 25°C; 0,6	0,59	25,0 ±0,9	7,76 ±0,08	155,6 ±19,6	24,3 ±8,5	51,4 ±12,2	11,6 ±9,0	15,5 ±10,2
37	HRT 0,6 20°C; 0,6	0,59	20,5 ±0,3	7,91 ±0,11	157,2 ±6,5	25,5 ±1,5	44,6 ±14,8	11,6 ±6,9	7,5 ±7,1
38	HRT 0,8 20°C; 0,8	0,80	20,2 ±0,3	7,44 ±0,27	115,0 18,3	20,6 ±4,0	93,4 ±6,2	11,6 ±5,3	61,1 ±13,3
39	HRT 0,6 16°C; 0,7	0,58	16,2 ±0,8	7,74 ±0,13	122,9 ±6,9	10,1 ±7,6	54,5 ±22,3	2,8 ±1,3	41,6 ±25,3

### 3.2.7 Messreihe 7 (Belebtschlamm, quasikontinuierliche Belüftung niedrige Temperaturen; unterschiedliche HRT, 12 ≤ 18 °C

Messreihe 7 wurde weiter im Belebtschlammverfahren betrieben. Die Temperatur wurde von 16 °C auf 12 °C gesenkt und wieder auf 18 °C angehoben. Die Belüftung war quasikontinuierlich und das Sauerstoffprofil beschrieb ein Sägezahnmuster in einem mittlere-

ren Schwankungsbereich von 0,2 bis 0,3 mg\*L<sup>-1</sup> zwischen dem gesetzten Mindestsauerstoffgehalt und dem erreichten Maximalwert. Die Nitritbildung lag nicht über 2,5 %. In den Phasen 41 und 42 konnten bei 0,7 bzw. 1,3 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> nur etwa 10 % NH<sub>4</sub>-N und N-Gesamt abgebaut werden. Bei 1,5 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> wurden 28,7 % des Ammoniums abgebaut. Bei erneuter Temperaturanhebung (Phasen 44 und 45) wurde erheblich mehr Ammonium zu Nitrat umgesetzt. Der N-Gesamt-Abbau stieg nur leicht an. Phase 46 nutzte nur 1,0 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> und erreichte leicht niedrigere Ammonium und N-Gesamt-Abbauraten als Phase 45. Es wurde auch etwas weniger NO<sub>3</sub>-N gebildet.

Tabelle 29 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitrationsreaktors in der siebten Messreihe

Phasen-Nr.	Phaseneinstellung; O <sub>2</sub> - Mindestkonz. [mg * L <sup>-1</sup> ]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufkonz. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
40	BS, HRT 0,5 Temp 16 °C; 0,7	0,58 ±0,01	16,2 ±0,8	7,74 ±0,13	122,9 ±6,9	10,1 ±7,6	54,5 ±22,3	2,2 ±1,0	32,4 ±19,6
41	BS, HRT 0,5 Temp 12 °C; 0,7	0,51 ±0,05	11,9 ±0,1	8,01 ±0,15	201,5 ±20,0	9,2 ±4,0	9,7 ±3,9	0,1 ±0,1	0,3 ±0,2
42	BS, HRT 1 Temp 12°C; 1,3	1,00 ±0,03	11,9 ±0,4	7,93 ±0,03	111,4 ±5,1	10,5 ±1,9	11,0 ±1,9	0,1 ±0,0	0,2 ±0,2
43	BS, HRT 1 Temp 12°C; 1,5	1,03 ±0,10	12,1 ±0,2	7,78 ±0,21	102,7 ±19,8	17,0 ±2,6	28,7 ±7,8	1,0 ±0,3	8,2 ±4,6

44	BS, HRT 1, Temp 15°C; 1,5	0,97 ±0,10	15,1 ±0,4	7,67 ±0,07	97,1 ±13,6	18,0 ±3,0	62,1 ±19,6	2,5 ±0,8	31,8 ±15,9
45	BS, HRT 1,1, Temp 18°C; 1,5	1,13 ±0,06	17,9 ±0,1	7,35 ±0,21	113,0 ±25,8	26,0 ±3,3	88,3 ±10,0	1,2 ±0,4	47,3 ±9,3
46	BS, HRT 1,2 Temp 18°C; 1,0	1,20 ±0,02	17,9 ±0,0	7,34 ±0,33	84,6 ±4,9	24,2 10,1	80,0 ±10,9	2,1 ±0,9	41,4 ±12,0

### 3.2.8 Messreihe 8 (Belebtschlamm, vorgeschaltete Deni, sequentielle Belüftung; unterschiedliche Belüftungsintervalle und –pausen, HRT, Sauerstoffkonzentrationen)

In Messreihe 8 wurde eine Denitrifikationseinheit vor dem Zulauf des Reaktors installiert, um die Nitritbildungsraten zu erhöhen. Hierzu wurde das Zulaufwasser in ein Denitrifikationsbecken ( $V = 1$  Liter) gepumpt. Aus dem Denitrifikationsbecken wurde das Wasser in die Nitritationssäule ( $V = 3,2$  Liter) geleitet. Anschließend wurde das behandelte Wasser in ein Nachklärbecken ( $V = 1$  Liter) überführt. Nach dem Nachklärbecken wurde der Wasserstrom geteilt. Ein Teil gelangte zurück in das Denitrifikationsbecken. Der andere Teil floss in ein Sedimentationsbecken. Von dort wurde eine Schlammrückführung in das gerührte Denitrifikationsbecken durchgeführt.

Der Reaktor wurde folgendermaßen belüftet: es wurde die angegebene Zeit belüftet. Dies führte zu Sauerstoffkonzentrationen oberhalb der genannten Sauerstoff-Schwellwerte. Durch Sauerstoffzehrung sank die Sauerstoffkonzentration wieder. Sobald der Sauerstoffschwellwert unterschritten wurde, begann die jeweils angegebene Wartezeit abzulaufen und danach wurde erneut belüftet.

Die niedrigen hydraulischen Retentionszeiten der Phasen 56 und 57 erreichten aufgrund der höheren Zulauf-Frachten einen geringeren prozentualen Umsatz. Höhere Sauerstoffsollwerte (Phasen 51 – 55) führten zu vergleichsweise höheren Nitritbildungsraten. Allerdings auch zu teils fast vollständiger Umsetzung von Ammonium (Phasen 51 und 52).

Tabelle 30 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitrationsreaktors in der achten Messreihe

Phasen-Nr.	Belüftung an aus; O <sub>2</sub> -Schwellkonz. [mg*L <sup>-1</sup> ]	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]
47	Quasikont.; 0,1	0,94 ±0,02	20,0 ±0,2	-	95,8 ±8,2	61,7 ±4,4	95,2 ±6,9	1,84 ±1,30	31,7 ±9,6
48	10 s an 5 min aus	0,99 ±0,09	21,7 ±0,7	7,50 ±0,18	101,7 ±9,5	41,9 ±28,1	56,3 ±40,5	1,51 ±2,56	12,9 ±12,9
49	20 s an 10 min aus; 0,8	0,99 ±0,07	20,6 ±0,5	7,41 ±0,04	95,8 ±11,4	77,3 ±2,8	81,1 ±4,8	0,12 ±0,06	3,7 ±4,1
50	10 s an 5 min aus; 0,3	0,97 0,01	20,3 ±0,0	7,36 ±0,00	85,8 ±16,7	81,7 ±2,7	92,1 ±6,4	0,25 ±0,10	10,2 ±3,8
51	15 min an 60 min aus; 4	1,02 ±0,11	24,3 0,0	8,16 ±0,0	91,3 ±22,9	75,3 ±7,3	98,1 ±1,8	3,23 ±2,40	19,6 ±10,2
52	30 min an 90 min aus; 4	0,96 ±0,04	22,6 ±0,8	7,43 ±0,34	95,3 ±21,2	59,9 ±9,8	96,5 ±1,8	2,83 ±1,81	33,7 ±11,6
53	30 min an 90 min aus; 4	0,52 ±0,07	24,9 ±1,7	8,21 ±0,15	191,3 ±32,9	55,9 ±8,6	62,9 ±10,0	2,75 ±1,62	4,3 ±3,6
54	15 min an 60 min aus; 4	0,53 0,03	23,9 ±0,4	8,11 ±0,18	160,5 ±34,9	53,4 ±13,8	56,8 ±13,7	2,63 ±1,18	0,8 ±0,8

55	8 min an	0,53	23,7	7,87	146,6	40,3	46,0	2,25	3,7
	45 min	$\pm 0,13$	$\pm 1,7$	$\pm 0,32$	$\pm 57,0$	$\pm 15,8$	$\pm 22,8$	$\pm 2,44$	$\pm 6,7$
	aus; 4								
56	4 min an	0,39	24,0	8,05	226,0	20,7	21,4	1,23	0,9
	30 min aus; 2	$\pm 0,06$	$\pm 0,5$	$\pm 0,02$	$\pm 46,4$	$\pm 5,3$	$\pm 5,7$	$\pm 0,93$	$\pm 0,9$
57	12 min an	0,38	24,6	8,05	248,5	32,7	36,3	1,46	2,3
	20 min aus; 2	$\pm 0,04$	$\pm 0,3$	$\pm 0,05$	$\pm 51,2$	$\pm 4,0$	$\pm 4,5$	$\pm 0,68$	$\pm 1,7$

### 3.2.9 Messreihe 9 (Modellkläranlage Cottbus; unterschiedliche Belüftungsintervalle und –pausen, Rezirkulationsverhältnisse)

Im Vergleich zu dem vorhergehenden Modell wurden bei diesem Versuchsaufbau etwas höhere Nitritbildungsraten erreicht. Der hohe NO<sub>2</sub>-N-Wert der ersten Messreihe (Phase 58) war auf das bereits bekannte Phänomen des „Anfahrpeaks“ in der Anfahrphase einer Kläranlage zurückzuführen. Dieser Zustand kann üblicherweise nicht stabilisiert werden.

Es konnte zwar mehr als 2 %, allerdings nicht mehr als 4 %, des Ammoniums in Nitrit umgewandelt werden. In der letzten Phase (Phase 65) wurde durch periodisches Abschalten (alle 3 bis 4 Tage) der Anlage versucht, eine ähnlich starke NO<sub>2</sub>-Bildungsrate, wie beim Anfahren der Anlage zu erreichen. Jedoch ließen sich mit dieser Verfahrensweise nicht die gewünschten hohen NO<sub>2</sub>-Bildungsraten generieren. Der N-Gesamt-Abbau lag bei allen Phasen zwischen 40 % und 50 %. Der Ammonium-Abbau lag ebenfalls hoch, zwischen 74 % und 96 %, mit Ausnahme von Phase 65.

Tabelle 31 Ergebnisse der wichtigsten Parameter der Phasen des Nitrationsreaktors in der neunten Messreihe

Phasen-Nr.	Belüftung an aus	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%]	Rezi/Zulauf
58	30 min an	1,13	-	-	92,4	44,0	83,6	9,83	30,4	4,42
	60 min aus	±0,06	-	-	±22,0	±11,0	±14,6	±6,97	±13,9	
59	15 min an	1,05	-	-	91,5	50,5	96,4	2,22	43,8	4,42
	45 min aus	±0,03	-	-	±4,9	±6,0	±3,4	±0,57	±5,2	
60	15 min an	1,12	-	-	79,6	45,0	80,2	4,15	31,4	4,42
	60 min aus	±0,16	-	-	±24,9	±8,2	±17,7	±5,54	±14,9	
61	15 min an	1,25	-	-	72,3	45,5	74,8	2,14	27,6	2,21
	60 min aus	±0,03	-	-	±7,7	±8,6	±11,9	±0,83	±11,4	
62	15 min an	1,20	-	-	82,1	47,5	68,5	2,29	18,8	3,30
	60 min aus	±0,02	-	-	±4,2	±3,7	±9,7	±0,50	±7,2	
63	15 min an	1,25	-	-	77,6	50,4	95,9	2,13	43,5	5,33
	60 min aus	±0,10	-	-	±9,4	±18,5	±0,5	±1,28	±18,8	
64	15 min an	1,49	-	-	57,6	41,3	82,0	3,02	38,2	5,03
	120 min aus	0,12	-	-	±14,5	±18,9	±17,0	±2,12	±27,3	
65	Anlage perio- disch abge- schaltet	1,50 ±0,07	-	-	57,4 ±12,7	41,0 ±22,5	53,5 ±29,7	2,45 ±1,42	11,2 ±12,5	4,81

### 3.2.10 Zusammenfassung Nitritationsreaktor

Unter den in diesem Versuchsabschnitt gewählten Reaktionsbedingungen war es nicht möglich, einen stabilen Ablauf des Nitritationsprozesses zu etablieren. Die ermittelte Nitritabbaurate lag mit durchschnittlich 1 % bis 3 % weit unter dem angestrebten Wert von 50 %. Ausnahmen bildeten das Belebtschlammssystem mit Temperaturen über 20 °C. Hier konnten relativ stabil ca. 10 % Umsatz erreicht werden.

Unter den gegebenen Rahmenbedingungen einer Kleinkläranlage mit zeitweilig niedrigen Arbeitstemperaturen (8 °C – 15 °C), sowie mit den bekannten Parametern wie der Regulierung der Sauerstoffkonzentration war es nicht möglich, die nitritoxidierenden Mikroorganismen soweit zu diskriminieren, dass eine ausreichend hohe Konzentration an Nitrit für den Anammox-Prozess sichergestellt werden konnte.

Es kann festgehalten werden, dass Trägermaterial, in diesem Fall Kaldnes K1, nicht geeignet ist, um Nitrit in nennenswerten Mengen herzustellen. Dies ist auch unabhängig vom Belüftungsregime, den Retentionszeiten oder der Temperatur. Ein Hauptgrund ist vermutlich die enge Vergesellschaftung von AOB und NOB und die fehlende Diskriminierung der NOB. Erwartungsgemäß eignete sich das Belebtschlammverfahren bei höheren Temperaturen (>20 °C) besser zur Bereitstellung von Nitrit als das Biofilmverfahren.

Es muss angemerkt werden, dass es hier teils zu recht großen Schwankungen zwischen einzelnen Probennahmen kam. Bei 18 °C und niedriger sank die Leistung stark ab.

## 3.3 partielle Denitrifikation

*Teile dieser Ergebnisse sind in der Bachelorarbeit von (Chaudhary, 2014) beschrieben.*

Ein weiterer untersuchter Ansatz zur Bereitstellung von Nitrit ist der Weg über eine unvollständige Denitrifikation. Hierbei sollten mit Hilfe von verschiedenen hydraulischen Retentionszeiten Denitrifikanten, welche nur bis zum Nitrit denitrifizieren, bevorteilt werden. Des Weiteren wurde auch mit einem eigens isolierten Reinstamm gearbeitet, welcher nur bis zum Nitrit denitrifizierte. Dieser wurde durch eine Verdünnungsreihe isoliert und angereichert. Dafür wurde die Labormethode für die Quantifizierung von Denitrifikanten mittels MPN genutzt. Das für die Versuche verwendete Medium unterschied sich nur durch die eingestellte TOC-Konzentration (total organic carbon). Es wurden 0, 25, 50, 100, 200 mg TOC·L<sup>-1</sup> eingestellt. Die Nitratkonzentration lag bei 100 mg NO<sub>3</sub>-N·L<sup>-1</sup>. Es

war notwendig das Nährmedium zu autoklavieren, da es sonst schon zu Nitritbildung in den Vorratsflaschen des Nährmediums kam. Zudem wurde bei Raumtemperatur gearbeitet.

Die TOC- Konzentrationen im Ablauf der Reaktoren spiegelten die zu erwartende Verteilung wider (Abbildung 15). Die hohen TOC-Werte, in der ersten Phase mit dem Reinstamm, waren vermutlich auf ein nicht vollständiges Auswaschen des mit den Bakterien eingesetzten Nährmediums zurückzuführen.

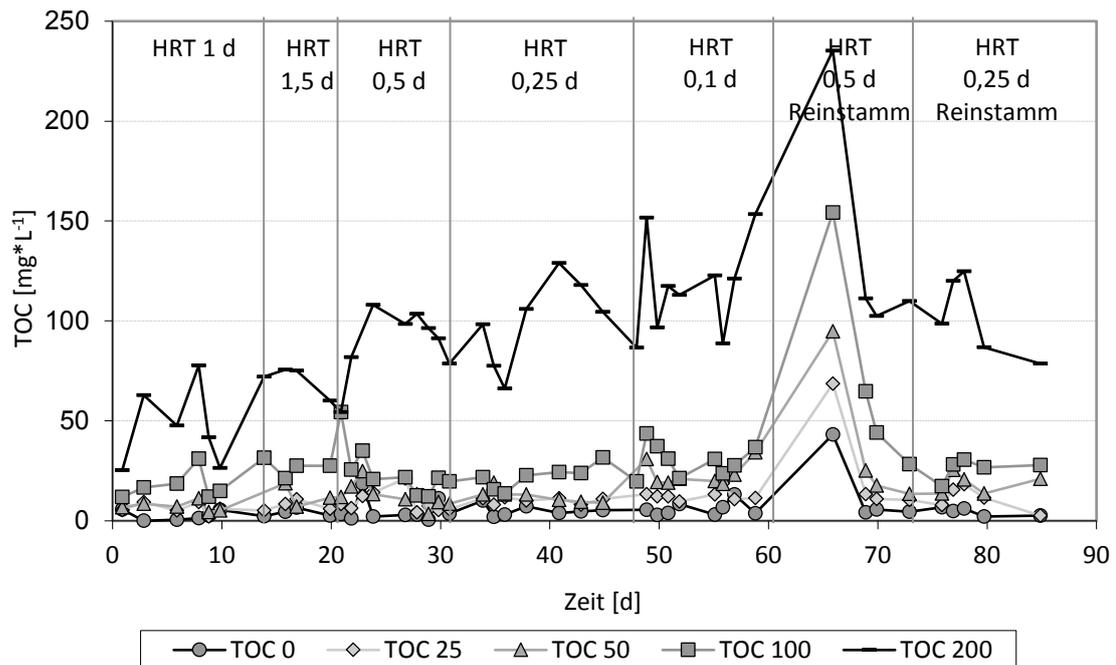


Abbildung 15 TOC Konzentrationen im Ablauf in den verschiedenen Reaktoren zur Untersuchung zur unvollständigen Denitrifikation

In Abbildung 16 und Abbildung 17 sind Ablauffrachten von Nitrit und Nitrat dargestellt. Die ermittelten Nitrit-Frachten im Ablauf waren auf Probleme während der Autoklavierung des Nährmediums zurückzuführen. In den Phasen ohne den Reinstamm folgte die Nitrat-Fracht im Ablauf den TOC-Konzentrationen. Das heißt wenig Nitrat im Ablauf bei hohen TOC-Konzentrationen. Dies konnte auch durch das Biomassewachstum bestätigt werden. Bei 100 und 200 mg TOC·L<sup>-1</sup> konnte Schaum- und Blasenbildung in den Flaschen zusammen mit dickem Biofilmbewuchs an der Glaswand beobachtet werden. Bei 50 und 25 mg TOC·L<sup>-1</sup> war die Biomasse als Biofilm am Glas der Flaschen vorzufinden. Ohne TOC waren kleine suspendierte Flocken vorzufinden. Die Verringerung der HRT sollte dazu führen, dass die Bakterien aufgrund der verkürzten Zeitspanne nur Nitrit bil-

den. Aber dies geschah in allen Versuchen nicht. Ein Vergleich der Ablauffrachten zwischen den Phasen mit Reinstamm und ohne den bei 0,5 bzw. 0,25 Tagen zeigt sehr ähnliche Ergebnisse. Somit scheint der Reinstamm Nitrat ähnlich gut abzubauen wie die unkultivierte Denitrifikanten-Biomasse. Detaillierte Angaben zu den einzelnen Ergebnissen der verschiedenen TOC-Konzentrationen sind in Anhang 1 bis Anhang 5 tabellarisch dargestellt

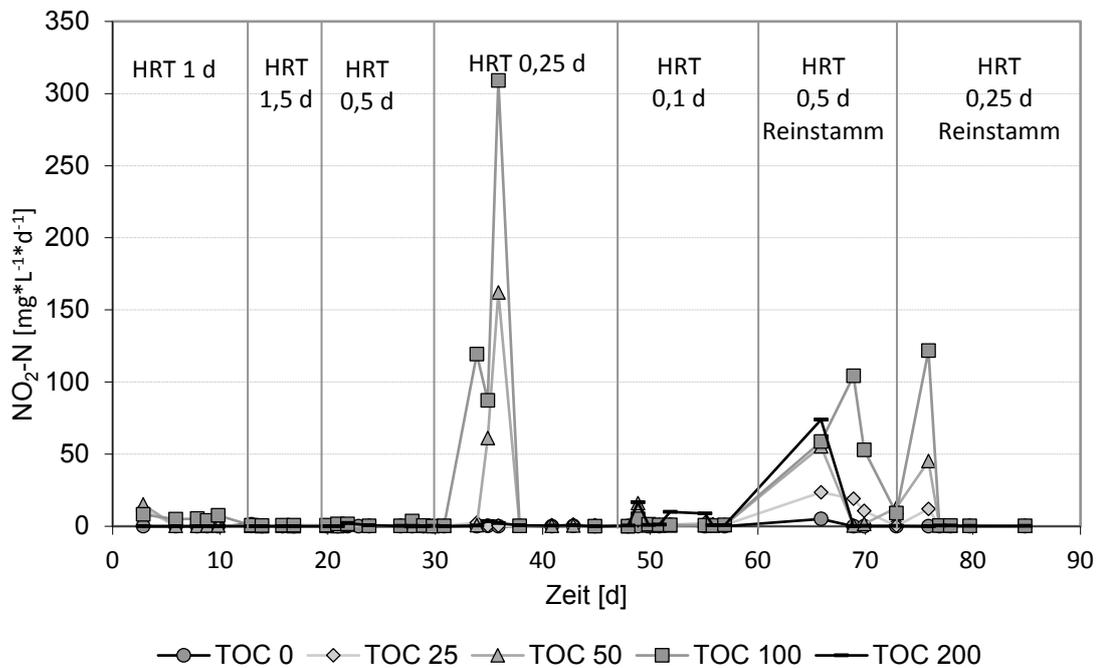


Abbildung 16  $\text{NO}_2\text{-N}$  Frachten im Ablauf der Reaktoren zur Untersuchung der unvollständigen Denitrifikation

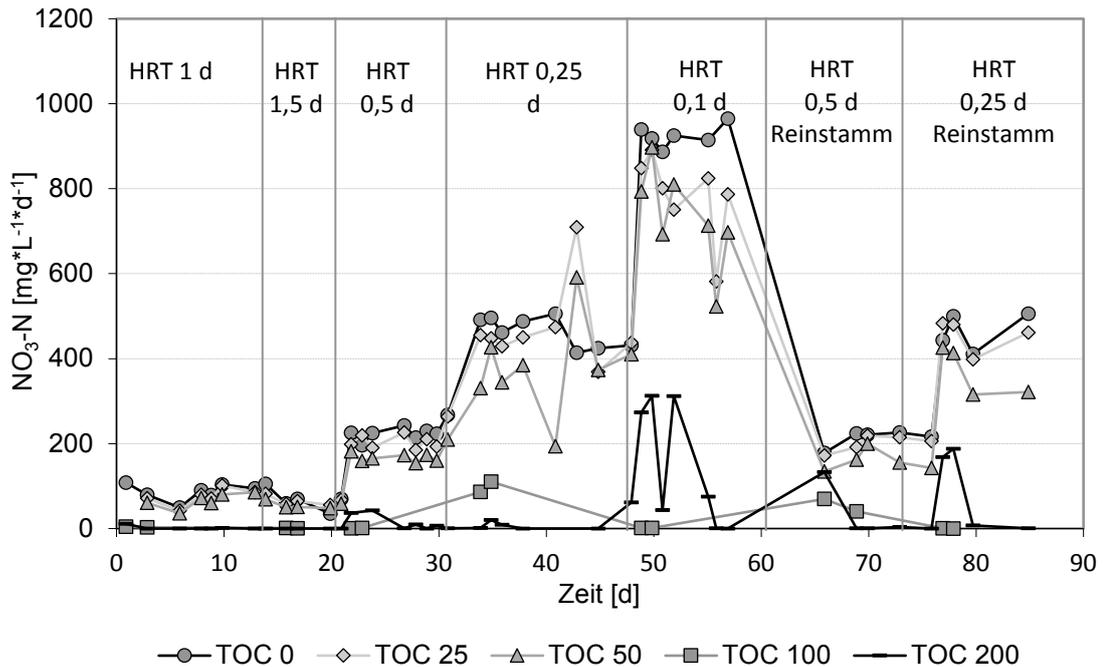


Abbildung 17 NO<sub>3</sub>-N Frachten im Ablauf der Reaktoren zur Untersuchung der unvollständigen Denitrifikation

Die Ammoniumbildung stieg mit erhöhten TOC-Konzentrationen an. Diese Bildung konnte durch Tests nur mit Pepton und ohne Nitrat, auf im Pepton vorliegenden bzw. sich freisetzenden Stickstoff zurückgeführt werden.

### 3.3.1 Zusammenfassung partielle Denitrifikation

Bei höheren TOC-Konzentrationen konnte zwar Nitrat abgebaut werden. Aber es konnte zu keinem Zeitpunkt Nitrit bereitgestellt werden. Auch der Reinstamm hatte kein Nitrit bereitstellen können. Somit erschien dieser Ansatz als nicht erfolgsversprechend.

## 3.4 Etablierung eines Anammox-Nitrifikanten-Biofilm-Konsortiums auf einer sauerstoffdurchlässigen Membran

Teile dieser Ergebnisse sind in der Masterarbeit von (Heilmann, 2015) beschrieben.

Dieser Ansatz versuchte mithilfe von Schlauchreaktoren ein Biofilmkonsortium zu erzeugen, welches aus Nitrifikanten und Anammox-Bakterien besteht. Über die Schlauchwandung (Material: Silikon) diffundierte Sauerstoff in das Innere. Dieser wurde von Nitrifikanten genutzt, um aus Ammonium Nitrit zu bilden. Anammox sollte dann gleichzeitig dieses gebildete Nitrit mit dem vorhandenen Ammonium zu Stickstoff umsetzen. Hier sollte auch das Problem der weiteren Nitratation, also der Umwandlung von Nitrit zu Nitrat gering gehalten werden, da Anammox-Bakterien eine sehr hohe Substrataffinität aufweisen (Jetten et al., 2009), d.h. schon geringe Konzentrationen verarbeiten können. Es wurden zwei Schlauchreaktoren (S1 und S2) in Betrieb genommen.

Es wurde zuerst der Aufwuchs eines Nitrifikantenfilms auf der Innenseite des Schlauches forciert. Nach dessen Etablierung wurden die bewachsenen Schläuche an die Rezirkulation von semirealbetriebenen Anammox-Reaktoren angeschlossen, um somit die Ansiedlung von Anammox-Bakterien zu fördern und das gewünschte Konsortium zu erzeugen.

In S1 wurde ein hoher Volumenstrom erzeugt. Wohingegen in S2 ein geringer erzeugt wurde. Grund für die Wahl des hohen Durchflusses in S1 war, einen mechanisch belastbaren Biofilm zu erzeugen. Im inneren der Schläuche herrschten anoxische Bedingungen. Dies war wichtig, da der Biofilm im Zusammenhang mit Anammox-Bakterien anoxisch sein muss. Nach Etablierung eines Nitrifikanten/Denitrifikanten-Biofilms wurden die Schläuche an die Rezirkulation zweier semireal betriebener Reaktoren angeschlossen. Die Rezirkulationsgeschwindigkeit war in diesen beiden Reaktoren gleich hoch.

Als Erfolgskontrolle wurden Biofilmproben jeweils am Anfang und am Ende des Schlauchs entnommen. Die Proben wurden mittels PCR-Analysen ausgewertet. Dadurch war es möglich eine zeitliche und räumliche Aussage über die relative Zusammensetzung des Biofilms zu geben.

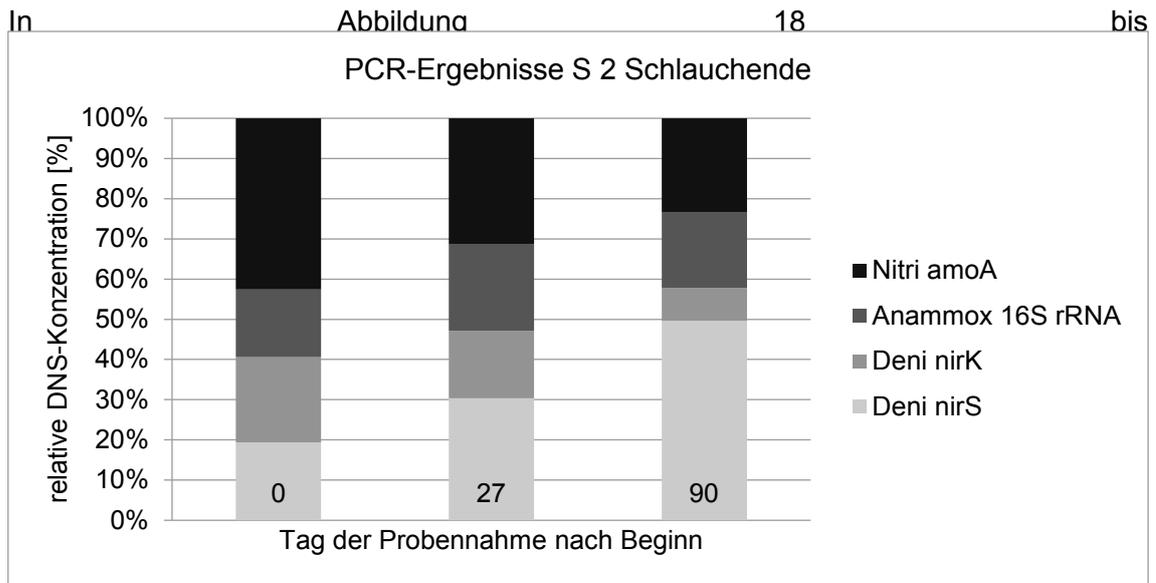


Abbildung 21 sind die zeitlichen und räumlichen relativen Entwicklungen des Biofilms dargestellt. Anammox ist durch das funktionelle Gen *hzsA* (dunkelgrau) repräsentiert. *nirS* und *nirK* sind die funktionellen Gene der Denitrifikanten. Das funktionelle Gen *amoA* repräsentiert die ammoniumoxidierenden Bakterien (AOB).

Es ist deutlich erkennbar, dass sich die Anammox-Bakterien in dem Biofilm etablieren konnten. Bei der räumlichen Verteilung war ersichtlich, dass die Denitrifikanten am Ende des Schlauches ihren Anteil am Biofilm beibehielten. Das kann mit der Wegstrecke durch den Schlauch erklärt werden. Durch die Schlauchwandung diffundierte Sauerstoff in das Innere. Am Ende des Schlauchs war verhältnismäßig mehr Sauerstoff hinein diffundiert und somit auch mehr Nitrit und Nitrat vorhanden, welches von Denitrifikanten umgesetzt werden konnte.

Schlauch S1 zeigt nach 56 Tagen am Anfang des Schlauches einen starken Anstieg des Anammox-Anteils von 3,6 % auf 23,4 %. Die Ammoniumoxidierer nahmen ebenfalls stark zu und bildeten mit über 51 % die größte Gruppe. Wohingegen die Denitrifikanten anteilig von 59 % auf etwa 25 % zurückgingen (siehe Abbildung 18) Abbildung 18 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S1 am Schlauchanfang; AOB wurden mit dem funktionellen Gen *amoA*; Anammox-Bakterien über *16S rRNA*, Denitrifikanten über die Gene *nirS* und *nirK* identifiziert..

Am Schlauchende blieb der Anteil der Nitrifikanten fast konstant allerdings drehte sich das Verhältnis von *nirS* zu *nirK* komplett um. Anammox vergrößert seinen Anteil von 4,7 % auf 19,1 %. Die AOB verloren 15 % und machten am Ende noch 35,2 % aus (siehe Abbildung 19).

Bei S2 ist am Schlauchanfang eine Verdopplung des Anammox-Anteils nach 27 Tagen sichtbar. Denitrifikanten verlieren innerhalb von 90 Tagen ca. ein Drittel, wobei das Gen

*nirK* über die Hälfte verliert. Die Ammoniumoxidierer blieben relativ konstant (siehe Abbildung 20).

Am Schlauchende von S2 vergrößert sich der Anteil von Denitrifikanten mit *nirS* von knapp 20 % auf knapp 50 %. Wohingegen *nirK*-Denitrifikanten von über 21 % auf 8,1 % absanken. Anammox-Bakterien gewannen nur wenig Anteil am Biofilm und hielten 18,8 % der Biomasse. Die AOB verloren 19,2 % und machten nach 90 Tagen nur noch 23,4 % aus (siehe Abbildung 21).

Tabelle 32 prozentuale Verteilung der Gene *nirS*, *nirK*, *16S rRNA Anammox* und *amoA* in den Schlauchreaktoren

	<i>nirS</i> [%]	<i>nirK</i> [%]	<i>16S rRNA</i> Anammox [%]	<i>amoA</i> [%]
<b>S1 Schauchanfang</b>				
Tag 0	38,1	21	3,6	37,3
Tag 56	9,7	15,5	23,4	51,4
<b>S1 Schlauchende</b>				
Tag 0	8,1	36,8	4,7	50,5
Tag 27	35,4	14,2	13,9	36,6
Tag 56	35,2	10,4	19,1	35,2
<b>S2 Schlauchanfang</b>				
Tag 0	33,8	23,1	10,3	32,8
Tag 27	25,6	21,1	22,2	31,1
Tag 90	30,8	9,9	25,2	34,0
<b>S2 Schlauchende</b>				
Tag 0	19,4	21,2	16,9	42,6
Tag 27	30,4	16,7	21,6	31,3
Tag 90	49,7	8,1	18,8	23,4

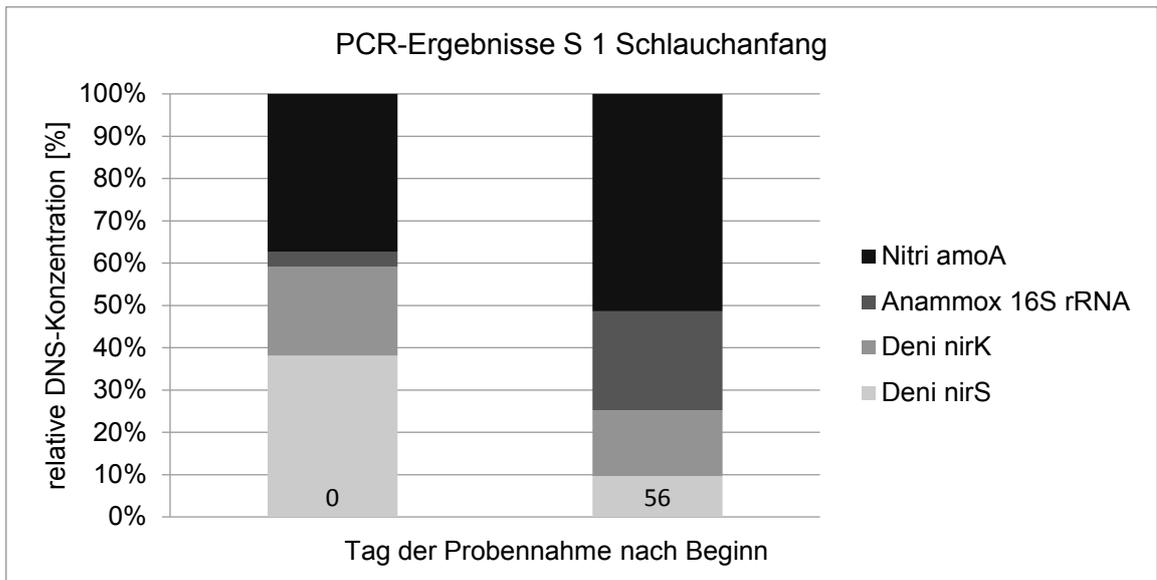


Abbildung 18 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S1 am Schlauchanfang; AOB wurden mit dem funktionellen Gen *amoA*; Anammox-Bakterien über *16S rRNA*, Denitrifikanten über die Gene *nirS* und *nirK* identifiziert.

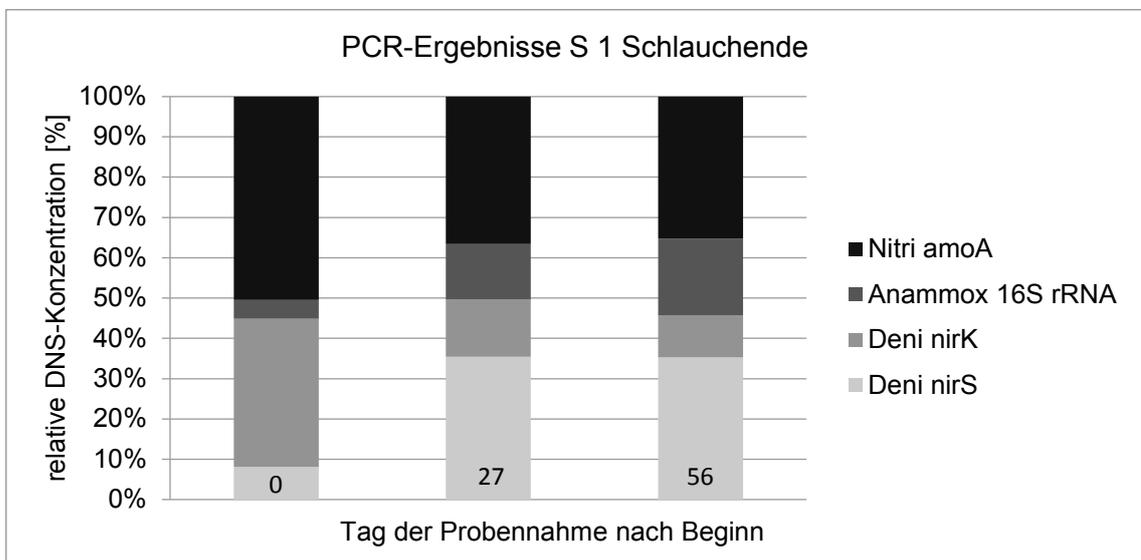


Abbildung 19 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S1 am Schlauchende; AOB wurden mit dem funktionellen Gen *amoA*; Anammox-Bakterien über die *16S rRNA*, Denitrifikanten über die Gene *nirS* und *nirK* identifiziert.

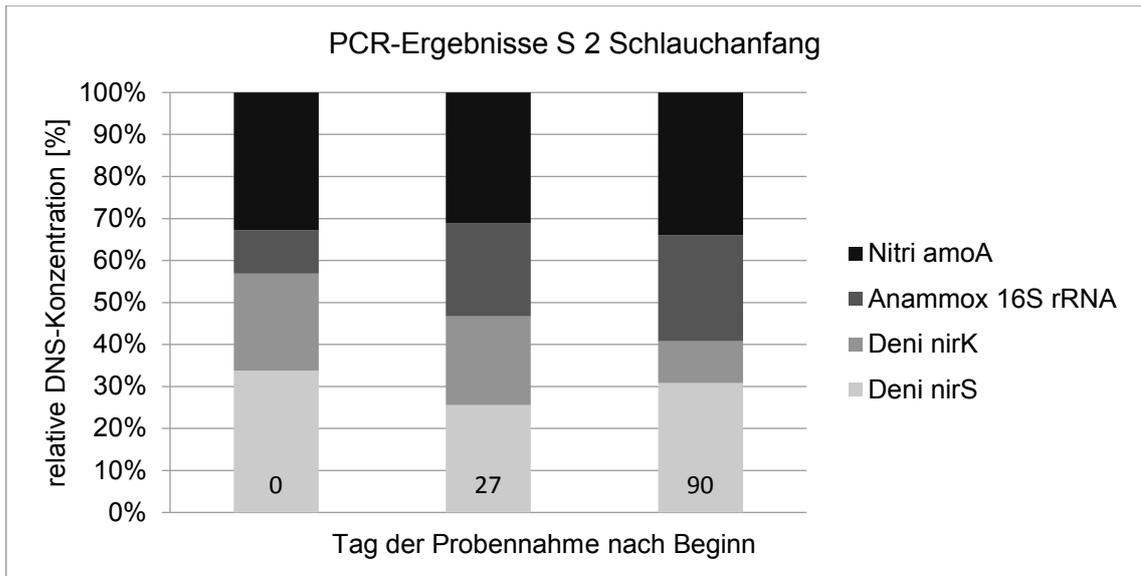


Abbildung 20 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S2 am Schlauchanfang; AOB wurden mit dem funktionellen Gen *amoA*; Anammox-Bakterien über *16S rRNA*, Denitrifikanten über die Gene *nirS* und *nirK* identifiziert.

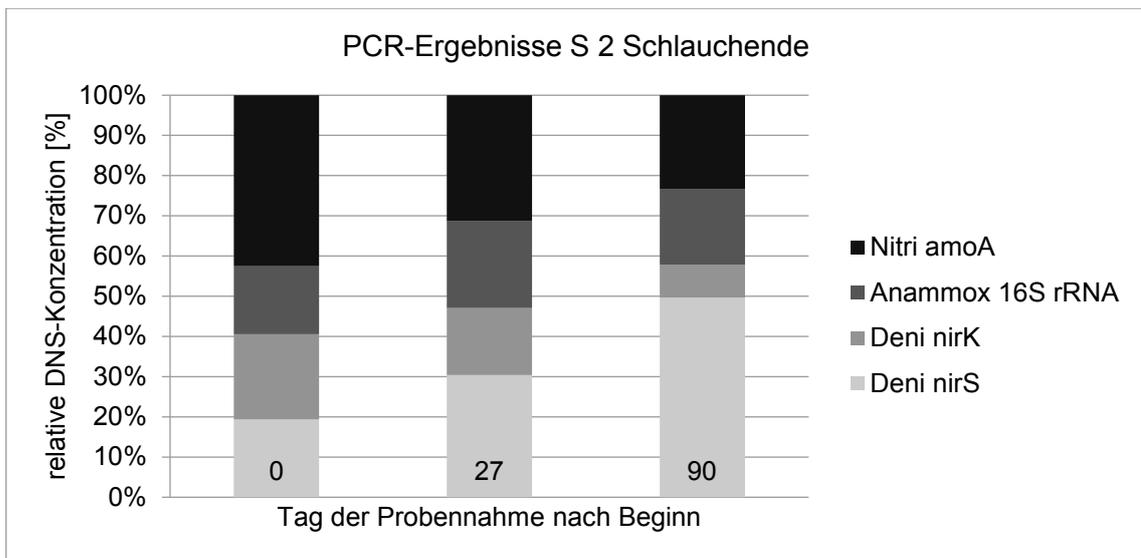


Abbildung 21 relative zeitliche Entwicklung des Biofilmkonsortiums im Silikonschlauch S2 am Schlauchende; AOB wurden mit dem funktionellen Gen *amoA*; Anammox-Bakterien über *16S rRNA*, Denitrifikanten über die Gene *nirS* und *nirK* identifiziert.

Es konnte gezeigt werden, dass sich ein gemischter Biofilm aus Nitrifikanten, Denitrifikanten und Anammox gebildet hatte. Leider lösten sich beide Biofilme nach einigen Monaten ab. Dies führte zu erhöhten Sauerstoffkonzentrationen in den angeschlossenen,

mit semirealen Abwasser betriebenen, Anammox-Reaktoren. Somit mussten die Schlauchreaktoren wieder entfernt werden.

Zum einen zeigte dieser Ansatz, dass es möglich ist, die gewünschten Nitrifikanten und Anammox zu vergesellschaften. Andererseits wurden auch die beiden Nachteile des Systems sichtbar. Es besteht immer die Gefahr der Ablösung des Biofilms, sei es durch mechanische Einwirkung oder Hemmung des Biofilms. Daraus folgend kann es, aufgrund der ständigen Diffusion von Sauerstoff in das System, zu unkontrolliert steigenden Sauerstoffkonzentrationen führen, welche dann weiterhin Anammox hemmen.

## **3.5 PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen**

### **3.5.1 Etablierung des PN/A- Prozesses durch Verringerung des NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N Verhältnisses**

Aufgrund der guten Ansiedlung eines gemischten Biofilms auf dem Silikonschlauch, wurde der Ansatz, Belüftung mittels einer Silikonmembran, weiterverfolgt. Im Reaktor wurden 20, mit Anammox-Biomasse bewachsene, Würfel aus offenporigen Polyurethanschaum (Kantenlänge ca. 2 cm) als Festbett eingebracht. Durch an- und abschalten des Kompressors konnte eine kontrollierte Sauerstoff-Diffusion realisiert werden. Es bestand somit nicht die Gefahr der Hemmung von Anammox durch zu hohe Sauerstoffkonzentrationen. Die Belüftung erfolgte so lange, bis 0,2 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> erreicht wurden. Sobald die Sauerstoffkonzentration auf 0 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup> abgesunken war, wurde 30 Minuten gewartet bis erneut belüftet wurde.

Anfangs wurde ein NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N Verhältnis von 0,9 gewählt. Dies wurde schrittweise abgesenkt, bis kein Nitrit im Nährmedium mehr vorhanden war. Des Weiteren wurde auch die Temperatur von Raumtemperatur (24,6 °C; M1; 26,0 °C; M2) auf 18 °C (M4-M8) gesenkt. Die Absenkung des NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N Verhältnisses führte in Verbindung mit der gezielten Belüftung zur Etablierung eines PN/A-Prozesses. Dies wurde deutlich, als das Verhältnis aus abgebautem Ammonium mittels der PN/A und dem abgebauten Ammonium mittels des Anammox-Prozesses untersucht wurde. Zur Ermittlung des abgebauten Ammoniums durch den Anammox-Prozess wurde errechnet wie viel Ammonium mit dem, im Nährmedium vorhandenen, Nitrit unter der Annahme des optimalen Abbauverhältnisses von ( $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4\text{-N} = 1,32$ ) abgebaut werden kann. Dieser Wert wurde dann von dem gesamten Ammoniumabbau subtrahiert. Die Differenz musste eine Folge

des PN/A Prozesses sein. Das PN/A / Anammox-Verhältnis stieg erwartungsgemäß immer weiter an von 0,45 (M1) über 0,66 (M2), 0,89 (M3), 1,09 (M4), 1,30 (M5), 1,685 (M6), 2,03 (M7) auf schließlich 5,09 (M8). Die prozentuale Nitratbildung sank von über 15 % (M1; M2) mit sich senkendem  $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  Verhältnis auf ca. 8 % in M7 und M8. Der  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Abbau, verursacht durch PN/A, stieg kontinuierlich an bis auf  $88,5 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  bzw.  $83,6 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  in den Phasen M6 und M7. Allerdings fiel in Phase M8 dieser Wert auf  $46,6 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ . In den Phasen M4 bis M8 kam es immer wieder zu Dauerbelüftung, da die angestrebte Sauerstoffkonzentration nicht erreicht wurde. Am Ende von M8 wurde der Biofilm vom Schlauch entfernt.

Tabelle 33 Ergebnisse der Phasen mit stetiger Verringerung des  $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  Verhältnisses mit dem Ziel der Etablierung des PN/A-Prozesses im membranbelüfteten Festbettreaktor

Phasen-Nr.	Phasenlänge [d]	HRT [d]	Temp. [°C]	Zulaufnachfr. $\text{NO}_2\text{-N}$ [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ]	Zulaufnachfr. $\text{NH}_4\text{-N}$ [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ]	N-Ges. Abbau [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ]	$\text{NH}_4\text{-N}$ - Abbau aufgrund von PN/A [ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ]	$\text{NH}_4\text{-N}$ - Abbau aufgrund von PN/A / $\text{NH}_4\text{-N}$ - Abbau Anammox	$\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung [%]	$\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$
M1	4	1,68 $\pm 0,23$	24,6 $\pm 0,3$	143,6 $\pm 26,3$	157,2 $\pm 28,1$	267,9 $\pm 48,8$	48,3 $\pm 10,6$	0,45 $\pm 0,06$	18,2 $\pm 1,3$	0,91 $\pm 0,03$
M2	6	1,35 $\pm 0,04$	26,0 $\pm 0,5$	180,0 $\pm 9,1$	242,3 $\pm 11,9$	370,1 $\pm 19,2$	90,3 $\pm 5,4$	0,66 $\pm 0,03$	15,7 $\pm 0,4$	0,74 $\pm 0,01$
M3	74	2,59 $\pm 1,23$	20,3 $\pm 3,1$	123,4 $\pm 34,1$	204,1 $\pm 49,8$	277,4 $\pm 75,9$	81,4 $\pm 28,4$	0,89 $\pm 0,29$	11,2 $\pm 1,5$	0,6 $\pm 0,06$
M4	11	2,53 $\pm 0,12$	18,0 $\pm 0,3$	87,2 $\pm 7,4$	150,6 $\pm 6,6$	209,3 $\pm 14,2$	70,3 $\pm 6,9$	1,09 $\pm 0,12$	12,8 $\pm 0,7$	0,58 $\pm 0,03$
M5	11	2,51 $\pm 0,07$	17,7 $\pm 0,1$	84,3 $\pm 2,7$	175,1 $\pm 10,1$	217,9 $\pm 11,5$	79,4 $\pm 8,8$	1,30 $\pm 0,18$	11,0 $\pm 0,2$	0,48 $\pm 0,03$
M6	9	2,57 $\pm 0,12$	17,8 $\pm 0,2$	70,9 $\pm 2,7$	185,1 $\pm 11,8$	202,3 $\pm 19,9$	88,5 $\pm 12,9$	1,68 $\pm 0,21$	9,2 $\pm 0,6$	0,38 $\pm 0,02$

M7	12	2,59	17,9	54,8	185,3	168,3	83,6	2,03	8,5	0,30
		±0,08	±0,2	±2,5	±6,0	±11,2	±7,4	±0,10	±0,6	±0,01
M8	12	2,76	17,8	12,6	123,9	64,6	46,6	5,09	7,9	0,10
		±0,20	±0,2	±1,9	±10,1	±9,8	±7,6	±0,87	±1,4	±0,01

Abbildung 22 stellt die Zu- und Abauffrachten dar. Es ist ersichtlich, dass Nitrit zu keinem Zeitpunkt im Ablauf gemessen wurde. Während M3 traten einige technische Störungen auf. Dies erklärt die geringe Anzahl an genutzten Messpunkten während dieser Phase. Während M3 wurde die Temperatursteuerung installiert und die Temperatur abgesenkt. Zwischen M7 und M8 kam es ebenfalls zu einigen Störungen, deshalb wurde dieser Zeitraum nicht in der Betrachtung berücksichtigt. Die Abauffrachten von Ammonium stiegen im späteren Verlauf etwas an, da die Zulaufkonzentrationen von Ammonium konstant gehalten wurden und nur das Nitrit verringert wurde.

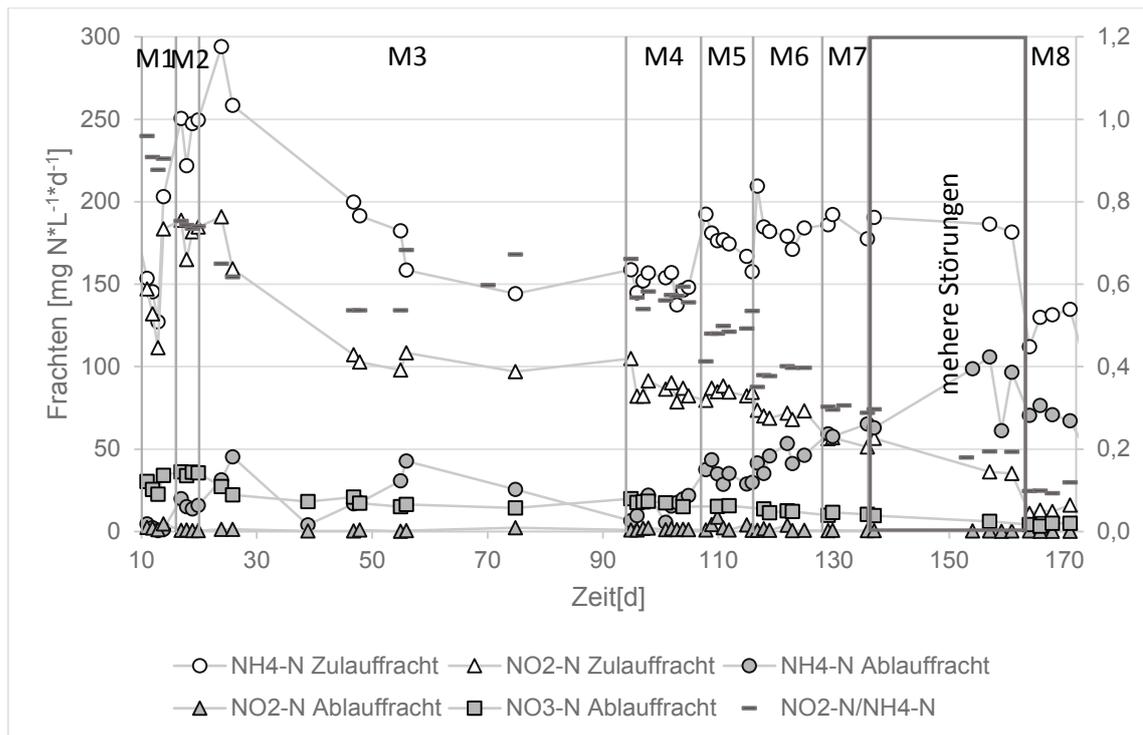


Abbildung 22 Zu- und Abfrachten und  $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  Verhältnis (Sekundärachse) im Zulauf der Phasen mit stetiger Verringerung des  $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$  Verhältnisses mit dem Ziel der Etablierung des PN/A-Prozesses im membranbelüfteten Festbettreaktor.

### 3.5.2 PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (18–8°C)

Teile dieser Ergebnisse sind in der Studienarbeit von Hager (2018) beschrieben.

M9 war die erste Phase ohne zusätzliches Nitrit im Nährmedium. Durch die Verringerung der Belüftungspausen nach Erreichen des Minimalwertes von 30 auf 3 Minuten in Phase M10 verdoppelte sich nahezu der zu Nitrat oxidierte Anteil des abgebauten Ammoniums von 12,1 % (M9) auf 21,2 % und der N-Gesamt-Abbau sank von 51,7 auf 46,2  $\text{mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ . Die Dauerbelüftung in Phase M11 führte weiterhin zu einer leichten Erhöhung des gebildeten Nitrats auf 23,3 %. Da der Sauerstoff nicht mehr auf  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  anstieg, wurde mittels Zeitschaltuhr gearbeitet. Phase M12 nutzte eine 30-minütige Belüftung und 30-minütige Pause. In Phase M13 wurde 10 Minuten belüftet und ebenfalls 30 Minuten pausiert. Die Bildung von Nitrat konnte durch die intervallmäßige Belüftung nicht wieder verringert werden. Sie stieg weiterhin leicht auf 24,4 bzw. 25,3 %. Die Temperaturabsenkung von 18 auf 16°C in Phase M16 führte zu einem weiteren deutlichen Anstieg des gebildeten Nitrats und stieg auf 33,8 % des abgebauten Ammoniums an. Die Tempera-

turabsenkung auf 14°C (M15) führte zu keinem größeren Anstieg der prozentualen Nitratbildung (34,7 %). Auch bei 13°C (M16) bildete sich ähnlich viel Nitrat im Verhältnis zu abgebautem Ammonium (35,2 %).

Der N-Gesamt-Abbau sank ebenfalls von 18°C (M13) zu 16°C (M14), 14°C (M15) und 13 °C (M16) von 47,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> zu 37,2 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>, 33,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und 34,9 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>.

Die IC-Konzentrationen im Ablauf des Reaktors lagen immer bei etwa 100 mg C\*L<sup>-1</sup> bzw. 7,1 mmol\*L<sup>-1</sup>.

Tabelle 34 Abbauverhalten des membranbelüfteten Festbettreaktor bei sinkender Temperatur

Phasen-Nr.	Phaseinstellung und O <sub>2</sub> -Mindestwert	HRT [d]	Temp. [°C]	Länge der Phase [d]	Zulaufkonzentration NH <sub>4</sub> -N mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup>	N-Ges Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	NH <sub>4</sub> -N- Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung bezogen auf NH <sub>4</sub> -N Abbau [%]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup>	Biofilmlalter [d]
M9	Kein NO <sub>2</sub> -N	2,65 ±0,06	18	9	127,7 ±3,0	51,7 ±6,7	57,4 ±5,9	12,1 ±1,0	5,5 ±2,8	0-9
M10	Belüftung nach Erreichen des Minimalwertes 3 min warten statt 30 min	2,56 ±0,28	18	13	133,8 ±16,0	46,2 ±6,9	59,5 ±8,8	21,2 ±2,5	12,6 ±2,7	9-22
M11	Dauerbelüftung O <sub>2</sub> < 0,2 mg*L <sup>-1</sup>	2,58 ±0,12	18	12	132,6 ±8,8	61,7 ±5,3	77,9 ±8,4	23,3 ±1,1	18,0 ±1,5	22-34
M12	ZSU 30 min an 30 min aus	2,88 ±0,14	18	15	114,4 ±5,0	49,1 ±5,3	65,0 ±6,4	24,4 ±2,2	15,8 ±1,7	34-49
M13	ZSU 10 min an 30 min aus 18°C	2,90 ±0,13	18	23	117,3 ±4,2	47,1 ±3,4	63,1 ±4,4	25,3 ±1,4	15,9 ±1,4	49-72

### 3. Ergebnisse

M14	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 16°C	3,08 ±0,35	16	42	108,9 ±11,7	37,2 ±5,1	56,2 ±6,0	33,8 ±2,9	18,9 ±1,7	72- 114
M15	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 14°C	2,89 ±0,24	14	61	115,2 ±8,5	33,1 ±4,4	51,3 ±4,5	34,7 ±4,7	17,8 ±2,3	114- 175
M16	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 13°C	2,63 ±0,05	13,0 ±0,2	30	123,6 ±3,7	34,9 ±3,5	54,5 ±3,2	35,2 ±2,9	19,1 ±0,7	175- 205
M17	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 12°C	2,57 ±0,34	11,9 ±0,2	52	126,4 ±5,7	24,1 ±4,1	49,0 ±4,2	50,7 ±4,6	24,7 ±1,5	205- 257
M18	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 12°C Bio- film entfernt	2,24 ±0,30	12,1 ±0,2	58	154,3 ±16,6	19,1 ±16,3	38,9 ±9,2	21,8 ±7,4	8,1 ±1,4	0-58
M19	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 12°C	2,22 ±0,16	12,0 ±0,4	56	150,9 11,6	40,7 7,7	57,9 10,8	27,8 7,1	15,9 ±4,0	58- 114
M20	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 12°C Bio- film entfernt	2,20 ±0,06	11,7 ±0,3	30	150,6 ±4,4	45,8 ±3,5	58,0 ±3,2	20,4 ±1,6	11,7 ±1,1	0-30
M21	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 10°C	2,37 ±0,10	9,8 ±0,2	58	139,4 ±6,5	44,2 ±4,6	54,8 ±5,4	18,8 ±1,2	10,3 ±0,9	0-57
M22	ZSU 10 min an 30 min aus Über- druck 5 PSI Temp 9°C	2,58 ±0,15	8,9 ±0,2	30	127,9 ±7,4	40,7 ±1,8	52,9 ±2,1	22,5 ±1,3	11,9 ±0,8	58- 87

M23	ZSU 5 min an 30									
	min aus Über-	2,64	7,9	42	125,7	37,9	48,6	21,6	10,5	0-42
	druck 5 PSI	$\pm 0,10$	$\pm 0,3$		$\pm 4,7$	$\pm 2,7$	$\pm 2,7$	$\pm 1,4$	$\pm 0,6$	
Temp 8°C										
M24	ZSU 5 min an 30									
	min aus Über-									
	druck 5 PSI	2,69	7,9	40	54,2	34,3	45,5	24,3	11,0	42-82
	Temp 8°C	$\pm 0,12$	$\pm 0,3$		$\pm 2,3$	$\pm 3,1$	$\pm 3,4$	$\pm 1,5$	$\pm 0,5$	
Zulaufkonz. 145										
mg NH <sub>4</sub> -N										

M17 bis M20 wurden bei 12 °C betrieben. Bei M17 kam es zu einer starken Nitratbildung, welche durchschnittlich 50,7 % des abgebauten NH<sub>4</sub><sup>+</sup> in NO<sub>3</sub><sup>-</sup> umsetzte und stieg täglich um 0,130 % an. Dies stellte einen starken Anstieg gegenüber dem Betrieb bei 13 °C dar. Und hat auch einen Rückgang des N-Gesamt-Abbaus auf 24,1 mg\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> zur Folge, welcher täglich um 0,064 mg\*L<sup>-1</sup> zurückging. Als Hauptgrund hierfür wurde der schon gebildete Biofilm auf der Schlauchmembran angenommen. Folglich wurde dieser entfernt. Somit sollte ein Großteil der NOB entfernt werden, welche dort aufgrund der Verfügbarkeit von Sauerstoff, gehäuft auftreten sollten.

Das Fehlen des Biofilms in Phase M18 führte zu Sauerstoffkonzentrationen von knapp 0,4 mg\*L<sup>-1</sup>. Im System kam es deshalb zu Nitrit- und Nitratakkumulation. Folglich wurde zwischenzeitlich von einer Zeitschaltuhr-Steuerung (10 min an, 30 min aus) auf eine Belüftung mit einer Maximal-Sauerstoffkonzentration von 0,2 m\*L<sup>-1</sup> umgestellt. Der Gesamtstickstoff wurde in M18 teils gar nicht reduziert. Teils arbeitete Anammox, teils waren sie gehemmt, was anhand der zeitweiligen Nitritakkumulation erkennbar war. Der Anteil des umgesetzten Ammoniums, welches zu Nitrat oxidiert wird, stieg über die Zeit, mit einer Zunahme von 0,313 %\*d<sup>-1</sup>, an. Der recht stark schwankende Mittelwert lag bei 21,8 %. Auch der N-Gesamt-Abbau schwankte stark um das Mittel von 19,1 mg\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und sank um 0,273 mg\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Es bleibt zu erwähnen, dass durch die Entfernung des Biofilms anfänglich nur etwas über 16 % des abgebauten Ammoniums zu Nitrat umgesetzt wurde.

Später in der Phase M18 führte die Orientierung an einer Zielkonzentration zur Dauerbelüftung, da der Ziel-O<sub>2</sub>-Wert nicht erreicht werden konnte. Dies wiederum war nachteilig für den Prozess der PN/A. Deshalb wurde in Phase M19 wieder auf eine Zeitschaltuhrsteuerung umgestellt. Es kam nicht mehr zur Nitritakkumulation. Es folgten anfangs geringe Nitratbildungsraten von ca. 18 % bis 20 %. Diese stiegen aber durchschnittlich um 0,515 %\*d<sup>-1</sup> (Ermittlung durch lineare Regressionsgerade (R<sup>2</sup>= 0,92)). Am Ende der Phase waren ca. 37 % Nitratbildung erreicht. Im Mittel wurden 27,8 % Nitrat gebildet.

Der N-Gesamt-Abbau sank im gleichen Zeitraum um  $0,540 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  (von  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  auf etwa  $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Der Mittelwert lag bei  $40,7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

Am Anfang von Phase 20 wurde nochmals der Biofilm entfernt. Die Entwicklung ist ähnlich der von Phase M19. Allerdings vollziehen sich der Anstieg der Nitratbildung und der Abfall des N-Gesamt-Abbaus langsamer als in der vorherigen Phase. Der N-Gesamt-Abbau sank um  $0,198 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die Nitratbildung stieg um  $0,166 \% \cdot \text{d}^{-1}$ . Die mittlere Nitratbildung mit  $20,4 \%$  und der N-Gesamt-Abbau ( $45,8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) ergaben ebenfalls bessere Ergebnisse.

In Phase M21 wurde die Temperatur auf  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  gesenkt und der Biofilm am Anfang entfernt. Der Gesamtstickstoffabbau war mit  $44,2 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  vergleichbar mit dem bei  $12 \text{ }^\circ\text{C}$ . Bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  lag die Nitratbildungsrate bezogen Ammoniumabbau bei  $18,8 \%$ . Besonders positiv zu bewerten ist, der sehr geringe Anstieg der Nitratbildung über die Zeit. Er lag bei  $0,034 \% \cdot \text{d}^{-1}$ . Der N-Gesamt-Abbau stieg über die Zeit sogar gering an mit  $0,048 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ .

M22 arbeitete bei  $9 \text{ }^\circ\text{C}$ . Es wurde kein Biofilm entfernt. Diesmal sank der N-Gesamt-Umsatz leicht um  $0,044 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  bei einer durchschnittlichen Umsatzrate von  $40,7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die Nitratbildungsrate stieg im Schnitt um  $0,141 \% \cdot \text{d}^{-1}$  und lag bei  $22,5 \%$ . Die Nitratbildungsraten waren somit deutlich höher als bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ . Es wurde allerdings zu Beginn kein Biofilm entfernt.

Bei M23 wurde die Temperatur auf  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  gesenkt und der Biofilm von der Belüftungsmembran entfernt. Die Entfernung des Biofilms führte zu erhöhten Sauerstoffkonzentrationen. Es bestand die Gefahr einer Hemmung der Anammox-Bakterien sowie die Gefahr der erhöhten Nitratproduktion. Deshalb wurde die Belüftungszeit auf 5 Minuten reduziert. Trotz der Halbierung der Belüftungszeit sank die N-Gesamt-Umsatzrate lediglich auf  $37,8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  (Vgl.  $40,7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  in M22) und sank pro Tag um  $0,104 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Die Nitratbildungsrate lag bei  $21,6 \%$ . Der zeitliche Anstieg der Nitratbildungsrate betrug  $0,052 \% \cdot \text{d}^{-1}$ .

In M24 wurde die Zulaufkonzentration verringert, um Ablaufkonzentrationen zu erreichen, die annähernd denen einer Kläranlage entsprechen. Die Zulaufkonzentrationen lagen bei  $145,6 \pm 4,0 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$ . Im Ablauf lag die Konzentration noch bei durchschnittlich  $23,2 \pm 6,7 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$ . Dies erschien noch recht hoch. Doch am Ende der Phase waren nur noch etwa  $12,5 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$  vorhanden. Der N-Gesamtabbau sank im Durchschnitt auf  $34,3 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Doch im Zeitverlauf stieg der N-Gesamt-Abbau um  $0,244 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  an. Die Nitratbildung war im Vergleich zur vorherigen Phase auf  $24,3 \%$  gestiegen doch auch hier sank die Nitratbildung um  $0,100 \%$  pro Tag.

Tabelle 35 zeitliche Veränderung des N-Gesamtabbaus, der NO<sub>3</sub>-N Bildungsrate und Biofilmbau, bei sinkender Temperatur im membranbelüfteten Festbettreaktor

Phasen-Nr.	Phaseinstellung und O <sub>2</sub> -Mindestwert	N-Ges Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	Zeitlicher Änderung N-Ges-Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung bezogen auf NH <sub>4</sub> -N Abbau <sup>rn/n</sup>	Zeitliche Änderung NO <sub>3</sub> -N-Bildung [%*d <sup>-1</sup> ]
M17	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 12°C	24,1 ±4,1	-0,064	50,7 ±4,6	0,130
M18	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 12°C Biofilm entfernt	19,1 ±16,3	-0,273	21,8 ±7,4	0,313
M19	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 12°C	40,7 7,7	-0,540	27,8 7,1	0,515
M20	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 12°C Biofilm entfernt	45,8 ±3,5	-0,198	20,4 ±1,6	0,166
M21	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 10°C	44,2 ±4,6	0,048	18,8 ±1,2	0,337
M22	ZSU 10 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 9°C	40,7 ±1,8	-0,044	22,5 ±1,3	0,141
M23	ZSU 5 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 8°C Biofilm entfernt	37,9 ±2,7	-0,104	21,6 ±1,4	0,052
M24	ZSU 5 min an 30 min aus Überdruck 5 PSI Temp 8°C Niedrige NH <sub>4</sub> -N Konz	34,3 ±3,1	0,244	24,3 ±1,5	-0,100

### 3.5.3 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und Nitratbildung im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor

Bei der Gegenüberstellung der Mittelwerte der Nitratbildung und der N-Gesamtabbaus wird ein Zusammenhang ersichtlich (Abbildung 23 und Abbildung 24).

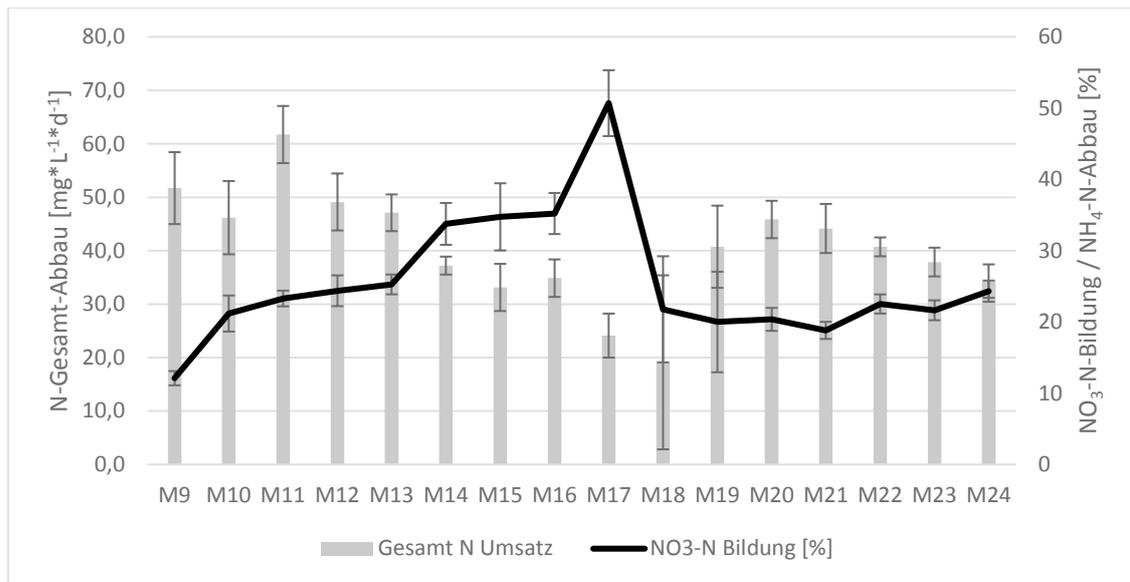


Abbildung 23 N-Gesamt-Abbau und NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau der Phasen M9 bis M23 im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor

Der N-Gesamt-Abbau und die Nitratbildung aller Messpunkte der Phasen wurden gegenübergestellt. Es besteht ein direkter negativer Zusammenhang zwischen dem N-Gesamt-Abbau und der NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den NH<sub>4</sub>-N-Abbau. Es wurden der niedrigste N-Gesamt-Abbau-Wert (M18) und der höchste N-Gesamt-Abbau-Wert (M11) außer Acht gelassen. Die Nitratbildung stieg um 0,6472 % pro mg Absenkung der N-Gesamt-Abbauleistung. Dieser Effekt erstreckte sich über alle gemessenen Phasen und damit relativ unabhängig von der Temperatur. Dies bedeutet, dass in diesem System die Unterdrückung der Nitratbildung essentiell war und höhere Abbauraten nicht erreicht werden konnten, wenn die Nitratbildung ebenfalls hoch war. Somit kann weiterhin geschlossen werden, dass das Verhältnis zwischen AOB und NOB eine wichtige Rolle spielt. Es können allerdings aufgrund der Daten keine exakten Angaben diesbezüglich gemacht werden. Der Zusammenhang kann mit einer linearen Formel beschrieben werden. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  beträgt 0,6282.

$$y = -0,6472x + 56,989$$

Formel 16

Hier beschreibt „y“ den N-Gesamt-Abbau [mg N·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>] und „x“ beschreibt die NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau [%]

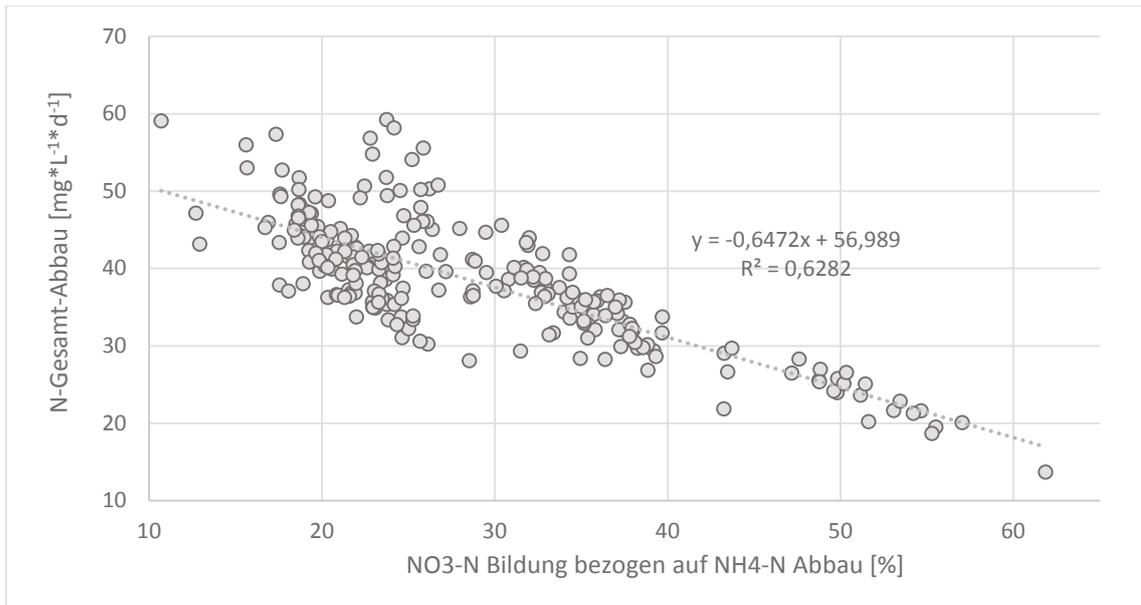


Abbildung 24 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und NO<sub>3</sub>-N-Bilung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18

Im Weiteren wurden die Ergebnisse nach sichtbarem Biofilmbewuchs und nicht vorhandenen bzw. nicht sichtbarem Biofilmaufwuchs auf der Membran unterschieden.

Abbildung 25 hebt die Phasen mit etabliertem Biofilm hervor. In diesen Phasen wurde die Temperatur gezielt abgesenkt. Es ist deutlich ersichtlich, dass ausgebildete Biofilme zu schlechteren Ergebnissen führten. Die ausgegrauten Werte sind die Werte der Phasen mit keiner oder nur sehr geringem Biofilmaufwuchs.

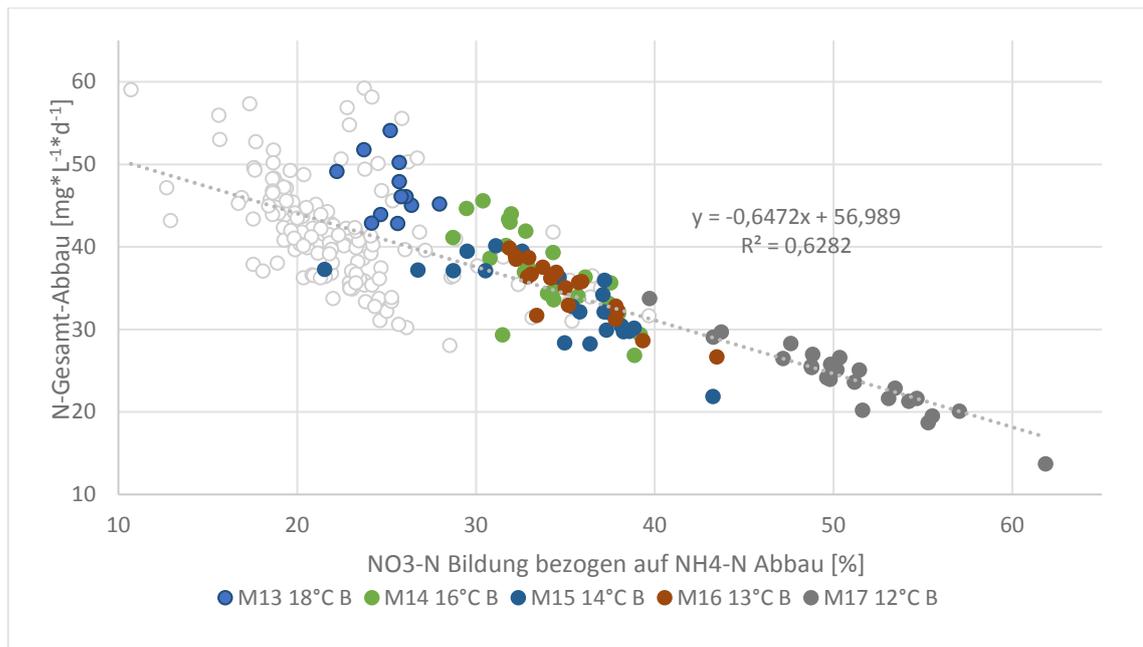


Abbildung 25 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und NO<sub>3</sub>-N-Bilung im membranbelüfteten Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18. Hervorhebung der Phasen mit starkem Biofilmaufwuchs auf der Belüftungsmembran des Niedrigtemperatur-Festbettreaktors

Bei der Analyse der Phasen mit sehr geringem oder keinem Biofilmaufwuchs auf der Belüftungsmembran wird deutlich, dass fast alle Werte im Bereich liegen, in dem die N-Gesamt-Abbauraten hoch und die NO<sub>3</sub>-N-Bildung gering waren (Abbildung 26). Und somit ein wesentlich effizienterer Betrieb des Reaktors gewährleistet war. Bei niedrigen Temperaturen (M20-M24, roter Rahmen) nahm der N-Gesamt-Abbau noch schneller mit der Nitratbildung ab, als über den gesamten Temperaturbereich. Das Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> liegt bei 0,6078.

$$y = -1,7249x + 77,533$$

Formel 17

Hier beschreibt „y“ den N-Gesamt-Abbau [mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>] und „x“ beschreibt die NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau [%].

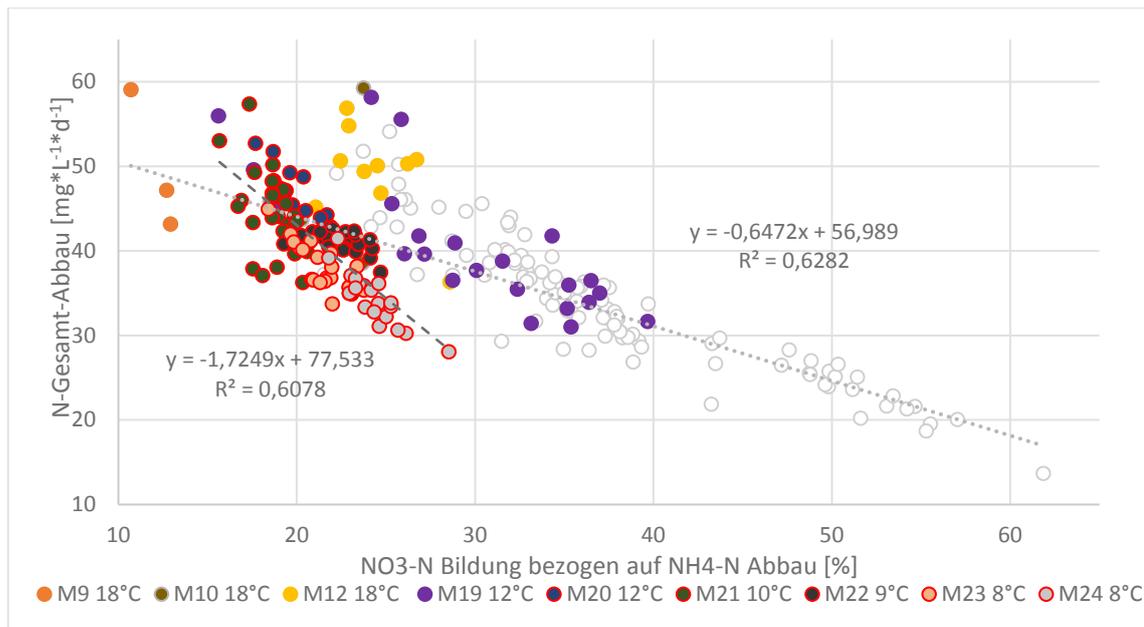


Abbildung 26 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor der einzelnen Phasen unter Ausnahme von M11 und M18. Hervorhebung der Phasen mit keinem oder sehr geringem Biofilmaufwuchs auf der Belüftungsmembran

### 3.5.4 Einfluss des Biofilms, des Biofilmalters und der Temperatur auf die Nitratbildung im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor

Der Vergleich der Phasen mit wenig oder keinem Biofilmaufwuchs (M9-10; M12; M19-24) und Phasen mit deutlichem Biofilmaufwuchs (M13-17) mittels Box-Plots (Abbildung 27) machten die Unterschiede ebenfalls deutlich. Die Abbauraten der Phase ohne Biofilm war weniger stark gestreut und erreichten im Mittel höhere Abbauraten ( $41,9 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) im Vergleich zu den Phasen mit Biofilmaufwuchs ( $33,9 \text{ mg N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Der Unterschied in der Nitratbildung bezogen auf den Ammoniumabbau war noch deutlicher. Hier lagen die durchschnittlichen Werte der Phasen ohne Biofilm (22,5 %) sehr deutlich unterhalb derer mit Biofilm auf der Belüftungsmembran (37,3 %). M11 und M18 wurden bei der Betrachtung nicht berücksichtigt.

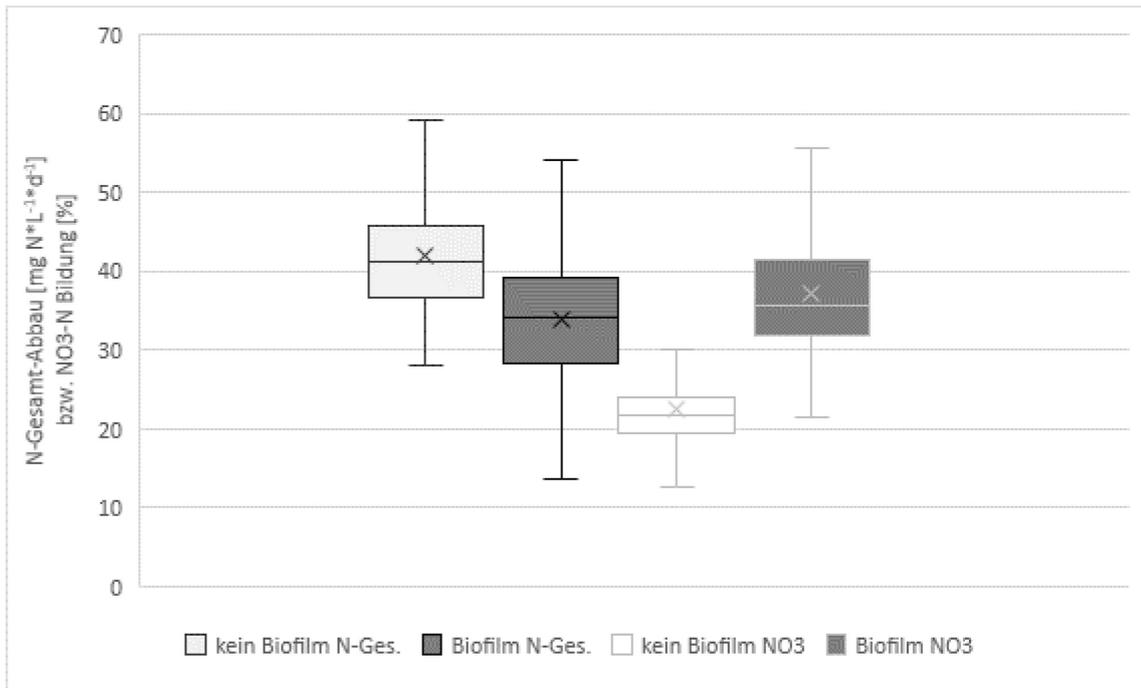


Abbildung 27 Vergleich von N-Gesamt-Abbau und  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung zwischen Phasen mit starkem Biofilmaufwuchs (M13-M17) und Phasen mit keinem oder sehr geringem Biofilmaufwuchs (M9;M10;M12;M19-M24) im membranbelüfteten Festbettreaktor mittels Box-Plots. Die Kreuze markieren den Mittelwert; die mittlere Linie den Median; die obere und untere Linie des Kastens das 25 %-und 75 %-Quartil; oberen und unteren so genannten Whisker die 5 %- und 95 % Perzentile

Da die Einteilung in „Biofilm ausgebildet“ und „Biofilm nicht vorhanden“ einen subjektiven Aspekt beinhaltet, wurde die Abbauleistung und Nitratbildung nochmals in Relation zum tatsächlichen Alter des Biofilms gesetzt.

Wenn das Biofilmalter mit der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung ins Verhältnis gesetzt wurde (Abbildung 28), dann wurde die Abhängigkeit zum Biofilmalter deutlich. Höhere Reaktortemperaturen führten zudem zu einem schnelleren Anstieg der Nitratproduktion. Die rot umrandeten Phasen (M20-M24;  $12\text{-}8^\circ\text{C}$ ) zeigen einen deutlich langsameren Anstieg auf. Ausnahmen bildeten hier die Phasen M18 und M19, beide  $12^\circ\text{C}$ , (gelb umrandet), welche beide ebenfalls einen sehr schnellen Anstieg der Nitratbildung verzeichneten. Im Durchschnitt stieg die Nitratbildung um  $0,1247\%$  pro Tag Biofilmalter an. Der Zusammenhang kann mit einer linearen Formel beschrieben werden. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  beträgt  $0,7685$ .

$$y = 0,1247x + 16,889$$

Formel 18

„Y“ beschreibt die NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau [%] und „x“ steht für das Biofilmalter [d].

Der Anstieg im Temperaturbereich zwischen 10 °C und 9 °C fällt wesentlich geringer aus und steigt im Schnitt nur um 0,0764 % pro Tag (R<sup>2</sup> = 0,7369). Die Formel stellt sich folgendermaßen dar (schwarz gestrichelte Trendlinie in der Abbildung).

$$y = 0,0764x + 16,627$$

Formel 19

Bei 8 °C steigt die Nitratbildung noch einmal langsamer an. Pro Tag steigt die Nitratbildung um 0,0508 % an (R<sup>2</sup> = 0,3712 (schwarze Punkt-Strich-Linie in der Abbildung).

$$y = 0,0508x + 20,631$$

Formel 20

Allerdings befindet sich die Nitratbildung auf einem höheren Niveau von 22,9 % im Gegensatz zu 20,3 % bei 9 °C -10 °C

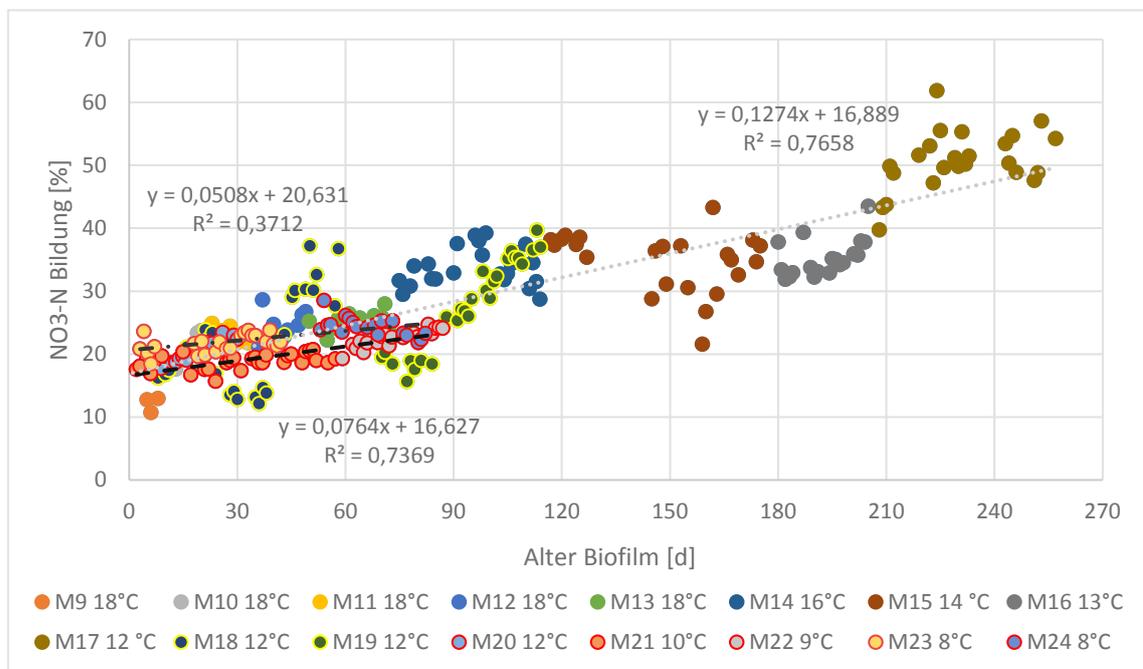


Abbildung 28 Darstellung der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung in Abhängigkeit vom Biofilmalter aufgeschlüsselt nach den einzelnen Phasen im membranbelüfteten Festbettreaktor

Auch eine Unterteilung in 30-Tages-Intervalle des Biofilmalters machte den ansteigenden Trend deutlich (siehe Abbildung 29). In den ersten 30 Tagen bildet sich mit 20,0 % am wenigsten Nitrat. Danach bildet sich zwischen 31 und 90 Tagen ein kleines Plateau (22,4 - 24,0 %), und zwischen 121 und 210 Tagen ergab sich ebenfalls ein Plateau mit 33,8 – 36,1 % Nitratbildung, mit dem Mittelwert von 34,0 %.

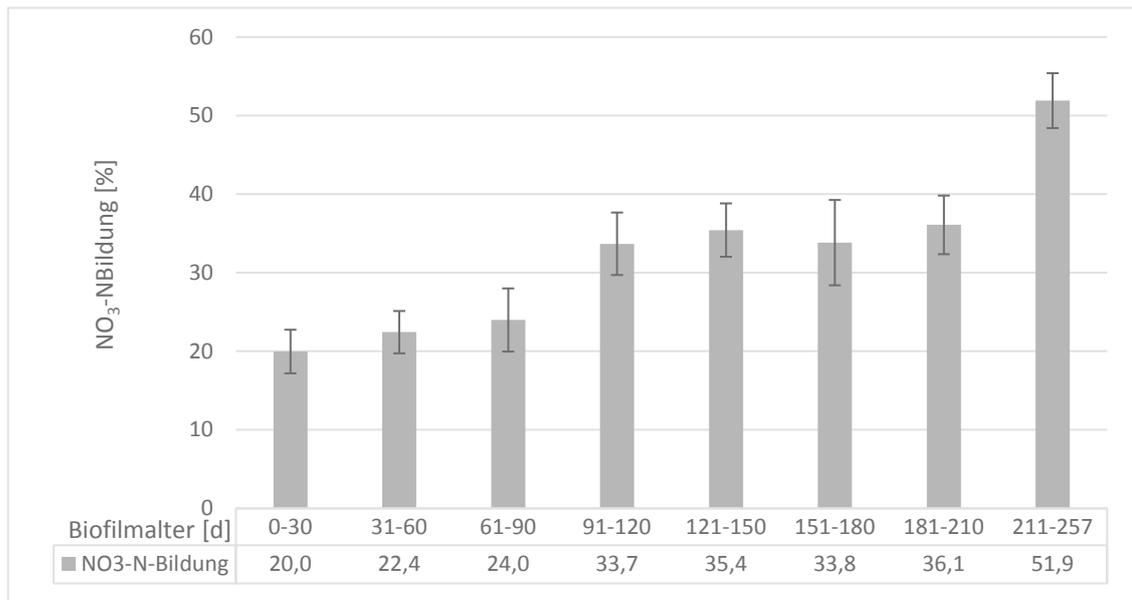


Abbildung 29 Darstellung der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung in Abhängigkeit vom Biofilmalter aufgeschlüsselt nach 30-Tages-Intervallen im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor.

### 3.5.5 Einfluss des Biofilms, des Biofilmalters und der Temperatur auf die N-Gesamt-Abbauleistung membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor

Ein Vergleich der Phasen M9 bis M13 bei 18 °C und M20 bis M24 (12-8 °C) zeigt nur relativ geringe Unterschiede (siehe Abbildung 30). So ist der Mittelwert des N-Gesamt-Abbaus bei 12 °C bis 8 °C mit 40,9 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> nur um etwa 18,7 % geringer als bei 18 °C mit 50,3 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Bei 12 °C bis 8 °C liegt die Nitratbildung mit 22,6 % minimal niedriger als bei 18 °C (23,0 %). Die Phasen M17 und M18 wurden nicht berücksichtigt, da innerhalb von Phase M17 starke Änderungen stattfanden und M18 aufgrund von zwischenzeitlicher Nitritakkumulation nicht repräsentativ für den Abbau waren.

Im Mittel wurden bei 12 °C (M19, M20) bei 43,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abgebaut. Somit wurden

noch 85,6 % der Abbauleistung bei 18 °C erreicht.

Der Mittelwert aller gemessener Daten bei 8 °C (M23, M24) lag bei 36,3 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und erreichte somit noch 72,1 % der Abbauleistung bei 18 °C. Gegenüber 12 °C sank die Abbauleistung auf 84,2 %.

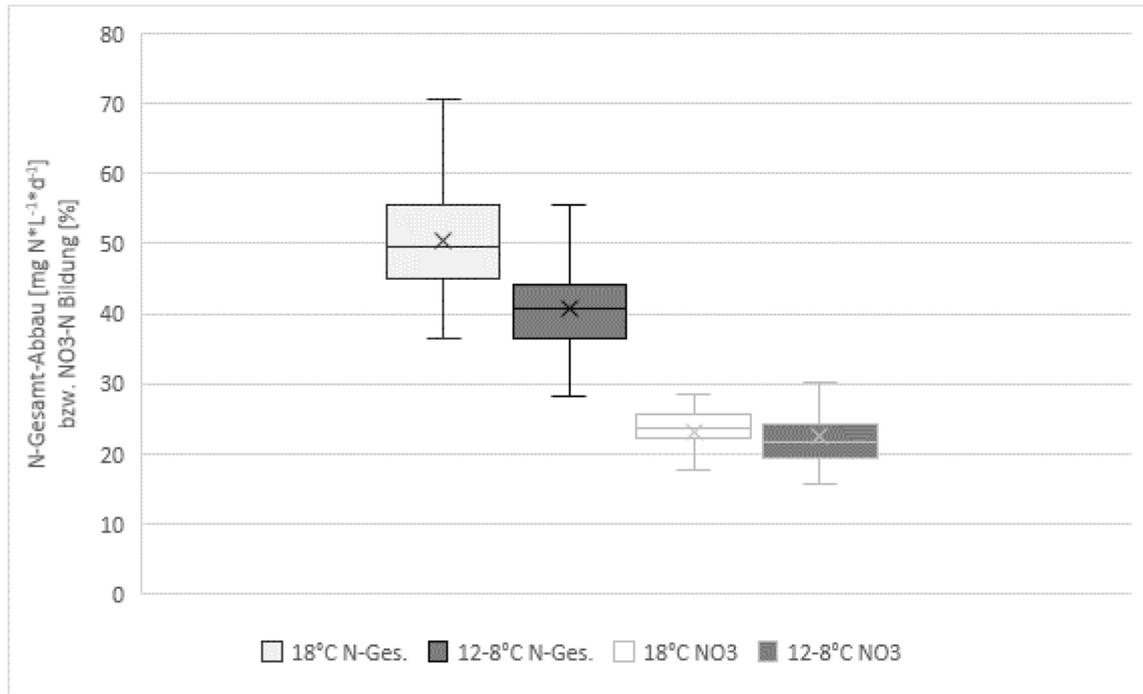


Abbildung 30 Vergleich von N-Gesamt-Abbau und NO<sub>3</sub>-N-Bilung zwischen Phasen mit 18 °C Betriebstemperatur (M9-M13) und Phasen mit 12-8 °C Betriebstemperatur (M20-M24) im membranbelüfteten Festbettreaktor mittels Box Plots. Die Kreuze markieren den Mittelwert; die mittlere Linie den Median; die obere und untere Linie des Kastens das 25 %-und 75 %-Quartil; oberen und unteren so genannten Whisker die 5 %- und 95 % Perzentile.

Der N-Gesamt-Abbau ist, wie zu erwarten, war, ebenfalls vom Biofilmtalter auf der Belüftungsmembran abhängig (siehe Abbildung 31). Jeden Tag sank die Abbauleistung um durchschnittlich 0,0868 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Der Zusammenhang kann mit der linearen Formel dargestellt werden. Das Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> liegt bei 0,416. M18 wurde nicht berücksichtigt.

$$y = -0,0868 x + 46,918$$

Formel 21

Wobei „y“ dem N-Gesamt-Abbau [ $\text{mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ] und „x“ dem Biofilmalter [d] entsprechen.

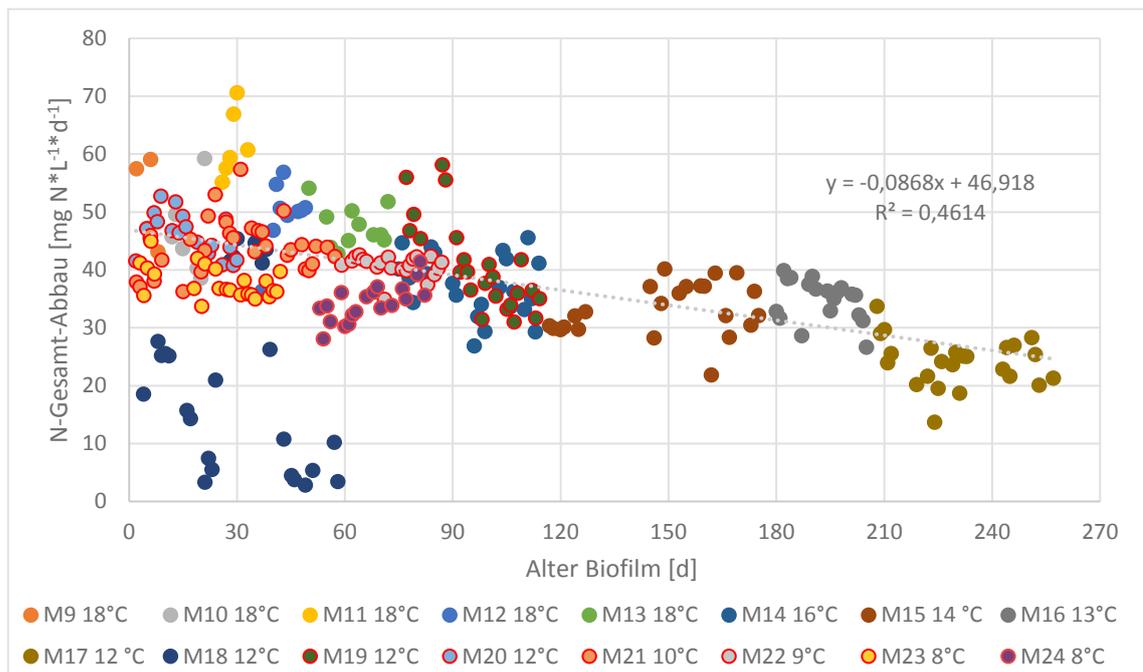


Abbildung 31 Abhängigkeit des N-Gesamt-Abbaus vom Biofilmalter. M18 (dunkelblau) ist hier als Ausnahme zu betrachten.

Ein Vergleich des N-Gesamt-Abbaus über die Mittelwerte von 30-Tages-Intervallen ergab (Abbildung 32) eine leichte Absenkung bis zu 90 Tagen ( $41,5 - 45,5 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Danach sank die Abbauleistung bis 120 Tage Biofilmalter auf  $35,8 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die nächsten 90 Tage blieb die Abbauleistung konstant zwischen  $33,1$  und  $34,4 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Im letzten Intervall kam es zu einem starken Einbruch der Leistungsfähigkeit auf  $23,2 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Diese Verringerung fiel mit der Absenkung auf  $12^\circ\text{C}$  und dem sehr hohen Biofilmalter zusammen (M17).

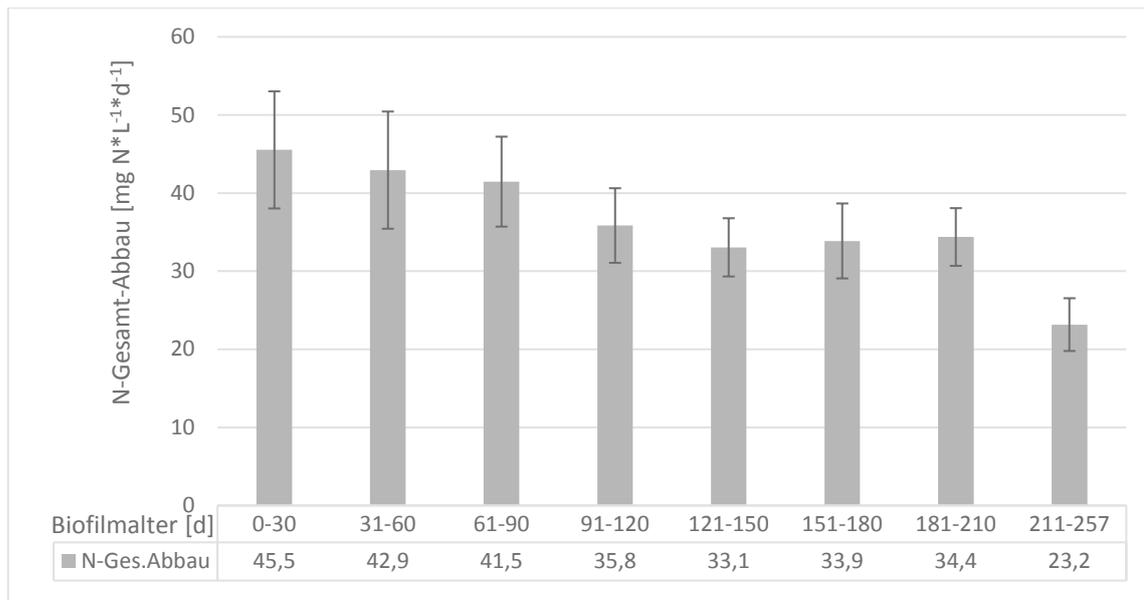


Abbildung 32 Mittelwerte des N-Gesamt-Abbaus der 30-Tages-Intervalle des Biofilialters im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor im Temperaturbereich von 18 °C bis 8 °C

### 3.5.6 Sauerstoffversorgung und Sauerstoffverbrauch des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors

In Phase M24 (8 °C und niedrige  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Zulaufkonzentration) kam es zu einem zwischenzeitlichen Defekt der Zulaufpumpe. Dies hatte zur Folge, dass das gesamte Ammonium verbraucht wurde. Daraufhin stieg die Sauerstoffkonzentration bis auf  $0,98 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  an (siehe Abbildung 33). Es wurde sofort Nährmedium direkt in den Reaktor gegeben, damit der Sauerstoff durch Nitritation verbraucht werden konnte. Und dies geschah auch umgehend. Somit nahm die Sauerstoffkonzentration um  $0,0651 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  ab. Die jeweiligen Anstiege der Belüftungsphasen sind im Diagramm wiedergegeben. Nach den ersten zwei hervorgehobenen Anstiegen war eine Verringerung der Sauerstoffkonzentration in den Belüftungspausen zu erkennen. Dies deutete auf noch vorhandenes Ammonium hin. Danach fiel die Sauerstoffkonzentration nicht mehr ab. Der Anstieg der Sauerstoffkonzentration lag zwischen  $0,0291$  und  $0,04 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Was einen Mittelwert von  $0,0337 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  entsprach. Die äußere Membranfläche des Schlauchs betrug  $0,01885 \text{ m}^2$ . Es könnten folglich theoretisch bei einer Membranfläche von  $1 \text{ m}^2$   $1,788 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  in den Reaktor, also in einen Liter Reaktorvolumen, eingebracht werden. Da der allergrößte Teil der AOB direkt auf der Membran angesiedelt war (Vgl. Abbildung 35), kann auch die maximale Sauerstoffaufnahme pro  $\text{m}^2$  Membranbiofilm angegeben werden. Es könnten also theoretisch pro  $\text{m}^2$   $3,543 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$

<sup>1</sup> vom Biofilm aufgenommen werden, was ungefähr der doppelten Menge des möglichen Eintrags entspricht. Der Biofilm war zu diesem Zeitpunkt 66 Tage alt. Es sollte also auch bei Dauerbelüftung möglich gewesen sein, sauerstofffrei zu arbeiten. Die Ergebnisse für 1 m<sup>2</sup> Membranfläche pro Liter Reaktorvolumen sind hier nur als theoretisch anzusehen, da es praktisch nicht möglich sein sollte so viel Schlauch unterzubringen. Um belastbarere Ergebnisse zu erhalten, müsste dieser Versuch wiederholt werden, aber da der Reaktor noch in Betrieb ist und das Risiko der Hemmung durch Sauerstoff minimal gehalten werden soll, wurde auf eine Wiederholung verzichtet. Trotz allem geben diese Ergebnisse einen ersten Einblick.

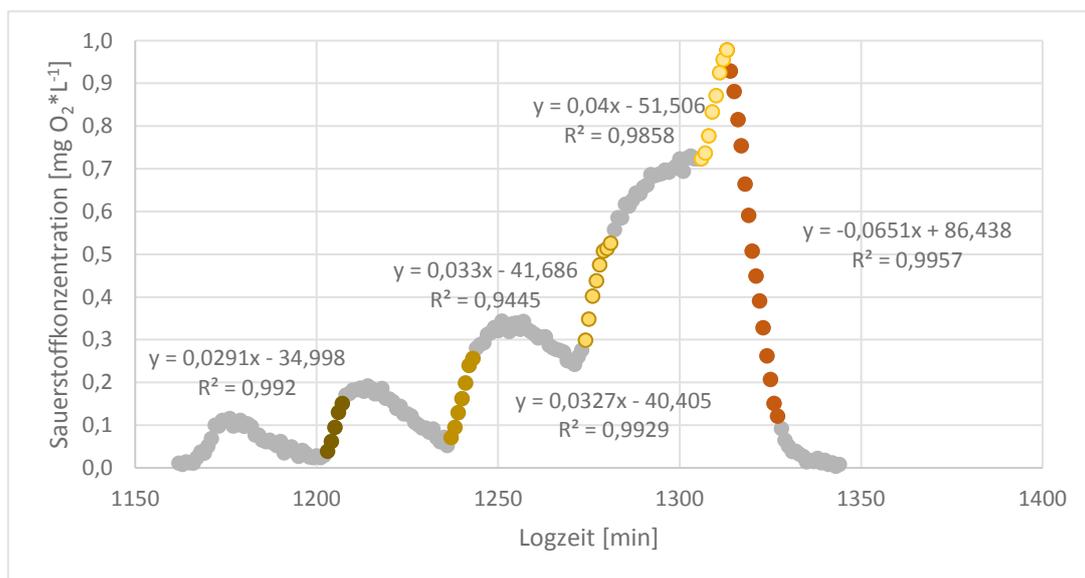


Abbildung 33 Sauerstoffprofil bei dem kompletten Verbrauch von Ammonium im membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktor bei 8 °C, sowie die Reaktionsgeschwindigkeit auf die Zugabe von Ammonium.

### 3.5.7 Molekularbiologische Ergebnisse des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors

Um einen Eindruck zur Verteilung der Biomasse in den untersuchten Reaktoren zu erhalten, wurden Biofilmproben am Ende der Phase M24 entnommen. Dies diente als Ausgangsmaterial für die quantitative real-time PCR (qPCR). Das 16S-rDNA Gen ist ein universales bakterielles Gen, welches die Gesamtzellzahl in der Probe repräsentiert. Für den Nachweis an der PN/A- Reaktion beteiligten Bakteriengruppen wurden die funktionellen Gene *nirS* und *nirK* (Denitrifikanten), *amoA* (Nitrifikanten) und *hzsA* (Anammox-Bakterien) detektiert. Die Analyse ergab, dass *nirS* sowohl auf Membran als auch auf

den Anammoxträgern dominierte, gefolgt von *amoA*. Das Gen *nirK*, welches ebenfalls in Denitrifikanten vorkommt, war in vernachlässigbar geringer Anzahl vertreten. Wohingegen auf den Anammox-Trägern der Anteil von *hzsA* gegenüber der Membran überwog (Abbildung 34).

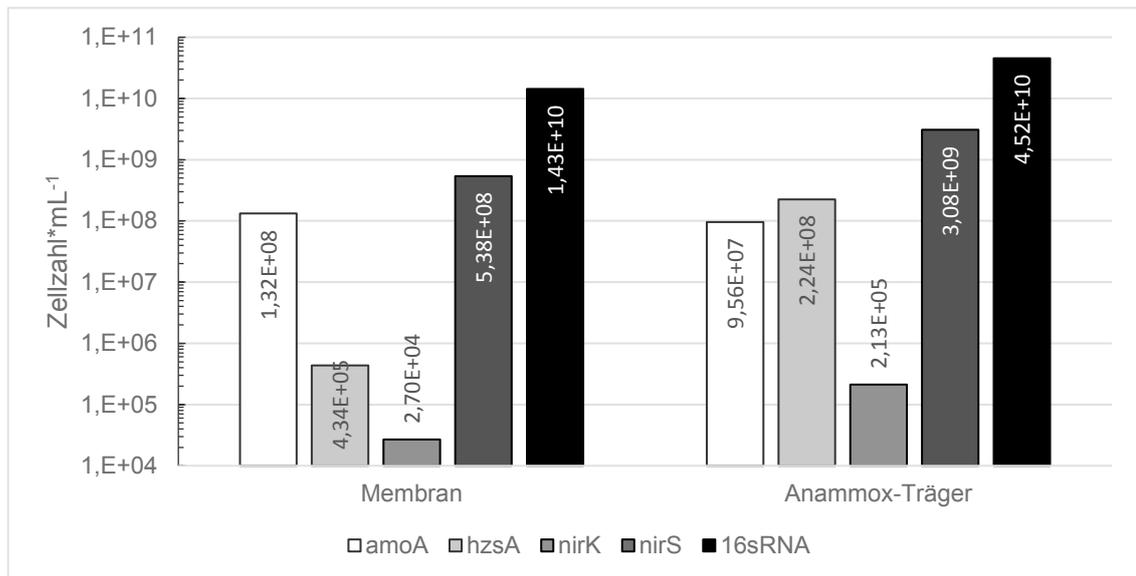


Abbildung 34 Zellzahlen der verschiedenen Gene auf der Membran und auf den Anammox-Trägern des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf 1 mL Biofilmfrischmasse.

Bei der prozentualen Darstellung (Abbildung 35) wurde *nirK* nicht hinzugefügt, da es weniger als 0,1 % der Gesamtzellzahl der vier Gene *nirS*, *nirK*, *amoA* und *hzsA* ausmachte. Das Gen *nirS* nahm den größten Anteil ein. Hier muss aber darauf hingewiesen werden, dass die vorhandenen Gene nicht zwangsläufig etwas über die Aktivität oder den Zustand der Zellen aussagen. Denn es wurde kein externer Kohlenstoff, der als Energiequelle hätte dienen können, dem Medium hinzugegeben. Durch die qPCR-Analyse konnte die angestrebte Trennung der beiden Biofilmkonsortien eindrucksvoll bestätigt werden. Denn auf der Membran machten die AOB noch 19,7 % aus und Anammox nur 0,06 %. Dieses Bild ändert sich komplett auf den Trägern, wo 6,7 % der Bakterien als Anammox identifiziert werden konnten. AOB mit dem Gen *amoA* sanken auf 2,8 % ab.

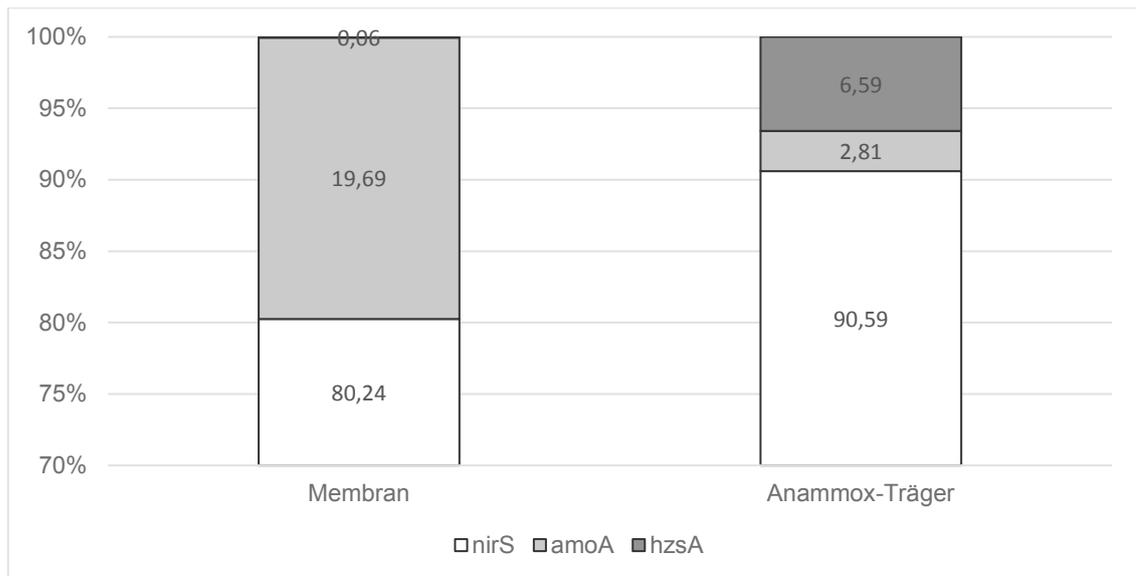


Abbildung 35 prozentuale Verteilung der Gene *nirS*, *amoA* und *hzsA* im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor auf der Belüftungsmembran und dem Anammox-Träger.

Es wurde auch die zeitliche Entwicklung auf den Anammox-Trägern untersucht (siehe Abbildung 36). Zwischen den beiden Probenahmen lagen 159 Tage. Die Temperatur wurde von 10 °C auf 8 °C gesenkt. Weiterhin wurde in M24 die Zulaufkonzentration verringert. Es ist ersichtlich, dass sich der Anteil von Anammox nur geringfügig geändert hat. Der Anteil der AOB hat sich auf Kosten der Denitrifikanten fast verdoppelt. Die Ergebnisse der Zellzahlen sind im Anhang zu finden.

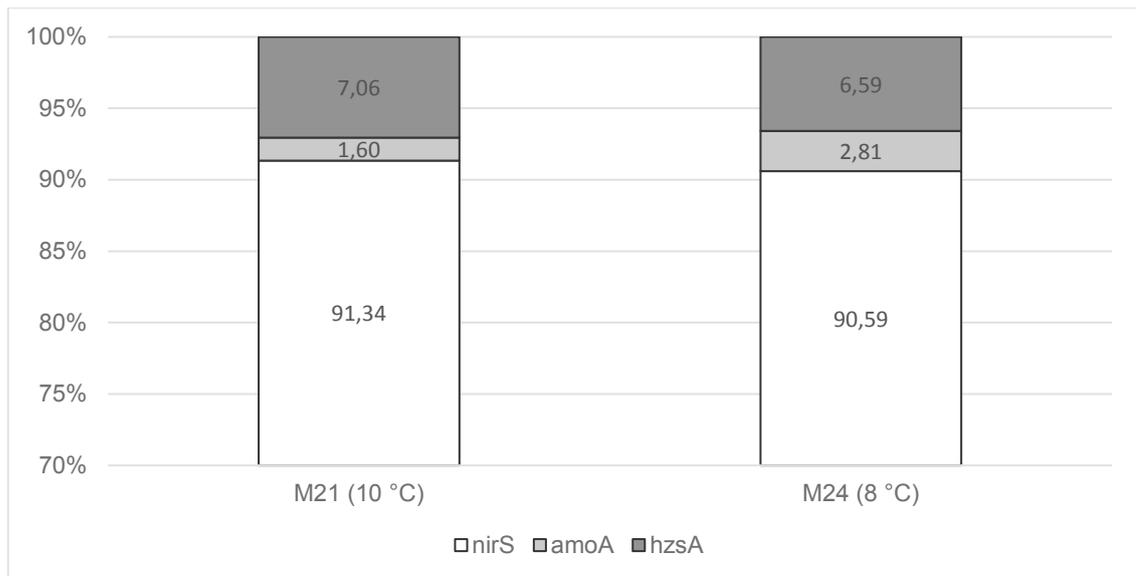


Abbildung 36 prozentuale Verteilung und zeitliche Änderung der Gene *nirS*, *amoA* und *hzsA* im membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktor auf dem Anammox-Träger über einen Zeitraum von 159 im Temperaturbereich zwischen 10 und 8 °C.

Die Auswertung der FISH-Amplifikate (Abbildung 37) ergaben folgende ungefähre Zusammensetzung des Biofilms auf den Anammox-Träger. „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“, detektiert mit der Sonde KST157, nahm etwa 50 % der Gesamtbiomasse ein. „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“, detektiert durch die Sonde BAN162, machte etwa 40 % – 50 % aus. *Nitrospirae* (NOB), welche mit der Sonde NTSPA712 detektiert wurden, lagen bei etwa 5 %. NSO1225, welche *Nitrosomonas* (AOB) detektiert, lag im Bereich von 1 – 2 % der Gesamtbiomasse. Somit decken sich die Ergebnisse qualitativ mit denen der qPCR. Anammox ist dominant, mit geringen Anteilen von AOB und NOB. Allerdings ist unklar wo die Biomasse mit dem *nirS*-Gen sein soll. Alles in allem ergeben die FISH-Ergebnisse ein eher zu erwartendes Gesamtbild. Im Folgenden sind exemplarische Aufnahmen dargestellt.

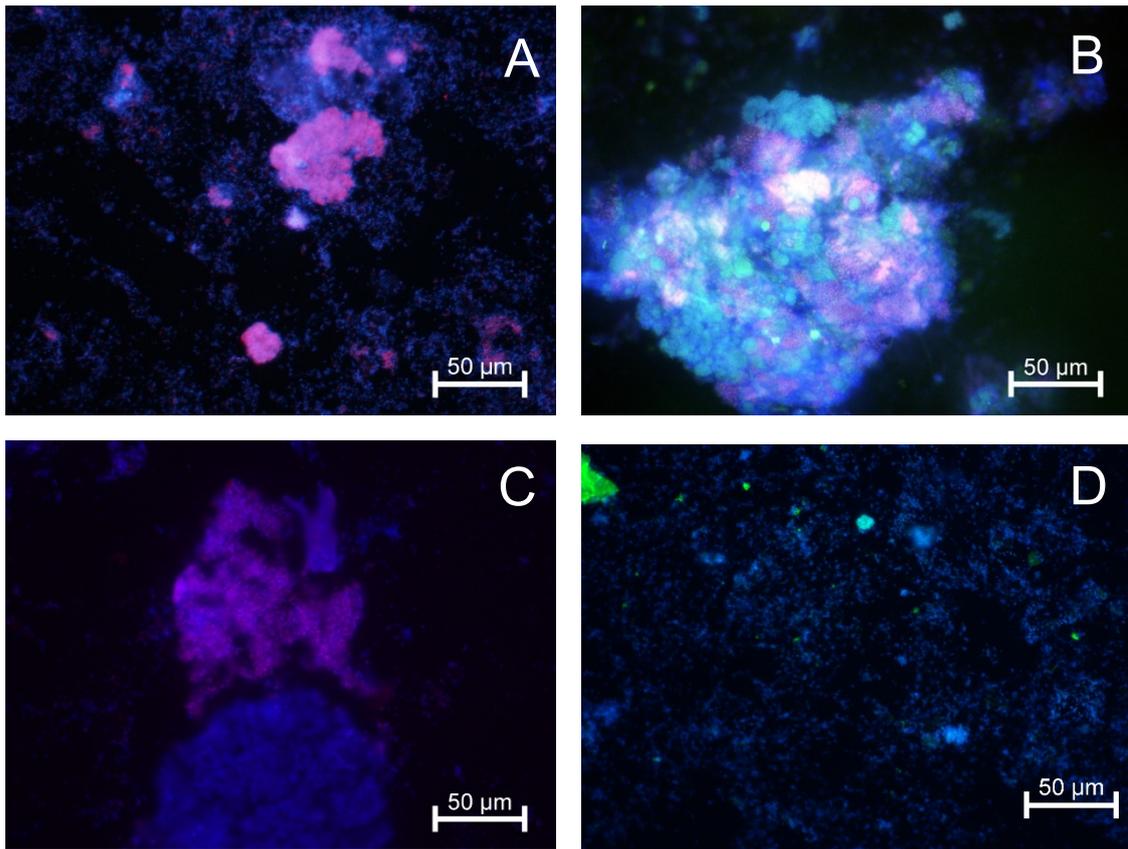


Abbildung 37 zusammengesetzte FISH-Bilder des Anammox-Trägers im Niedrigtemperaturreaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink). B: DAPI (blau) / NSO1225 (grün) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NTSPA712 (türkis)

Auf der Belüftungsmembran waren Anammox-Bakterien nur in geringer Zahl vertreten (siehe Abbildung 38). So wird „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ ein Anteil von 2 % bis 5 % zugeschrieben (Sonde KST157). „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“ nahm etwa 5 % der Gesamtzahl ein (Sonde BAN162). Die Sonde NSO1225 (AOB) war für etwa 10 % spezifisch, NSM156 (AOB, Gattung *Nitrosomonas*) markierte etwa 40 % der Bakterien. Somit können etwa 40 % den AOB zugeschrieben werden. NIT3 ist für rund 1 % spezifisch und repräsentiert *Nitrobacter* (NOB). NSTPA712 bindet an etwa 0,5 % und umfasst fast alle *Nitrospirae*. Die qualitative Aussage bleibt im Vergleich zur qPCR erhalten. Es sind wenige Anammox-Bakterien anzutreffen und dafür eine Vielzahl AOB und auch NOB. Hier bleibt zu betonen, dass *Nitrobacter* nur marginal auftritt.

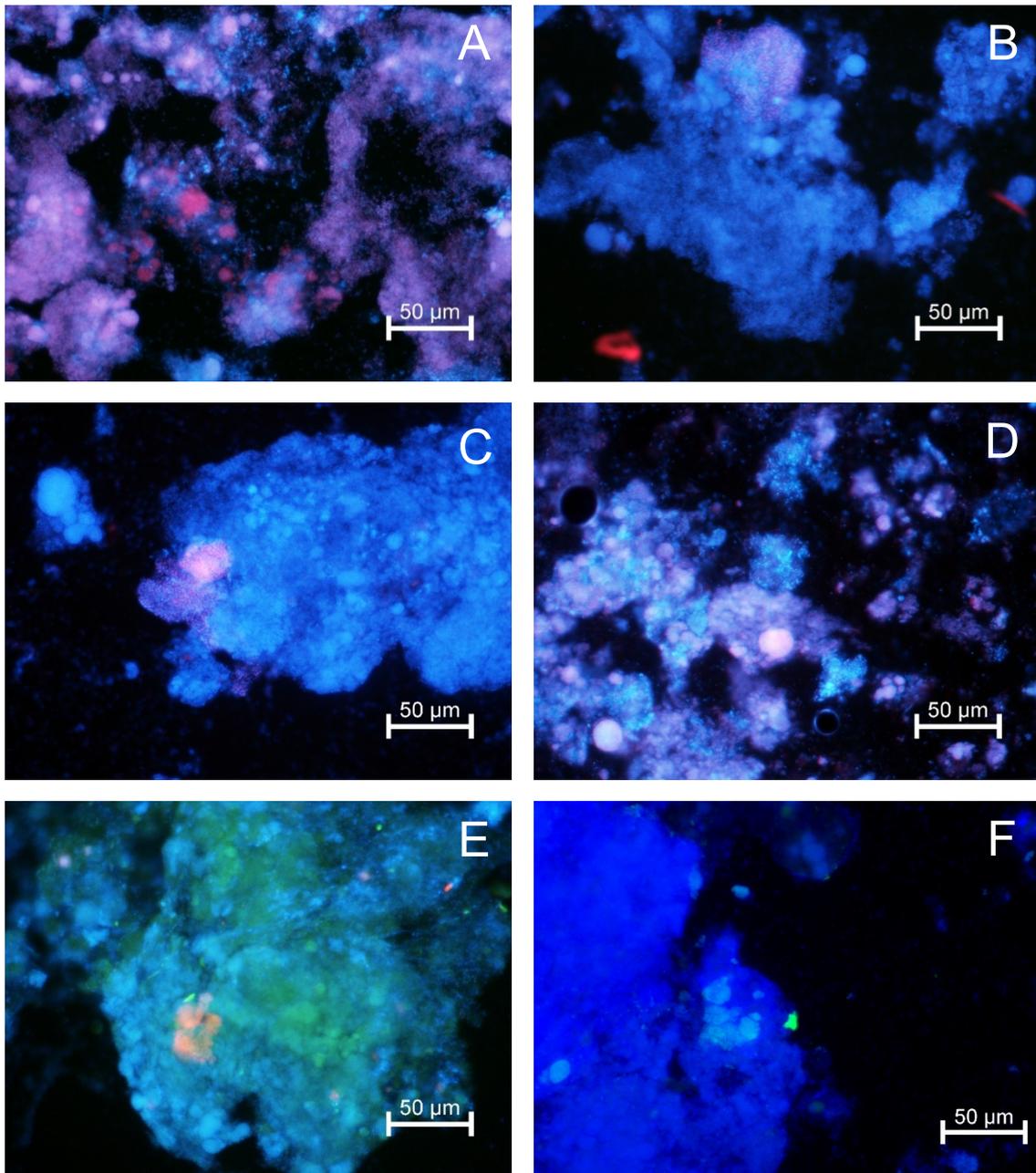


Abbildung 38 zusammengesetzte FISH-Bilder der Biomasse der Belüftungsmembran im Niedrigtemperaturreaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NSM156 (pink), E: DAPI (blau) / NSO1225 (grün) / NIT3 (rot), F: DAPI (blau) / NSTPA712 (türkis)

### 3.6 Membranbelüfteter PN/A-Festbettreaktor mit erhöhten Salz- und TOC-Konzentrationen

*Teile dieser Ergebnisse sind in der Masterarbeit von (Mozooni, 2017) und im Studienprojekt von (Bierbach, 2017) beschrieben.*

Mit diesem Reaktor wurde die Tauglichkeit eines membranbelüfteten PN/A-Systems zur Behandlung von salinen Wässern untersucht. Der Reaktor verfügt über ein Volumen von 3,2 L und wurde bei 30 °C betrieben. Der Zulaufvolumenstrom, der pH-Wert und Rührgeschwindigkeit wurden auf 1,35 L\*d<sup>-1</sup>, 7,4, und 200 U\*min<sup>-1</sup> festgelegt. Die Belüftung fand über einen 2 m langen, spiralförmig aufgewickelten Silikonschlauch, kontinuierlich statt. Sauerstoff war der limitierende Faktor in dem System. Um den Sauerstoffübergang zu verbessern wurde ein Überdruck von 10 PSI aufgebracht. Die eingebrachte Anammox-Biomasse stammt aus dem, mit synthetischem Abwasser betriebenen, Anammox-Reaktor (Vgl. 2.1.1). Als Trägermaterial wurde offenporiges Polyurethan verwendet.

In MS1 wurden, nach einem Betrieb ohne Anammox, 16 mit Anammox-Bakterien bewachsene, Polyurethanträger plus 4 biomassefreie Träger installiert. Des Weiteren wurden die Frachten erhöht. Es stellte sich unmittelbar ein Anstieg im N-Gesamt-Abbau ein, welcher bei 19,7 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> lag. Allerdings stieg er pro Tag um 0,344 mg N\*L<sup>-1</sup>, was für eine Etablierung der PN/A sprach. Die Nitratbildung war mit 23,1 % vergleichsweise hoch, aber aufgrund der sich etablierenden PN/A sank die Nitratbildung um 0,295 %\*d<sup>-1</sup>. Im letzten Viertel der Phase wurde die HRT von 6,667 d auf 4,48 d gesenkt.

In Phase MS2 wurde die HRT nochmals auf 2,40 d verkürzt und somit die Zulauffracht erhöht, was zu einem Anstieg der Ablaufkonzentrationen führte (in Tabelle nicht dargestellt). Der N-Gesamt-Abbau stieg auf 33,0 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> mit einer fallenden Tendenz von -0,466 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Die Nitratbildung sank (20,8 %) im Verhältnis zur ersten Phase, aber mit steigender Tendenz (+0,187 %\*d<sup>-1</sup>).

In Phase MS3 wurden 40 mg TOC in Form von Natriumacetat hinzugefügt, um vorbehandeltes Abwasser zu simulieren. Der N-Gesamt-Abbau lag bei 17,9 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und sank um 0,172 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Auch die Nitratbildung lag recht hoch bei 26,7 %. Es muss erwähnt werden, dass am Ende der Phase 38 % Nitrat gebildet wurden. Pro Tag stieg der Anteil des gebildeten Nitrats um 0,322 %.

Am Anfang der Phase MS4 wurde der etablierte Biofilm aufgrund der starken Nitratbildung gegen Ende von MS2 von der Belüftungsmembran entfernt. Dies führte zu einer Verbesserung des N-Gesamt-Abbaus auf 30,5 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Diese nahm aber um 0,245 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> ab. Auch die Nitratbildung lag mit 17,0 % wieder deutlich niedriger, aber sie stieg ebenfalls leicht um 0,126 %\*d<sup>-1</sup>.

Zu Beginn von MS5 wurde nochmals der Biofilm entfernt. Dies führte zu einer besseren N-Gesamt-Abbauleistung von  $32,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Diese nahm verhältnismäßig stark, mit  $-0,434 \% \cdot \text{d}^{-1}$  ab. Die Nitratbildung war ebenfalls mit  $14,1\%$  niedrig. Auch diese stieg mit  $+0,271 \% \cdot \text{d}^{-1}$  recht stark an.

Während MS6 wurde die TOC-Konzentration im Zulauf auf  $100 \text{ mg TOC} \cdot \text{L}^{-1}$  erhöht. Dies führte zu einer Verringerung der Umsatzleistung auf  $18,8 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , dafür nur mit minimaler Abnahme von  $0,020 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Aufgrund des ausreichend vorhandenen Kohlenstoffs wurde fast kein Nitrat gebildet ( $0,7 \%$ ). Auch hier war die Tendenz minimal sinkend mit  $0,06 \% \cdot \text{d}^{-1}$ . Es muss noch erwähnt werden, dass es in dieser Phase zu ersten Anzeichen von Fäulnis im Reaktor kam.

In MS7 wurde weiterhin der Biofilm belassen, aber auf den organischen Kohlenstoff verzichtet. Es war zu prüfen, ob Anammox die Zeit der erhöhten Kohlenstoffkonzentration und Konkurrenz zu Denitrifikanten überlebt hat. Der N-Gesamt-Abbau stieg leicht auf  $23,1 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  und stieg leicht um  $0,0046 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  an.  $19,0 \%$  des abgebauten Ammoniums wurden zu Nitrat umgesetzt und es stieg täglich um  $0,025 \%$  an. Anammox wurde also nicht oder nicht nachhaltig durch hohe TOC-Konzentrationen gehemmt.

In Phase M8 wurde die Salzkonzentration auf  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  erhöht. Dies hatte kaum Einfluss auf die N-Gesamt-Abbaurrate. Sie lag bei  $21,9 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  und sank leicht um  $0,066 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Auch die Nitratbildung änderte sich nur geringfügig und sank auf  $17,8 \%$  mit einer steigenden Tendenz von  $0,108 \% \cdot \text{d}^{-1}$ .

In MS9 wurde die Salzkonzentration von  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  beibehalten. Es wurde allerdings die Zulaufkonzentration des Ammoniums auf  $70,9 \pm 5,7 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$  gesenkt, was zu durchschnittlichen Ammoniumablaufkonzentrationen von  $11,8 \pm 3,8 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$  führte. Der Mittelwert der Zulaufkonzentration aller vorherigen Phasen lag bei  $185,0 \text{ mg NH}_4\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$ . Mit der Absenkung sollte überprüft werden, ob der Prozess auch bei niedrigen Zulaufkonzentrationen stabil bleibt. Die N-Gesamt-Abbaurrate sank im Vergleich zu MS8 nur leicht auf  $21,1 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  und sank täglich um  $0,119 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Die Nitratbildungsrate sank ebenfalls auf  $15,7 \%$  des abgebauten Ammoniums. Somit lag sie um  $2,1 \%$  niedriger als in der vorherigen Phase. Allerdings war der Anstieg pro Tag mit  $0,173 \%$  deutlich höher als in MS8.

Tabelle 36 Abbauverhalten des membranbelüfteten Festbettreaktors mit erhöhten Salzkonzentrationen

Phasen-Nr.	Phaseinstellung	HRT [d]	Zulaufkonz. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	Zeitlicher Änderung N-Ges- Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	NH <sub>4</sub> -N - Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung bezogen auf NH <sub>4</sub> -N Abbau [%]	Zeitliche Änderung NO <sub>3</sub> -N- Bildung [%*d <sup>-1</sup> ]	NO <sub>3</sub> -N-Bildung [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	Biofilmlalter [d]
MS1	15 g NaCl 6,67 bis 4,5	6,67 ±0,81 & 4,48 ±0,18	32,4 ±7,6	19,7 ±5,9	0,344	24,9 ±6,6	23,1 ±5,2	-0,295	5,97 ±1,42	0-32 & 0-16
MS2	15 g NaCl 2,37	HRT 2,40 ±0,10	73,7 ±15,5	33,0 ±10,6	-0,466	41,8 ±9,6	20,8 ±5,0	0,187	8,05 ±2,26	16- 84
MS3	HRT 2,37 40 mg TOC	2,40 ±0,14	74,6 ±11,0	17,91 ±5,4	-0,172	23,7 ±5,8	26,7 ±9,0	0,322	6,05 ±2,15	84- 155
MS4	HRT 2,37 40 mg TOC Bio- film entfernt	2,32 ±0,11	81,1 ±4,0	30,5 ±7,7	-0,245	36,4 ±7,7	17,0 ±4,1	0,126	6,22 ±0,94	0- 104
MS5	HRT 2,37 40 mg TOC Bio- film entfernt	2,32 ±0,07	81,2 ±3,77	32,0 ±5,7	-0,434	36,6 ±5,4	14,1 ±4,2	0,271	5,02 ±0,97	0-52
MS6	15 g NaCl 100 mg TOC	2,33 ±0,10	80,3 ±4,1	18,8 ±4,2	-0,020	19,4 ±4,9	0,7 ±0,5	-0,006	0,13 ±0,08	52- 108
MS7	15 g NaCl ohne TOC	2,37 ±0,06	77,8 ±4,7	23,3 ±2,3	0,013	28,2 ±3,2	19,0 ±1,3	0,026	5,36 ±1,03	108- 157
MS8	30 g NaCl ohne TOC	2,34 ±0,05	80,3 ±2,0	21,9 ±2,0	-0,066	27,1 ±2,1	17,8 ±1,5	0,108	4,80 ±0,21	157- 188
MS9	30 g NaCl ohne TOC Zulaufkonz 54 mg NH <sub>4</sub> -N	2,35 ±0,05	30,1 ±2,7	21,1 ±1,9	-0,119	25,1 ±1,6	15,7 ±2,9	0,173	3,97 ±0,62	191- 234

### 3.6.1 Einfluss des Biofilmtalters auf den N-Gesamt-Abbau im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor

Es bestand auch hier ein Zusammenhang zwischen dem Biofilmtalter und dem Abbauvermögen (siehe Abbildung 39). MS1 passte als einzige Phase nicht in das Gesamtbild. Der Grund hierfür lag im Anfahren des Reaktors. Dieser hatte noch nicht die volle Leistungsfähigkeit erreicht. Die Abbauleistung nahm allgemein innerhalb der ersten 30 Tage recht stark ab. Und sank weiter etwa bis 60 Tage ab und blieb danach recht konstant. MS3 (erstmalig mit 40 mg TOC) und MS6 (100 mg TOC) lagen jeweils unterhalb des Durchschnitts. MS7 bis MS9 lagen alle auf einem Niveau. Dies war unabhängig von der Salzkonzentration (MS7 15 g; MS8 30 g) und der Zulaufkonzentration (MS9). Der Zusammenhang konnte mit der folgenden logarithmischen Gleichung beschrieben werden. Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  beträgt 0,5528.

$$y = -7,824 \ln(x) + 59,175$$

Formel 22

Hier beschreibt „y“ den N-Gesamt-Abbau [ $\text{mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ] und das Biofilmtalter [d] wird durch „x“ dargestellt.

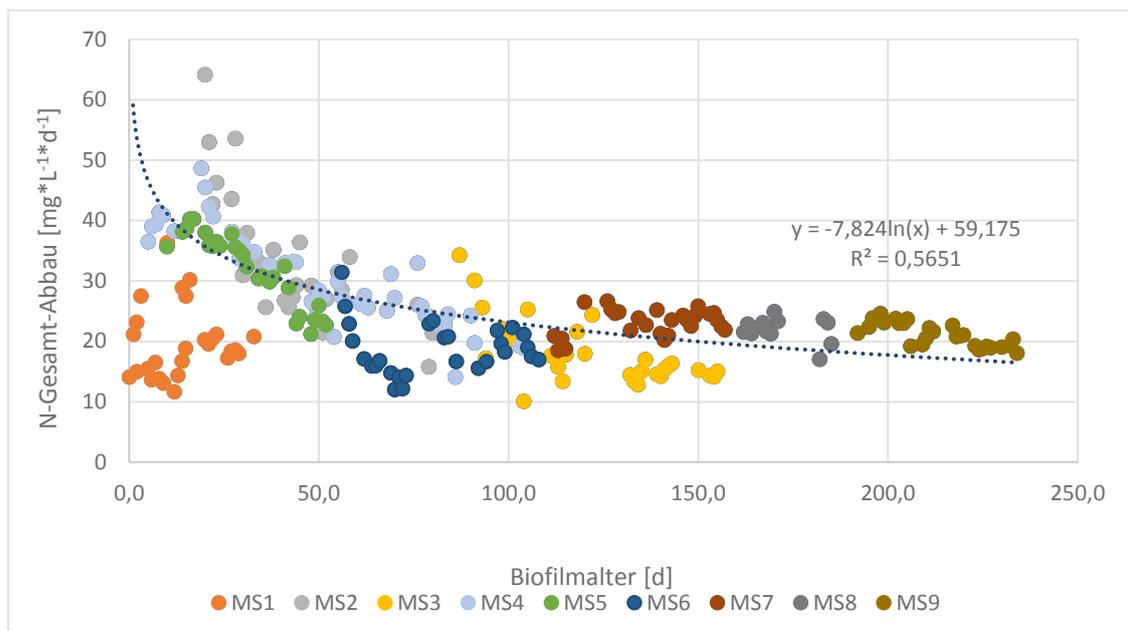


Abbildung 39 Zusammenhang zwischen Biofilmlalter und N-Gesamt-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. Die dargestellte Gleichung berücksichtigt nicht MS1.

Ein Vergleich der aufeinanderfolgenden 30-Tages-Mittelwerte des N-Gesamt-Abbaus zeigt deutlich, dass nach 60 Tagen die Abbauwerte praktisch konstant blieben (19,5 – 22,0 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>). In den ersten 30 Tagen konnten 37,6 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abgebaut werden (siehe Abbildung 40). Die recht hohe Standardabweichung war Folge der merklichen Abnahme des Abbaus innerhalb der ersten 30 Tage. Im Vergleich zum Niedrigtemperaturreaktor (Abbildung 32) fand schon innerhalb der ersten 30 Tage eine starke Abnahme der Leistungsfähigkeit statt und nicht erst nach 90 Tagen.

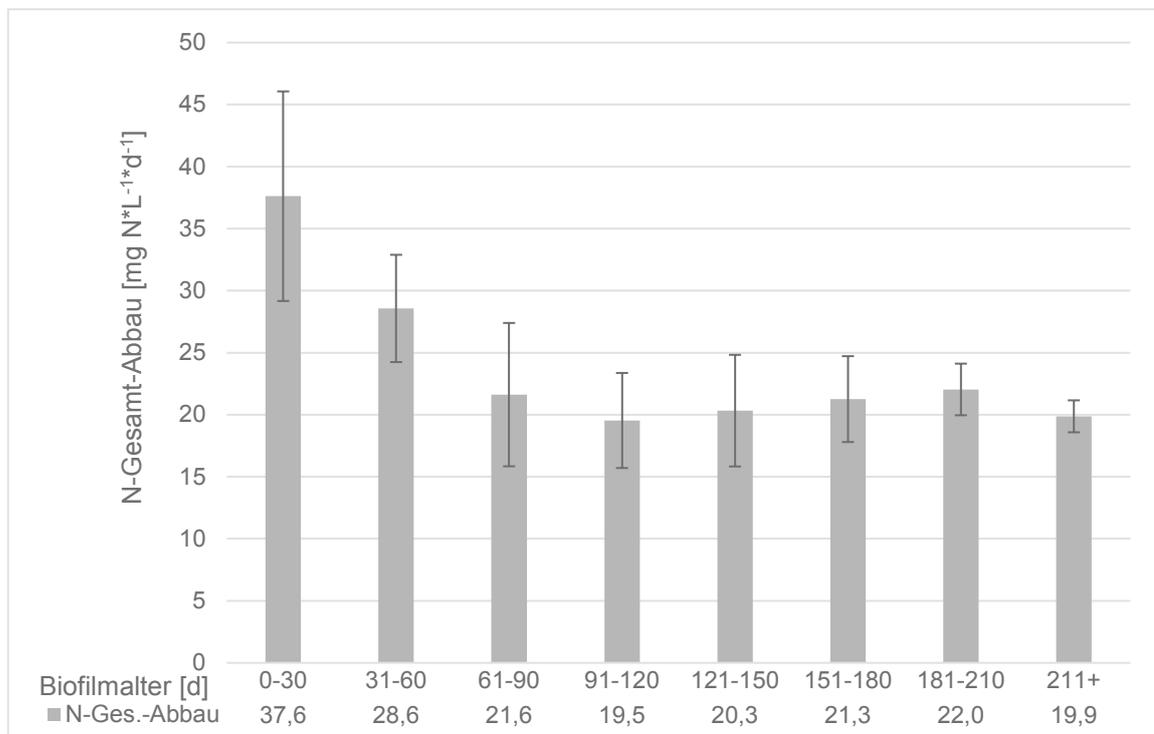


Abbildung 40 Mittelwerte des N-Gesamt-Abbaus der 30-Tages-Intervalle des Biofilmlalters im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. MS1 wurde nicht berücksichtigt.

### 3.6.2 Einfluss des Biofilmlalters und der TOC-Konzentrationen auf die Nitratbildung im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor

Der Zusammenhang zwischen dem Biofilmlalter und der NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den NH<sub>4</sub>-N-Abbau war nicht erkennbar (siehe Abbildung 41). Bei 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup> (MS6)

wurde das gesamte Nitrat abgebaut. Allerdings gab es eine Korrelation für dieses Verhältnis in den Phasen mit 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> (MS3-MS5, roter Rand). TOC schien also einen negativen Einfluss auf die Nitratbildung gehabt zu haben, was zu erwarten war. Im Idealfall könnten damit sogar höhere N-Gesamt-Abbauleistungen realisiert werden. Hier ergab sich folgende Gleichung. Das Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup> liegt bei 0,7077.

$$y = 0,151x + 9,1909$$

Formel 23

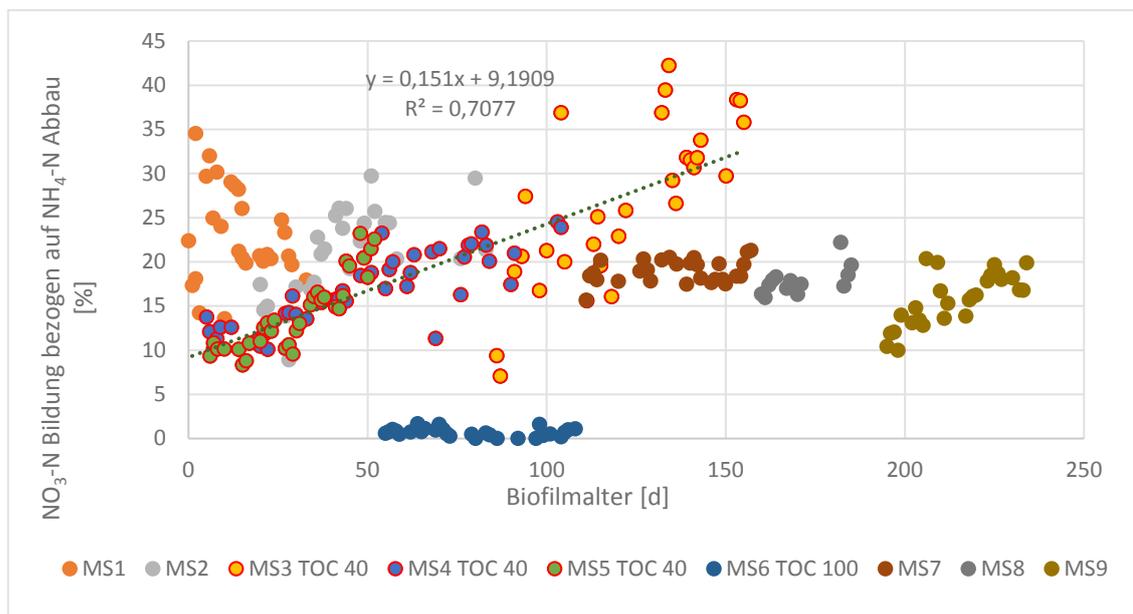


Abbildung 41 Abhängigkeit der Nitratbildung vom Biofilmalter im hochsalinen Reaktor

Die Darstellung der NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den NH<sub>4</sub>-N Abbau in 30-Tages-Intervallen ergab nicht zu erwartende Ergebnisse (Abbildung 42). Die Bildung sank zwischen 61 und 120 Tagen ab, um danach wieder anzusteigen (dunkelgraue Balken). Grund hierfür waren die Phasen in denen TOC hinzugegeben wurde (MS3-MS6). Daher stammen auch die großen Standardabweichungen. Ausreichend TOC stimulierte die Denitrifikation und senkte somit die Nitratkonzentrationen. Bei Außerachtlassung dieser Phasen (hellgraue Balken) kam es zu geringen Schwankungen. Die beiden Intervalle zwischen 31 und 90 Tagen beinhalteten allerdings nur wenige verfügbare Datenpunkte. Die restlichen Intervalle lagen in einem Bereich zwischen 15,3 % und 19,0 %. Es war, im Gegensatz zum Niedrigtemperaturreaktor, kein Anstieg der Nitratbildung mit zunehmenden Biofilmalter erkennbar. Der helle Balken umfasste nur die Phasen MS3 bis MS5, welche

40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> enthalten haben. Dort war der schon vorher beschriebene Anstieg der Nitratbildung mit der Alterung des Biofilms deutlich erkennbar. In den ersten 90 Tagen lag der Anteil des gebildeten Nitrats unter dem der Phasen ohne jegliche TOC-Zugabe.

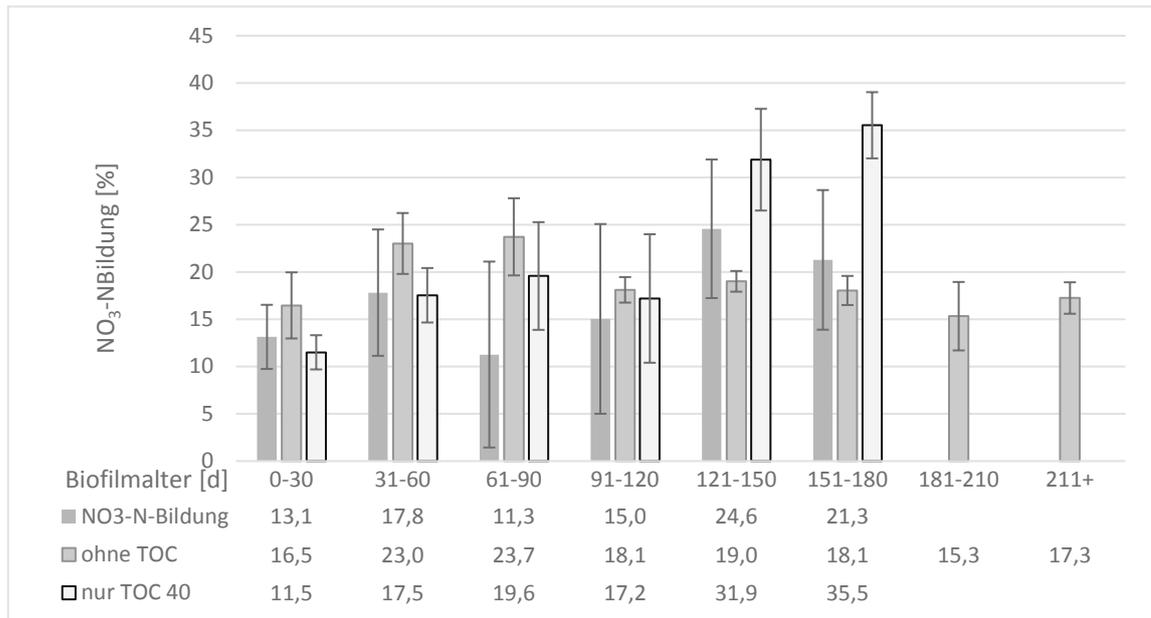


Abbildung 42 Mittelwerte der NO<sub>3</sub>-N-Bildung der 30-Tages-Intervalle des Biofilmalters im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen. MS1 wurde nicht berücksichtigt. Dunkelgrau: Balken alle Phasen. Hellgrau: Balken ohne Phasen MS3-MS6, weiße Balken: MS3-MS6 (40 g TOC)

Der TOC-Abbau ist in MS6 mit 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup> höher als bei den anderen Phasen (MS3-MS5) (Abbildung 43). Der N-Gesamt-Abbau ist vergleichbar mit dem aus MS3. Ein Vergleich zwischen den drei Phasen mit 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> lässt eine große Streubreite ohne jeglichen Trend erkennen. Das Biofilmalter schien hier maßgeblich für den N-Gesamt-Abbau zu sein (Vgl. Abbildung 39 und Abbildung 41).

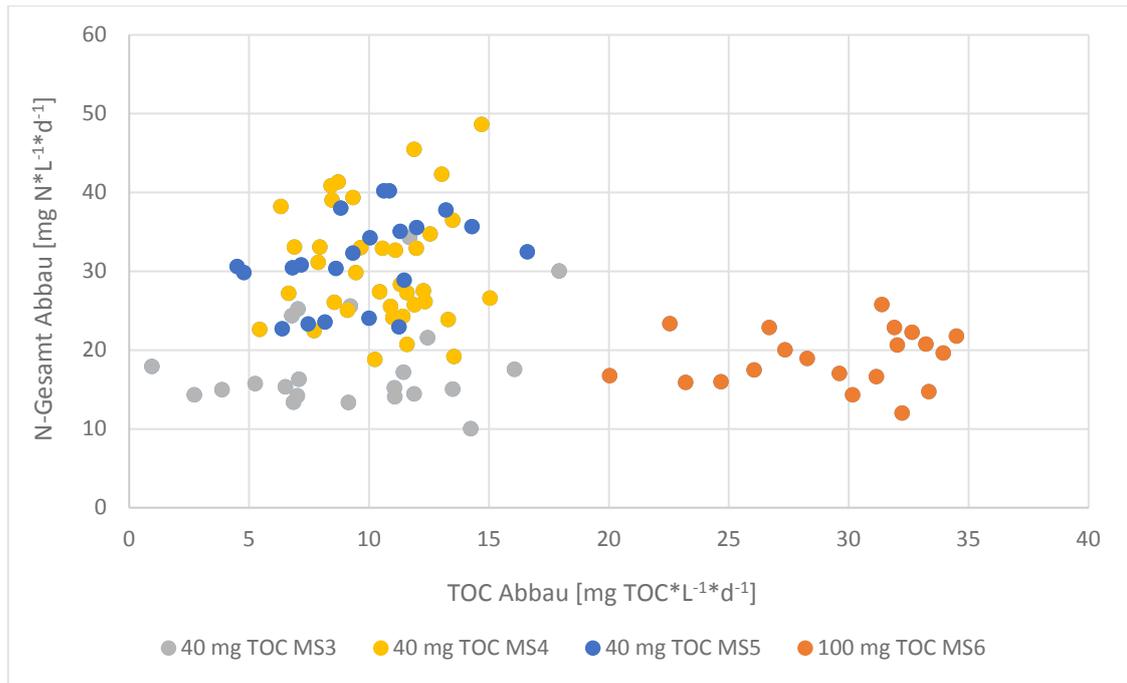


Abbildung 43 Zusammenhang zwischen N-Gesamt-Abbau und TOC-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen

Beim Verhältnis zwischen der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau und dem TOC-Abbau, war eine große Streubreite der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung bei den Phasen mit  $40 \text{ mg TOC}\cdot\text{L}^{-1}$  im Nährmedium zu erkennen (siehe Abbildung 44). Wenn  $100 \text{ mg TOC}\cdot\text{L}^{-1}$  dem Nährmedium zugegeben wurden, konnte das gesamte Nitrat reduziert werden. Auch hier gab es keinen Zusammenhang zwischen dem abgebauten TOC und der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung.

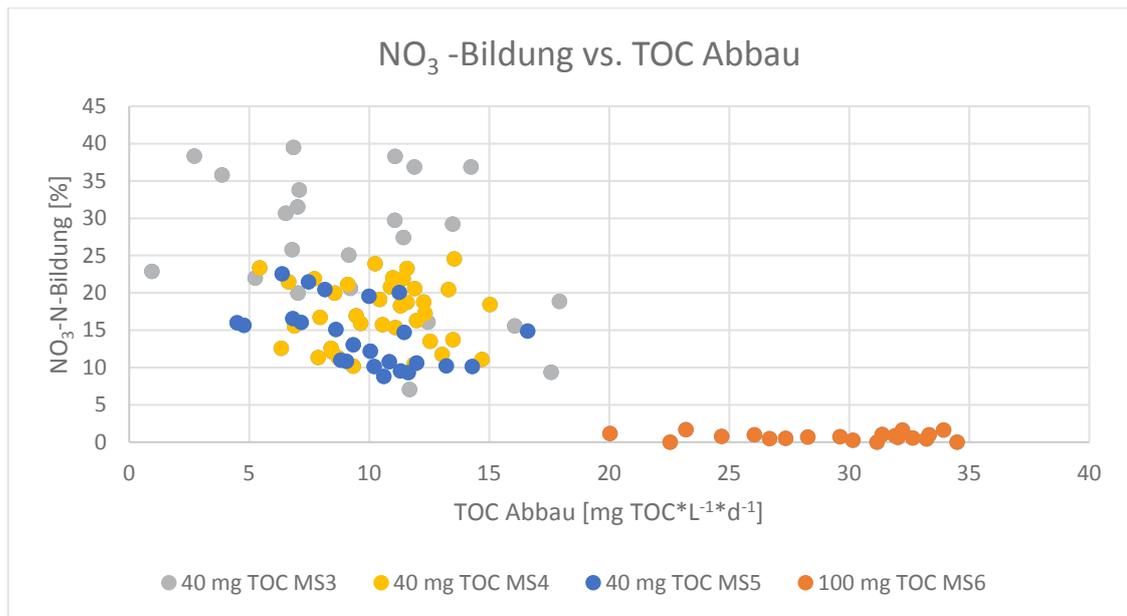


Abbildung 44 Zusammenhang zwischen NO<sub>3</sub>-N-Bildung bezogen auf den Ammonium-Abbau und TOC-Abbau im membranbelüfteten Festbettreaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen

Es wurde auch die theoretisch maximale heterogene Denitrifikationskapazität bestimmt, um abschätzen zu können, ob der Nitratabbau optimal funktionierte oder, ob TOC durch aerobe Atmung und/oder Wachstum verbraucht wurde (Giustinianovich et al., 2018; Val del Rio et al., 2018).

Die Konzentration des Nitrats im Ablauf des Reaktors schwankte nicht sehr stark zwischen Phasen mit 40 mg\*L<sup>-1</sup> TOC und Phasen ohne TOC. Die maximale theoretische Denitrifikationskapazität lag über den Ablaufkonzentrationen. Da die Ablaufkonzentrationen des Nitrats auch in den Phasen ohne TOC ähnlich hoch waren, kann geschlossen werden, dass der TOC nur zu geringen Teilen für die Denitrifikation genutzt wurde.

Tabelle 37 TOC-, Zulauf- und Ablaufkonzentrationen, Zulaufkonzentrationen NH<sub>4</sub>-N, maximale heterotrophe Denitrifikationskapazität, Ablaufkonzentrationen NO<sub>3</sub>-N und N-Gesamt-Abbau im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor

Phasen-Nr.	Phaseinstellung	TOC Zulaufkonz. [mg*L <sup>-1</sup> ]	TOC Ablaufkonz. [mg*L <sup>-1</sup> ]	Zulaufkonz. NH <sub>4</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> ]	Max. heter. Deni [mg N*L <sup>-1</sup> ]	Ablaufkonz. NO <sub>3</sub> -N [mg*L <sup>-1</sup> ]	N-Ges. Abbau [mg*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]
MS1	15 g NaCl HRT	-	-	189,9	-	-	19,7
	6,67 bis 4,5			±22,0			±5,9
MS2	15 g NaCl HRT	-	-	186,4	-	19,9	33,0
	2,37			±23,3		±3,82	±10,6
MS3	HRT 2,37 40 mg	44,6	21,2	179,8	22,6	14,8	17,9
	TOC	±9,69	±5,53	±10,9	±9,79	±4,38	±5,4
MS4	HRT 2,37 40 mg	38,9	15,3	186,1	22,0	14,3	30,5
	TOC Biofilm entfernt	±8,25	±4,74	±7,0	±5,57	±2,29	±7,7
MS5	HRT 2,37 40 mg	35,4	13,9	188,1	21,0	11,7	32,0
	TOC Biofilm entfernt	±7,64	±3,73	±6,0	±5,66	±2,26	±5,7
MS6	15 g NaCl 100 mg	92,1	24,6	186,5	63,0	0,41	18,8
	TOC	±9,78	±2,25	±4,74	±8,07	±0,63	±4,2
MS7	15 g NaCl ohne	13,2	7,9	186,6	5,1	13,4	23,1
	TOC	±1,31	±1,49	±4,2	±1,96	±2,73	±2,2
MS8	30 g NaCl ohne	-	-	188,0	-	11,9	21,9
	TOC			±4,3		±2,65	±2,0
MS9	30 g NaCl ohne	-	-	70,6	-	11,8	21,1
	TOC Zulaufkonz 54 mg NH <sub>4</sub> -N			±5,7		±3,84	±1,9

Die Korrelation zwischen den NO<sub>3</sub>-N-Ablaufkonzentrationen und der maximalen theoretischen Denitrifikationskapazität zeigte nur einen sehr schwachen Zusammenhang,

wenn MS6 nicht berücksichtigt wurde. Wenn alle Phasen berücksichtigt wurden, verbessert sich die Korrelation. Allerdings gab es auch hier bei MS6 immer noch eine große Streubreite (siehe Abbildung 45).

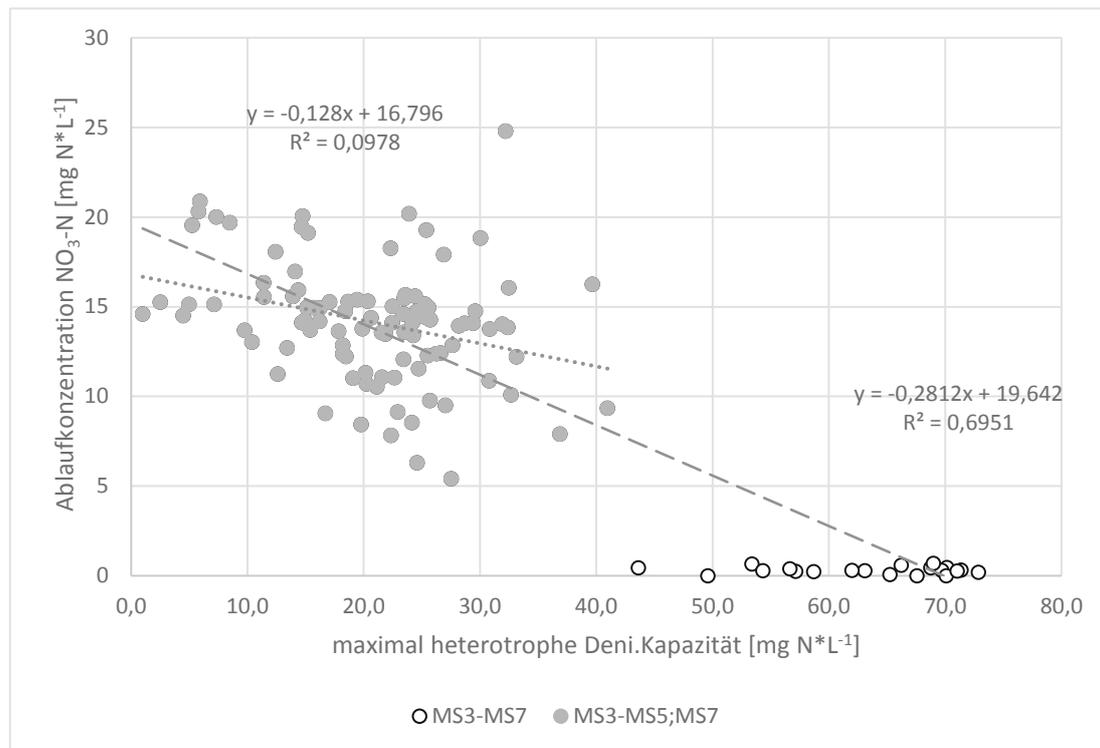


Abbildung 45 Zusammenhang zwischen  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Ablaufkonzentration und der theoretischen maximalen Denitrifikationskapazität im salinen membranbelüfteten PN/A-Reaktor

### 3.6.3 Molekularbiologische Ergebnisse des membranbelüfteten hochsalinen Festbettreaktors

Die Biofilmprouben wurden am Ende von Phase MS9 genommen. Bei den absoluten Zellzahlen zeichnete sich ein ähnliches Bild ab, wie im Niedrigtemperatur-Reaktor (Vgl. 3.5.7). Doch es gab auch Unterschiede. Der Anteil der Anammox-Bakterien (*hzsA*) überstieg auf den Trägern nicht die der AOB (*amoA*). Die Anzahl der *16S-rDNA* stieg auf den Trägern auch wesentlich stärker an als im Niedrigtemperaturreaktor (siehe Abbildung 46).

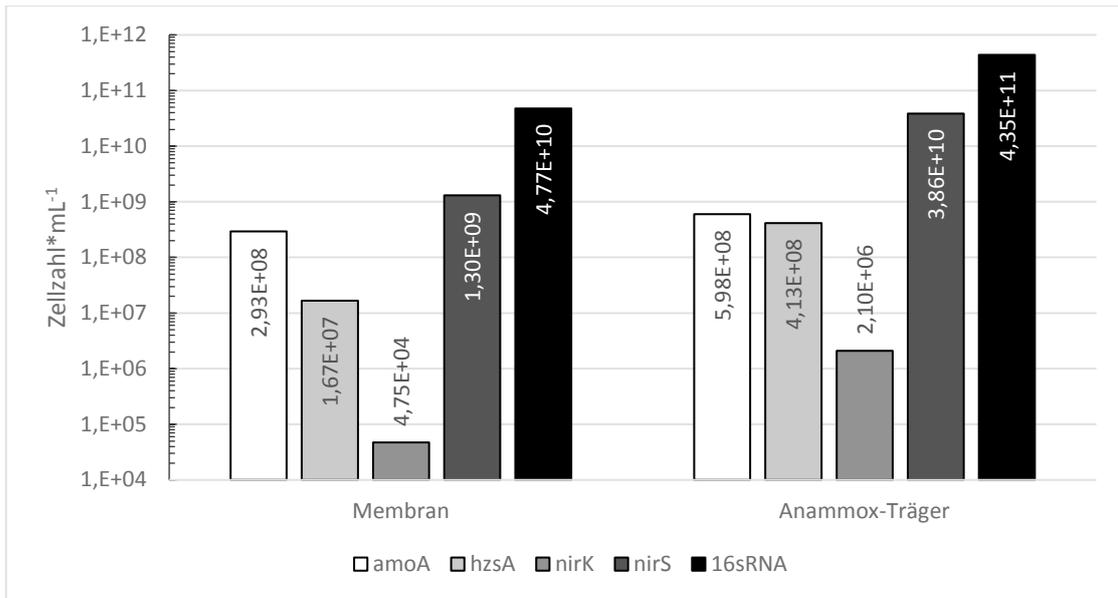


Abbildung 46 Zellzahlen der verschiedenen Gene auf der Membran und auf den Anammox-Trägern des hochsalinen membranbelüfteten Festbettreaktors ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf einen mL Biofilmmfrischmasse.

Der prozentuale Vergleich zwischen den drei Genen *nirS*, *amoA* und *hzsA* machte einen noch höheren Anteil des Gens *nirS* deutlich (siehe Abbildung 47). Dies kann auf die frühere Verwendung von TOC im Nährmedium zurückgeführt werden. Der Rückgang der AOB auf dem Träger war ähnlich dem im Niedrigtemperaturreaktor. Allerdings stieg der Anteil der Anammox-Bakterien (*hzsA*) nicht an und blieb auch unterhalb der AOB Zellzahlen (*amoA*).

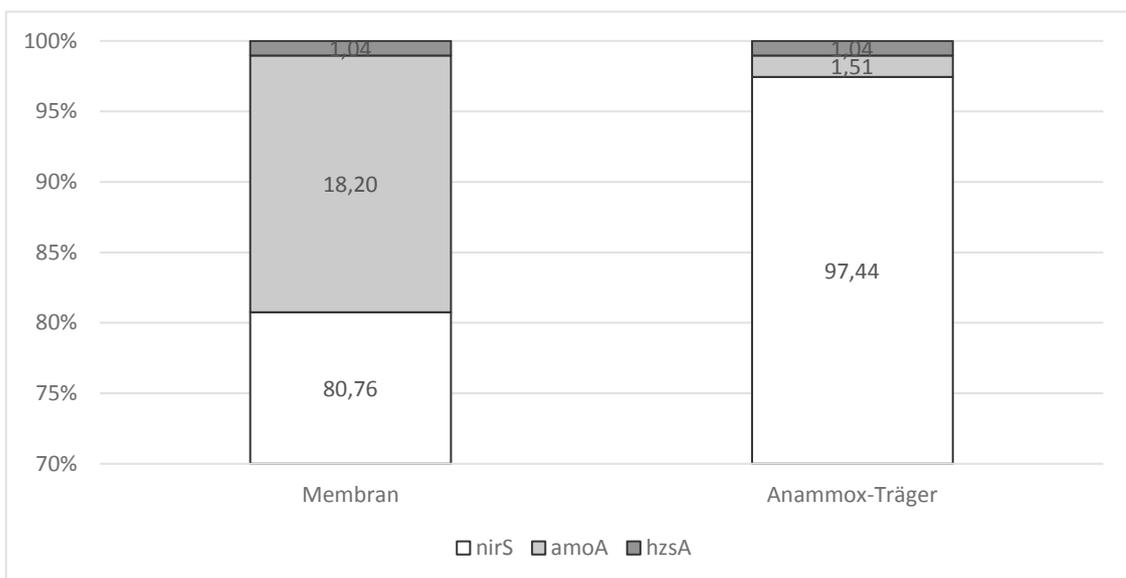


Abbildung 47 prozentuale Verteilung der Gene *nirS*, *amoA* und *hzsA* im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor auf der Belüftungsmembran und dem Anammox-Träger

Die zeitliche Entwicklung über einen Zeitraum von 142 Tagen auf den Anammox-Träger hat den Anteil der Anammox-Bakterien stark absinken lassen und den Anteil der AOB stark steigen lassen (siehe Abbildung 48). Die heterotrophen Bakterien hatten ebenfalls einen noch größeren Anteil eingenommen. Allerdings spiegelte sich die Verringerung des Anammox-Anteils nicht in der Abbauleistung des Reaktors wider.

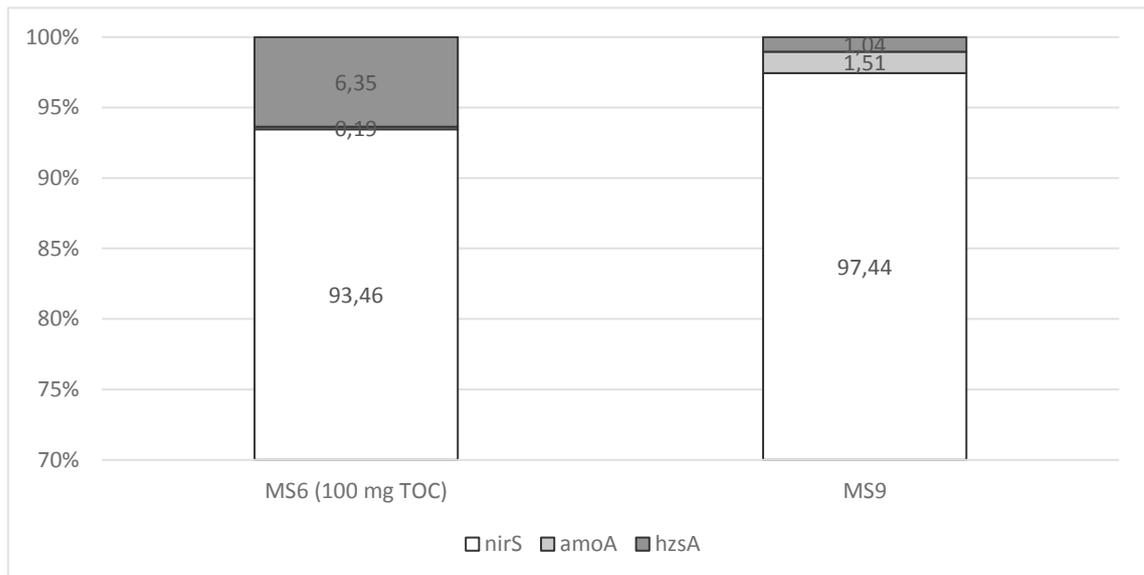


Abbildung 48 prozentuale Verteilung und zeitliche Änderung der Gene *nirS*, *amoA* und *hzsA* im hochsalinen membranbelüfteten Reaktor auf den Anammox-Trägern über einen Zeitraum von 142 Tagen.

Auf den Anammox-Trägern des hochsalinen Reaktors konnten 20 % der Biomasse „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ (Sonde KST157) zugeordnet werden (siehe Abbildung 49). „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“ (Sonde BAN162) machten etwa 5 % aus. Alle Sonden für AOB waren nicht positiv. NTSPA712 (NOB) konnte ebenfalls nicht an die Bakterien binden (die grünen Farbmarkierungen im Bild sind nicht an Biomasse gebunden). Im Gegensatz zur qPCR konnten keine AOB nachgewiesen werden. Der relativ große Anteil an nicht identifizierter Biomasse, kann vermutlich auf den Einsatz von TOC und damit verstärktem Wuchs von heterotrophen Bakterien zurückgeführt werden.

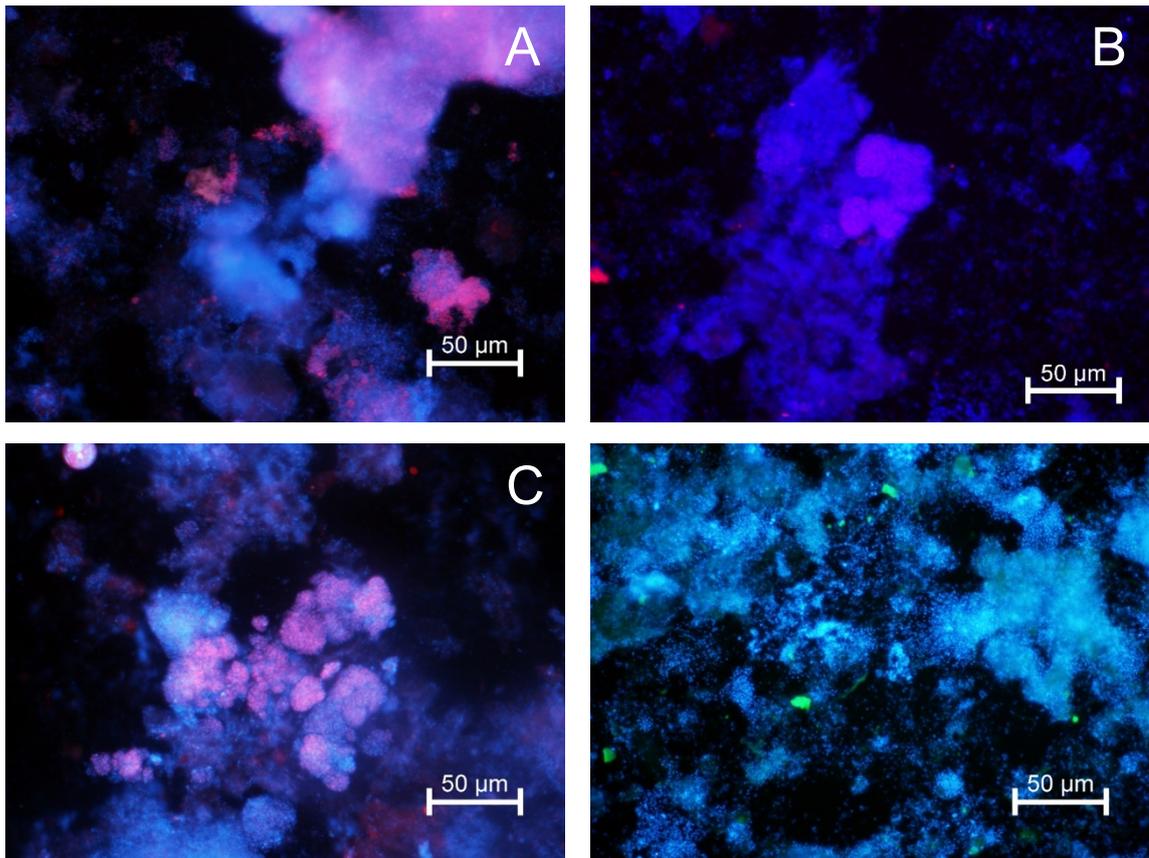


Abbildung 49 zusammengesetzte FISH-Bilder des Anammox-Trägers im hochsalinen Reaktor; A: DAPI (blau) / EUB338I (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NTSPA712 (grün)

Anammox-Bakterien waren auf der Membran nur gering vertreten (Abbildung 50). So stellt „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ (Sonde KST157) nur etwa 1 %. „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“ (Sonde BAN162) erreichte mit 2 % ebenfalls einen sehr geringen Anteil. NSM156 (AOB, Gattung *Nitrosomonas*) reagierte auf rund 40 % der Bakterien spezifisch. NIT3 konnte an 5 % binden. Somit ist der Anteil der *Nitrobacter* (NIT3) deutlich höher als im Niedrigtemperatur-Reaktor. *Nitrospira* (NSTPA712) waren nicht positiv. Somit wird, neben der Diskrepanz der prozentualen Anteile, das Ergebnis der qPCR qualitativ bestätigt, was eine hohe Anzahl an AOB und NOB und sehr wenige Anammox-Bakterien bedeutet.

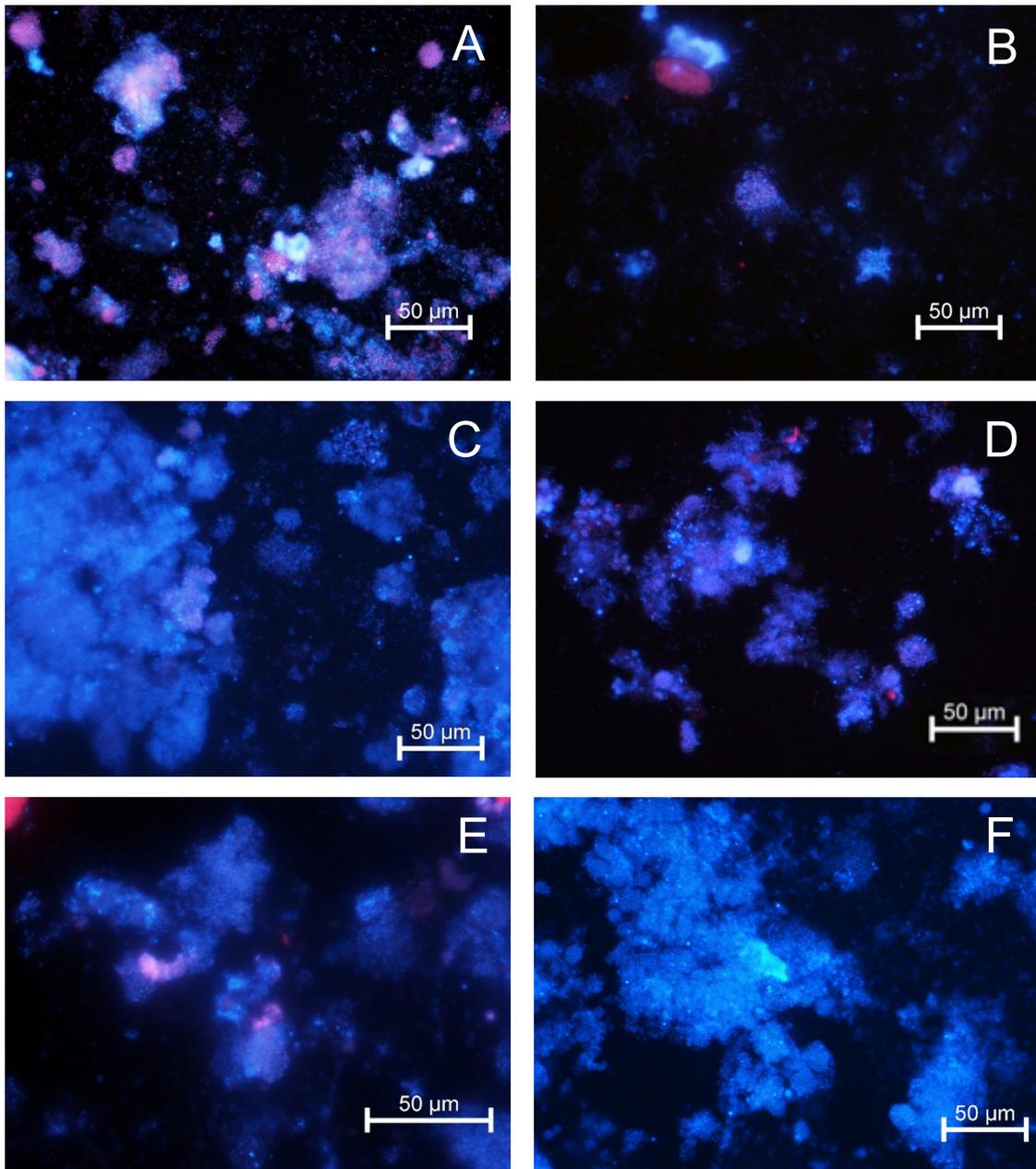


Abbildung 50 zusammengesetzte FISH-Bilder der Biomasse der Belüftungsmembran im hochsalinen Reaktor; A: DAPI (blau) / EUB (pink), B: DAPI (blau) / BAN162 (pink), C: DAPI (blau) / KST157 (pink), D: DAPI (blau) / NSM156 (pink), E: DAPI (blau) / NIT3 (pink), F: DAPI (blau) / NSTPA712 (grün)

### 3.7 Vergleich der Abbauleistung der PN/A bei erhöhten Salzkonzentrationen und bei niedrigen Betriebstemperaturen.

Da die Reaktor-Volumina sehr unterschiedlich waren (1,0 L und 3,2 L), war ein volumenbezogener Vergleich wenig sinnvoll. Ein Vergleich war zum einen möglich da beide Reaktoren die gleiche Membranlänge verwenden. Zudem fand der Stickstoffabbau über den Weg der Anammox-Reaktion statt. Da bei beiden Reaktoren die gleichen Träger eingesetzt wurden, kann ein Stickstoffabbau pro Anammox-Träger angegeben werden.

Es sollen noch einmal kurz die unterschiedlichen Parameter der Reaktoren dargestellt werden, welche die PN/A förderten bzw. hemmten. Der membranbelüftete Salzreaktor wurde bei 30 °C betrieben, was die Aktivität stark steigern sollte. Allerdings wurde auch Salz als potentieller Hemmstoff verwendet. Auch der TOC hatte sich nicht positiv auf den N-Gesamt-Abbau ausgewirkt. Des Weiteren wurde aus technischen Gründen permanent belüftet. Dauerbelüftung führte, zumindest im Niedrigtemperaturbereich zu verringerten N-Gesamtabbauleistungen.

Der membranbelüftete Niedrigtemperatur-Festbettreaktor nutzte eine Intervallbelüftung sowie höhere Ammoniumkonzentrationen und wurde nicht durch Salz gehemmt. Allerdings war die Temperatur hier der hemmende Faktor. Theoretisch wurde auch weniger Sauerstoff durch die Intervallbelüftung zur Verfügung gestellt. Aus Tabelle 38 ist ersichtlich, dass generell der Abbau im hochsalinen Reaktor höher war. Dies bedeutet, dass die negativen Einflüsse des Salzes, des TOC und der Dauerbelüftung nicht den positiven Einfluss der Temperatur, bei 30 °C gegenüber 18 °C und niedriger, aufwiegen. Es lässt sich also die Erkenntnis ableiten, dass der Temperaturunterschied den größten Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Systems hat.

Tabelle 38 Vergleich des N-Gesamt-Abbau pro mit Anammox-Biomasse bewachsener Trägerwürfel der einzelnen Phasen zwischen den membranbelüfteten Festbettreaktor bei erhöhten Salzkonzentrationen (MS) und dem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (M)

N-Gesamt-Abbau [mg N*Trägerwürfel*d <sup>-1</sup> ]								
MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6	MS7	MS8	MS9

3,15	5,29	2,87	4,88	5,11	3,00	3,69	3,51	3,38
0,94	1,70	0,86	1,23	0,91	0,67	0,35	0,32	0,31
M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17
2,59	2,31	3,09	2,46	3,25	1,86	1,66	1,74	1,21
0,34	0,34	0,27	0,27	0,17	0,26	0,22	0,18	0,21
M18	M19	M20	M21	M22	M23	M24		
0,96	2,04	2,29	2,21	2,04	1,89	1,72		
0,81	0,38	0,17	0,23	0,09	0,13	0,16		

Es wurden noch einmal die Daten als Box-Plots aufgetragen. Der Unterschied zwischen dem Salzreaktor und dem Niedrigtemperaturreaktor war deutlich (siehe Abbildung 51). Es wurden alle Daten der beiden Reaktoren verwendet. Im Mittelwert konnte der Salzreaktor bei 30 °C 3,98 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abbauen. Wohingegen im Niedrigtemperaturreaktor mit nur 1,86 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> etwa die Hälfte abgebaut wurde. Die weiteren Box-Plots geben noch einmal die Verteilung bei den verschiedenen Temperaturen um Niedrigtemperaturreaktor wieder. Für 18 °C wurden die Ergebnisse der Phasen M9 bis M13 verwendet. Bei 12 °C waren es M19 und M20, für 10 °C M21, für 9 °C M22 und für 8 °C M23 und M24. Bei 18 °C werden noch 2,51 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abgebaut. Bei 12 °C waren es 2,15 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Bei 10 °C waren es 2,21 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>, bei 9 °C 2,04 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und bei 8 °C 1,81 mg N\*Trägerwürfel<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>.

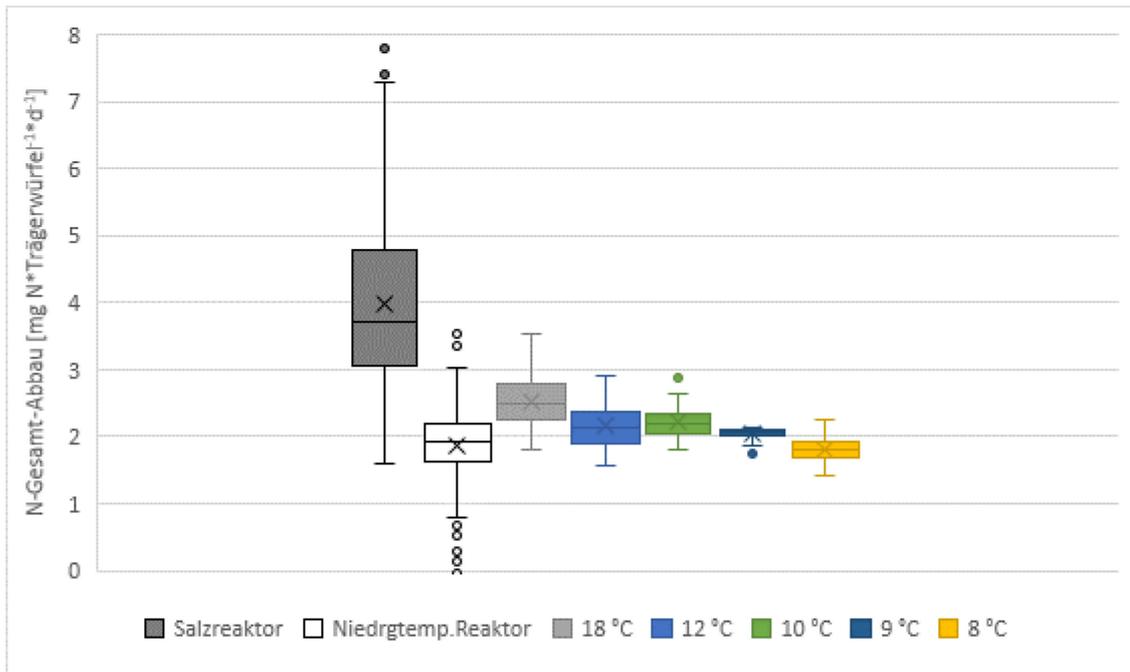


Abbildung 51 Vergleich der trägerbezogenen Abbauleistung zwischen dem Salzreaktor und dem Niedrigtemperaturreaktor, sowie Aufschlüsselung nach Temperatur. Für 12 °C wurden nur M19 und M20 verwendet. Die Kreuze markieren den Mittelwert. Die Punkte zeigen Ausreißer an.

Die Abhängigkeit des N-Gesamt-Abbaus von der Temperatur wurde auch nochmals mit den Mittelwerten dargestellt (siehe Abbildung 52). Über den gesamten Temperaturbereich ergab sich eine polynomische Gleichung bei der das Bestimmtheitsmaß  $R^2 = 0,9811$  beträgt.

$$y = 0,0025x^2 - 0,035x + 1,8336$$

Formel 24

Über den unteren Temperaturbereich von 8 °C bis 10 °C ergab sich eine lineare Funktion mit einem Bestimmtheitsmaß  $R^2$  von 0,9932.

$$y = 0,1984x + 0,2355$$

Formel 25

Das „y“ steht für den trägerbezogene N-Gesamt-Abbau [ $\text{mg N} \cdot \text{Trägerwürfel}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ]. Das „x“ ist die Temperatur [ $^{\circ}\text{C}$ ].

Es bleibt zu beachten, dass hier verschiedene Reaktoren und Reaktoreinstellungen zusammengefasst wurden. Das heißt, die Ergebnisse umfassen nicht nur Temperaturänderungen, sondern auch alle anderen vorher beschriebenen Unterschiede. Ein direkter Vergleich ist somit mit Fehlern behaftet. Deshalb können diese Ergebnisse nur als Richtwert, denn als exaktes Ergebnis angesehen werden.

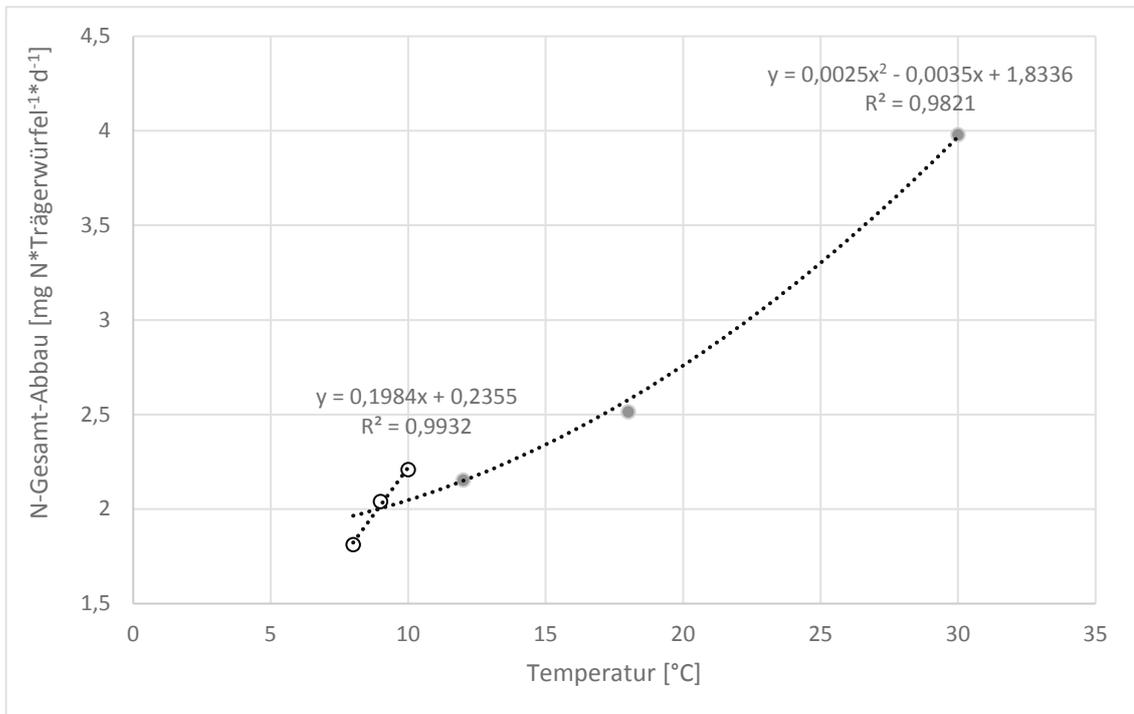


Abbildung 52 Darstellung der Abhängigkeit des N-Gesamt-Abbaus von der Temperatur im Temperaturbereich von 8 °C bis 30 °C sowie im Bereich von 8 °C bis 10 °C. Es wurden Werte verschiedener Reaktoren zusammengefasst.

Die äußere (glatte) Würfelfläche eines Würfels entspricht 0,0024 m<sup>2</sup>. Demzufolge waren im Reaktor bei 20 Trägerwürfeln 0,048 m<sup>2</sup> äußere Würfelfläche installiert. Die Membranfläche der Belüftungsmembran lag bei 0,188 m<sup>2</sup>. Daraus ergab sich ein Verhältnis von Membranfläche zu äußerer Würfelfläche von 0,392. Es könnten also bspw. bei dem genannten Verhältnis in Phase M24 pro Quadratmeter äußerer Würfelfläche 716,7 mg N\*d<sup>-1</sup> abgebaut werden.

### 3.8 Vergleich der Bewuchseigenschaften der Trägermaterialien

Eine Fragestellung bei der Betrachtung der Reaktorstabilität war auch die Eignung verschiedener Trägermaterialien für die Ausbildung stabiler Anammox-Biofilme. Insgesamt wurden vier verschiedene Trägertypen getestet. Es wurden die Polyethylen-Träger K1 und K3 der Firma Kaldnes, sowie aktivkohleschichtete Polyurethan-Schaumstoffträger der Firma Levapor GmbH und ein offenporiger Polyurethanträger der Firma ISP GmbH & Co. KG (Limburg, Deutschland) verwendet. Die biomassefreien Schaumstoffträger sind in Abbildung 53 vergleichend dargestellt. Abbildung 54 zeigt einen biomassefreien Würfel der in den membranbelüfteten offenporigen PU-Schaumstoffwürfeln. Beim bewachsenen PU-Schaumstoffwürfel (siehe Abbildung 55) sind im vorderen Bereich Flocken zu erkennen, die sich anfangs im Material verfangen haben und später weiter in das Material hineingewachsen sind. Im oberen Bereich ist eine bräunliche Färbung auf der Schaumstruktur erkennbar, was auf einen Bewuchs hindeutet. Im Vergleich zu den offenporigen PU-Trägern ist die Biomasse auf dem Levapor-Träger nur an der Oberfläche aufgewachsen (siehe Abbildung 56). Zudem verfangen sich keine Anammox-Flocken in diesem feinporigen Material. Somit erreichen die Träger erst nach einem Bewuchs ihre Leistungsfähigkeit, wohingegen die offenporigen Träger Biomasseflocken aufnehmen können und somit sofort leistungsfähig sind. Die Levapor-Träger wurden, geviertelt, bei den Untersuchungen zur Salzadaption in 20 mL Vials eingesetzt. Abbildung 57 zeigt den Aufbau des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Reaktors. Es sind Stickstoffblasen an den Trägern zu erkennen. Ebenfalls ist ein Bewuchs auf der Schlauchmembran erkennbar (braun-rötlicher Schimmer). Abbildung 58 zeigt einen Stab mit 5 Trägern aus dem Niedrigtemperatur-Reaktor. Es ist ein Wachstumsgradient auf den Trägern erkennbar. Links repräsentiert den oberen Teil des Reaktors und rechts den unteren. Gründe hierfür könnten die bessere Fließgeschwindigkeit aufgrund der höheren Nähe zum Magnetrührstäbchen sein. Das Nährmedium fließt auf Höhe des vierten Würfels von rechts in den Reaktor. Es könnte also davon ausgegangen werden, dass dort die Nährstoffversorgung etwas besser ist. Allerdings ist die Rührgeschwindigkeit, mit  $400 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ , recht hoch eingestellt. Die Nahaufnahme (siehe Abbildung 59) eines der Würfel an dem ein Stück des Trägermaterials entnommen wurde zeigt klar, dass auch in der Tiefe des Trägers noch Biomasse vorzufinden ist. Dieser Biofilm wurde für die FISH-, PCR- und qPCR-Analysen verwendet. Der in Abbildung 60 gezeigte Belüftungsmembran-Biofilm ist 87 Tage alt und wuchs bei  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  auf (M23, M24). Dieser Biofilm wurde für die FISH-, PCR- und qPCR-Analysen verwendet.

Die Biofilmdicke des Kaldnes K1 war vergleichsweise gering. Nach Etablierung des mit synthetischem Abwasser betriebenen Anammox-Reaktors mit Kaldnes K3-Trägern und gleichzeitiger Zugabe von biomassefreien Kaldnes K1-Trägern, wuchsen die Biofilme anfangs noch recht gut auf. Doch nach ein paar Monaten wuchsen Biofilme auf neu hinzugefügten Trägern wesentlich schlechter auf (siehe Abbildung 61). Abbildung 62 zeigt ein 20 mL Vial, welches bewachsene Kaldnes K1-Träger und abgelöste Biomasse

auf dem Boden beinhaltet in Nahaufnahme. Hier ist gut der innere geschützte Biofilm erkennbar, aber auch Träger welche wesentlich weniger stark bewachsen sind, als andere.

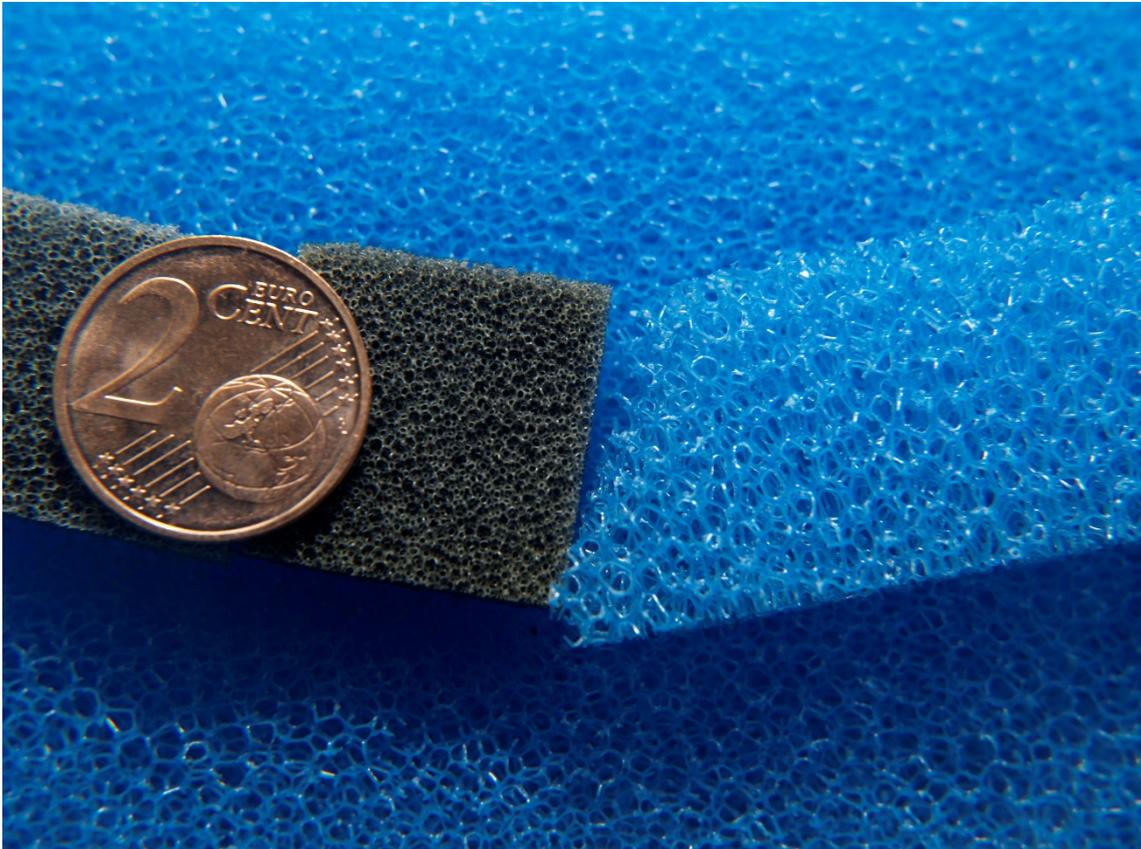


Abbildung 53 Vergleich der biomassefreien Levapor-Träger (schwarz), verwendet in den, mit synthetischem Abwasser, betriebenen Anammox-Reaktoren sowie bei den Untersuchungen zur Salzadaption, und des biomassefreien, offenporigen PU-Schaumstoffs, welcher als Trägermaterial für Anammox-Biomasse in den membranbelüfteten Reaktoren verwendet wurde.

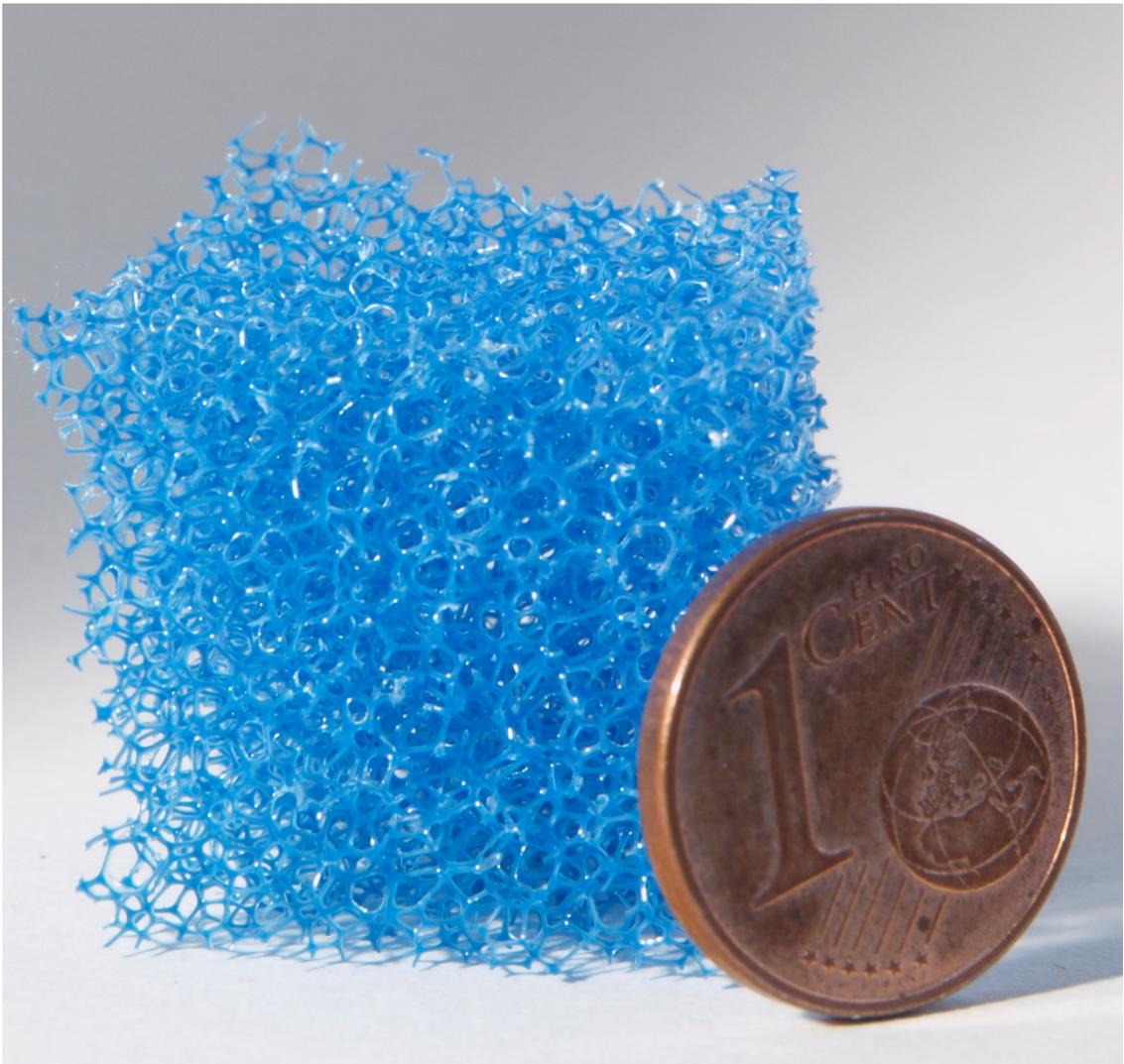


Abbildung 54 biomassefreier PU-Schaumstoffträgerwürfel mit 2 cm Kantenlänge.

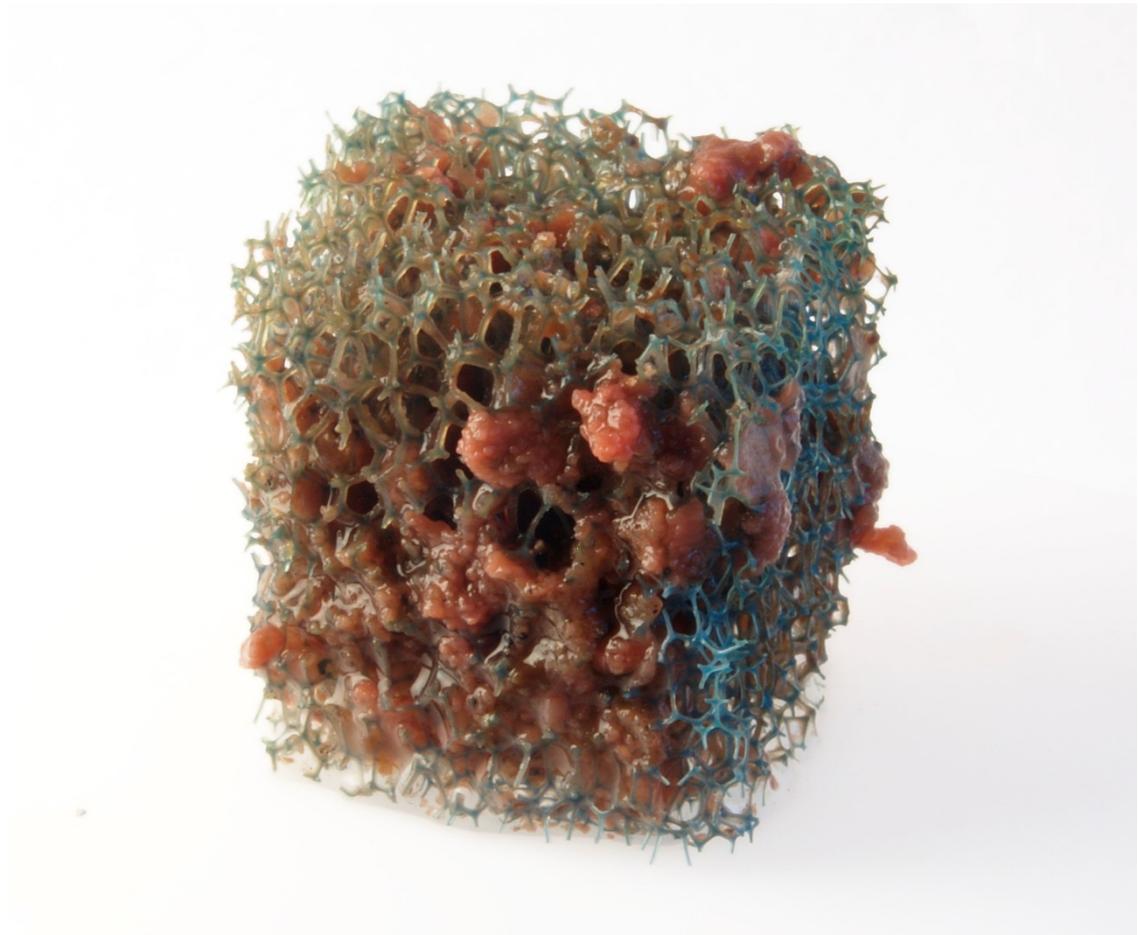


Abbildung 55 bewachsener PU-Schaumstoffträgerwürfel mit 2 cm Kantenlänge nach 2 Monaten aus einem Anammox-Reaktor, betrieben mit synthetischem Nährmedium.



Abbildung 56 bewachsener Levapor-Träger aus einem der Anammox-Reaktoren, betrieben mit synthetischem Nährmedium.



Abbildung 57 membranbelüfteter Niedrigtemperatur-Festbettreaktor.

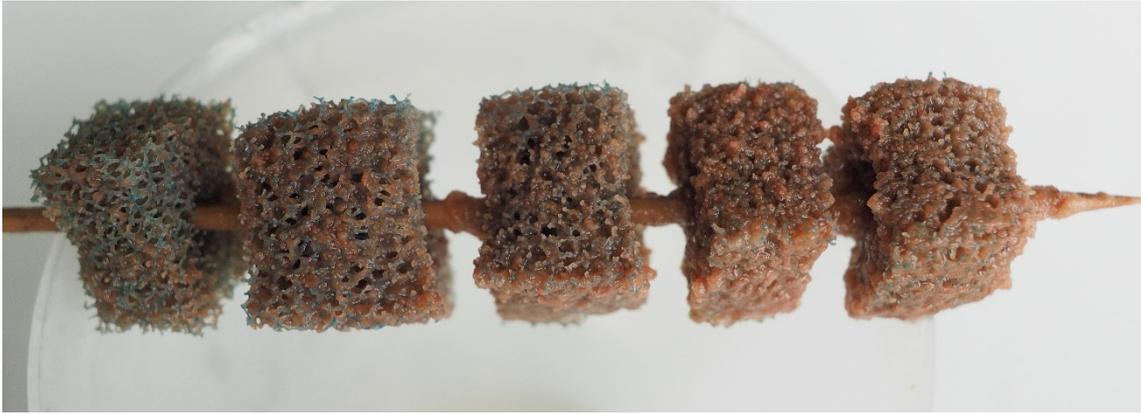


Abbildung 58 bewachsene Träger des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors am Ende der Phase M24.



Abbildung 59 Nahaufnahme des fünften Würfels von rechts des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors, nach der Entnahme eines Teils für molekularebiologische Untersuchungen.



Abbildung 60 Biofilm auf der Membran des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Festbettreaktors am Ende der Phase M24.



Abbildung 61 mit Anammox-Bakterien bewachsene Kaldnes K3-Träger (oben) Kaldnes K1 Träger(Mitte) aus einem, mit synthetischem Nährmedium betriebenen, Anammox-Reaktoren. Mit diesen wurden die Lagerungsversuche durchgeführt. Die Biochip-Träger (Multi Umwelttechnologie AG, Aue, Deutschland) (unten) wurden nur in geringen Stückzahlen probeweise in den Reaktor gegeben.



Abbildung 62 Ein Vial der Lagerungstests der, mit Anammox-Biomasse bewachsenen, Kaldnes K1-Träger.

### **3.8.1 Zusammenfassung Trägermaterialien**

Die gewonnenen Erkenntnisse lassen den offenporigen PU-Schaumstoff als beste Wahl erscheinen. Zum einen ermöglicht er ein sofortiges „festhalten“ großer Anammox-Flocken bei Kontakt und zum anderen wuchs die Biomasse tief in den Träger hinein, vermutlich aufgrund guter Nährstoffversorgung, ermöglicht durch die großen Poren. Die Le-vapor-Träger erhielten nur auf der äußersten Schicht einen Biofilm. Die Kaldnes K1-Träger zeigten vor allem nach längerem Betrieb weniger dicke Biofilme.

## **3.9 Salztoleranz von adaptiertem und nicht adaptiertem Anammoxbiofilm**

*Teile dieser Ergebnisse sind in der Masterarbeit von (Mozooni, 2017) beschrieben. Des Weiteren wurden die Ergebnisse unter dem Titel „Effect of increasing salinity to adapted and non-adapted Anammox biofilms“ im Journal Environmental Technology veröffentlicht (Engelbrecht et al., 2018).*

Die mikrobielle Zusammensetzung des adaptierten und nicht adaptierten Biofilms wurde mittels qPCR und FISH analysiert und verglichen. Die Ergebnisse der qPCR unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Abbildung 63). Bei der nicht adaptierten sowie bei der adaptierten Biomasse stellten die Denitrifizierer (*nirS*, *nirK*) die Mehrheit, gefolgt von Anammox-Bakterien (*hzsA*). Ammonium oxidierende Bakterien (*amoA*) waren verhältnismäßig wenig vertreten.

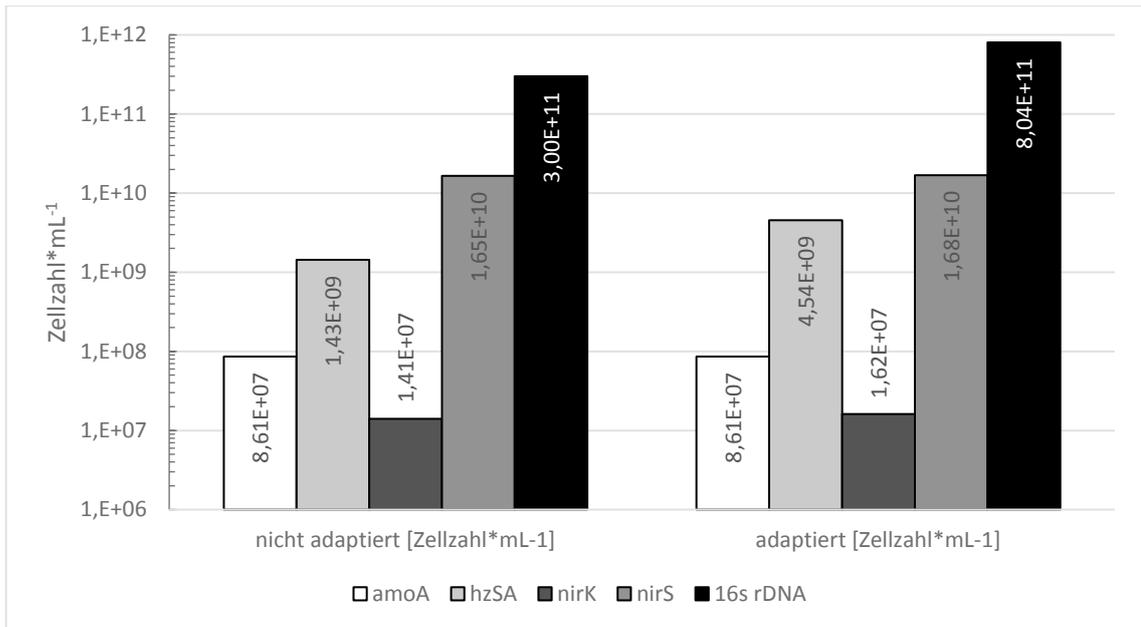


Abbildung 63 mikrobielle Zusammensetzung der Biomasse vor und nach der Salzadaption (logarithmische Darstellung). *16S rDNA* repräsentiert die Anzahl aller Bakterien, *amoA* repräsentiert Ammonium oxidierende Bakterien, *hzsA* ist das funktionelle Gen von Anammox, *nirS* und *nirK* stehen für Denitrifikanten.

Analysen mittels FISH-Technik konnten ebenfalls kaum Ammonium-Oxidierer nachweisen (Sonden NSO1225 und NIT). Die Zusammensetzung der Anammox-Bakterien ergab, dass ca. 60 % dieser „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“ zugeordnet werden konnten (Sonde BAN 162) die verbleibenden 40 % entfielen auf „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ (Sonde KST 152) (siehe Abbildung 64).

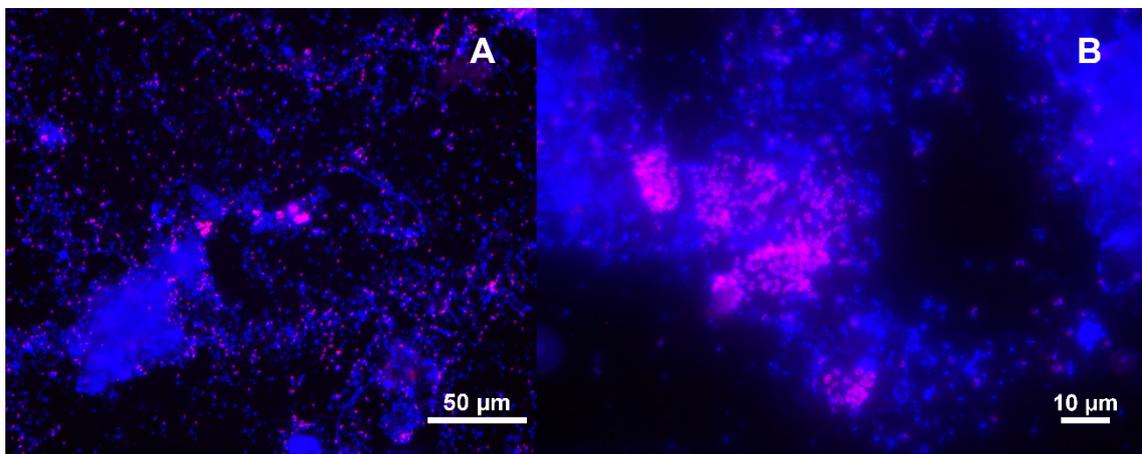


Abbildung 64 FISH-Bilder des genutzten Anammox-Biofilms; A: zusammengesetztes DAPI (blau) / BFU (pink) FISH-Bild, Skalierbalken entspricht 50 µm. B: zusammengesetztes DAPI (blau) / KST157 (pink) FISH-Bild, Skalierbalken entspricht 10 µm.

### 3.9.1 Ergebnisse der adaptierten Anammox-Biomasse

Die hier, in Abbildung 65, dargestellten Ergebnisse geben die maximale SAA nach Eliminierung der höchsten Werte jeder Stickstoff-Fraktion eines jeden Vials wieder. Die initiale SAA, welche ohne Salz gemessen wurde, lag bei  $731 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . Bis zu  $10 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  wirkte es stimulierend und erreichte  $124,8 \%$  der initialen SAA. Im Anschluss sank die Aktivität ab und erreichte bei  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  mit  $683 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  schon niedrigere Werte als die Anfangs-SAA. Danach wurden bei  $20 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  nur noch  $258 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  abgebaut. Die Salzkonzentration bei der nur noch  $50 \%$  der anfängliche SAA ( $IC_{50}$ ) erhalten waren, lag bei  $19,99 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Die Formel zur Berechnung berücksichtigte die Daten von  $10$  bis  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  liegt bei  $0,8476$ .

$$IC_{50} = 10,38 * 0,5 * SAA_{initial}^{-0,651} \quad \text{Formel 26}$$

Zwischen  $0 \text{ g}$  und  $20 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  sank das Verhältnis zwischen  $\text{NO}_2^-$ - und  $\text{NH}_4^+$ -Abbau stetig. Anfangs, ohne Salzzugabe, lag das Verhältnis noch über dem Optimum von  $1,32$ . Zwischen  $20$  und  $40 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  blieb der Abbau konstant. Allerdings lag das  $\Delta\text{NO}_2^- / \Delta\text{NH}_4^+$ -Verhältnis unterhalb des Optimums, mit Ausnahme der Messung bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Eine weitere Absenkung der SAA fand erst bei  $50 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  statt und erreichte nur noch  $27,1 \%$  der initialen SAA. Die gemessenen Proteinkonzentrationen zeigten keinen wesentlichen Unterschied zwischen den einzelnen Salzkonzentrationen. Somit war nicht davon auszugehen, dass es zu einem Verlust an Biomasse im Reaktor kam.

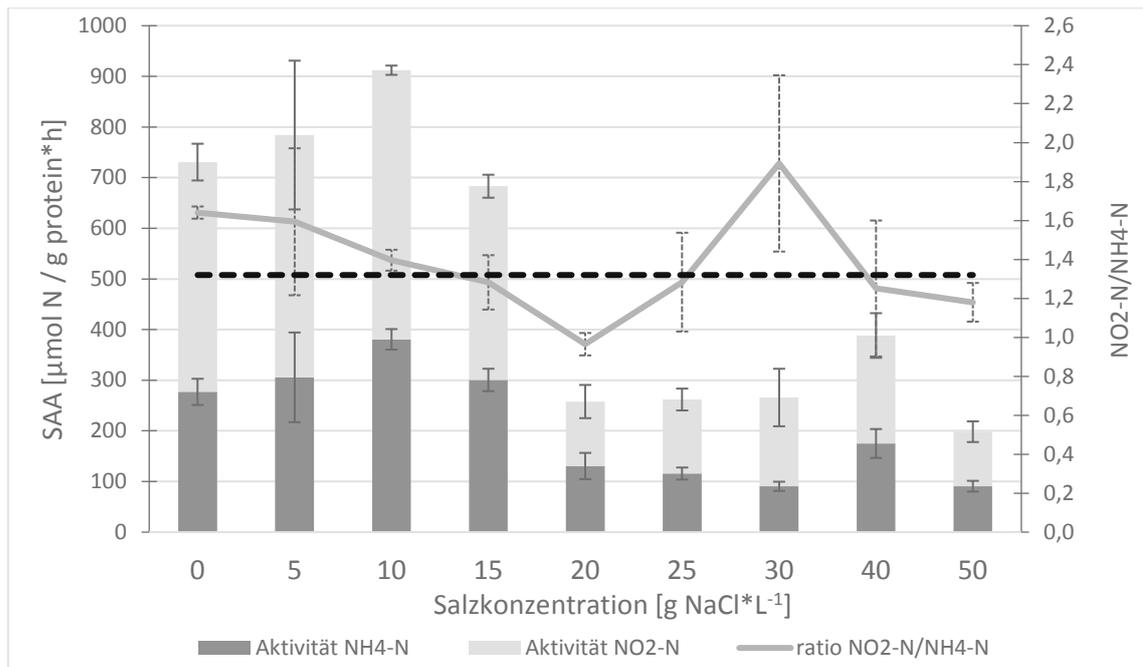


Abbildung 65 spezifische Anammox-Aktivität (SAA) [ $\mu\text{mol N} \cdot \text{g protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] der adaptierten Anammox-Biomasse. Die SAA ist in  $\text{NO}_2\text{-N}$  Aktivität und (hellgraue Balken) und  $\text{NH}_4\text{-N}$  Aktivität unterteilt (dunkelgraue Balken). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Die graue durchgehende Linie gibt das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis an. Die gestrichelte Linie zeigt das optimale  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis.

Die Proteinkonzentration der adaptierten Biomasse (Abbildung 66) schwankte in einem ähnlichen Ausmaß wie bei der nicht adaptierten. Da die nicht adaptierte Biomasse zum Entnahmezeitpunkt immer mit der gleichen Salzkonzentration im Reaktor konfrontiert war, kann davon ausgegangen werden, dass die adaptierte Biomasse keinen Verlust aufgrund der erhöhten Salzkonzentration im Reaktor erlitt.

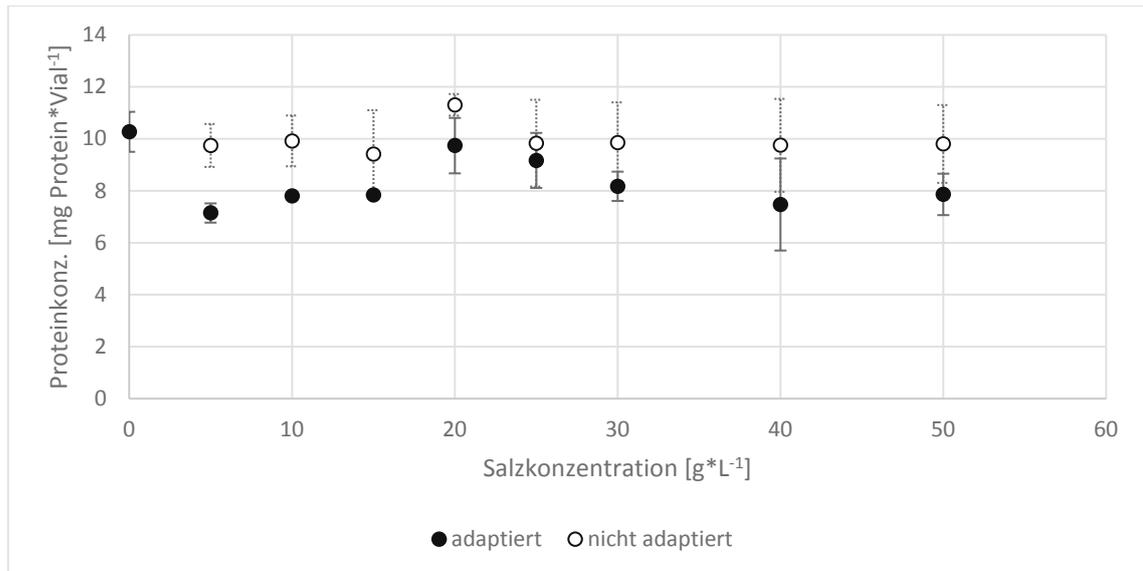


Abbildung 66 Proteinkonzentration in den Vials bei verschiedenen Salzkonzentrationen

### 3.9.2 Ergebnisse der nicht adaptierten Anammox-Biomasse

Die SAA (spezifische Anammox-Aktivität) der nicht adaptierten Biomasse ist im Wesentlichen ähnlich und sogar noch etwas höher als bei der adaptierten Biomasse. Sie sank gleichmäßiger ab als die adaptierte Biomasse (siehe Abbildung 67). Die initiale SAA erreichte mit  $844 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  einen etwas höheren Wert im Vergleich zur adaptierten Biomasse. Auch hier stimulierte Salz bis zu einer Konzentration von  $10 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  und es wurde eine SAA von  $963 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  erreicht, was  $114,1 \%$  der initialen SAA entsprach. Danach sank die SAA recht gleichmäßig ab. Bei  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  Salz lag die SAA mit  $787 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  wieder unterhalb der Anfangs-SAA. Der  $IC_{50}$  wurde bestimmt und lag bei  $20,30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Die Werte zur Ermittlung der Gleichung umfassten den Konzentrationsbereich zwischen  $10$  und  $50 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Das Bestimmtheitsmaß  $R^2$  liegt bei  $0,9522$ .

$$IC_{50} = 11,67 * 0,5 * SAA_{initial}^{-0,642} \quad \text{Formel 27}$$

Der  $IC_{50}$  war also vergleichbar mit dem der adaptierten Biomasse. Ab  $40 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  sank die Aktivität ( $149 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) deutlich unter die der adaptierten Biomasse und erreichte bei  $50 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  mit  $96 \mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  nur noch  $11,4 \%$  der anfänglichen SAA. Das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis blieb bis  $25 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  auf relativ gleichem Niveau und stieg danach auf über  $2,0$  stark an.

Dies bedeutete einen klaren Unterschied zur adaptierten Biomasse, welche ab 20 g NaCl\*L<sup>-1</sup> unter das optimale Verhältnis fiel.

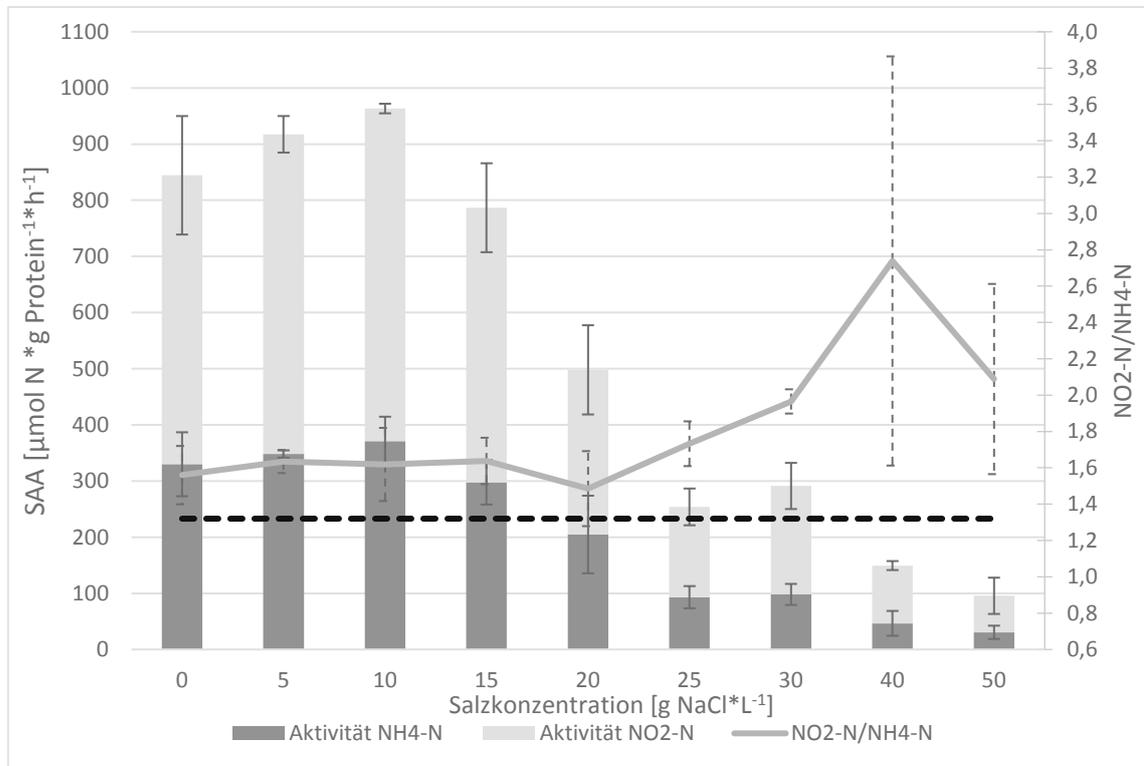


Abbildung 67 spezifische Anammox-Aktivität (SAA) [ $\mu\text{mol N} \cdot \text{g Protein}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] der nicht-adaptierten Anammox-Biomasse. Die SAA ist in NO<sub>2</sub>-N Aktivität und (hellgraue Balken) und NH<sub>4</sub>-N Aktivität unterteilt (dunkelgraue Balken). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Die graue durchgehende Linie gibt das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis an. Die gestrichelte Linie zeigt das optimale  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis.

Tabelle 39 Aktivität (gesamt und NH<sub>4</sub>-N bzw. NO<sub>2</sub>-N), NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N-Verhältnis, Proteinkonzentration der salz-adaptierten und nicht adaptierten Biomasse

nicht adaptiert									Salzkonzentration [g*L <sup>-1</sup> ]										adaptiert								
0	5	10	15	20	25	30	40	50	Aktivität [μmol N/g protein]	0	5	10	15	20	25	30	40	50									
<b>330</b>	348	371	298	205	93	98	47	31	NH <sub>4</sub> -N	277	306	381	300	131	116	90	175	91									
<b>±57</b>	±7	±43	±40	±69	±20	±19	±8	±12		±26	±89	±20	±22	±26	±12	±9	±28	±11									
<b>515</b>	569	592	498	293	161	193	103	65	NO <sub>2</sub> -N	454	478	531	383	127	146	175	213	108									
<b>±106</b>	±33	±9	±79	±69	±33	±41	±8	±12		±36	±147	±9	±23	±33	±22	±57	±44	±20									
<b>844</b>	917	963	787	498	254	291	149	96	NH <sub>4</sub> -N + NO <sub>2</sub> -N	731	784	912	683	258	262	266	388	198									
<b>1.56</b>	1.64	1.60	1.64	1.43	1.73	1.97	2.21	2.12	NO <sub>2</sub> -N/NH <sub>4</sub> - N	1.64	1.57	1.40	1.27	0.97	1.26	1.94	1.22	1.19									
<b>9.95</b>	9.75	9.92	9.41	11.3	9.83	9.85	9.75	9.80	mg Protein /Vial	10.27	7.14	7.80	7.84	9.74	9.17	8.17	7.47	7.86									
<b>±1.48</b>	±0.83	±0.98	±1.69	±0.42	±1.67	±1.56	±1.79	±1.50		±0.77	±0.37	±0.10	±0.07	±1.07	±1.06	±0.56	±1.77	±0.80									

### 3.10 Ergebnisse der Lagerungstests

Teile dieser Ergebnisse sind in der Masterarbeit von (Fondengcap, 2014) beschrieben. Des Weiteren wurden die Ergebnisse unter dem Titel „Highly efficient long-term storage of carrier-bound anammox biomass“ im Journal *Water Science and Technology* veröffentlicht (Engelbrecht et al., 2016).

Bevor mit den eigentlichen Lagerungstests begonnen wurde, wurde die Zusammensetzung der Biomasse mittels FISH-Technik ermittelt. 87,5 % der Biomasse konnte Bakterien zugeordnet werden. 68,8 % der Biomasse konnten der Anammox-Gattung „*Candidatus* Kuenenia stuttgartiensis“ zugeschrieben werden. Die Bakteriengattung „*Candidatus* Brocadia anammoxidans“ konnte ebenso wenig wie Nitrifikanten nachgewiesen werden. Die Abwesenheit von Nitrifikanten lässt die Schlussfolgerung zu, dass es sich bei dem beobachteten Ammoniumabbau um den Anammox-Prozess handeln musste (siehe Abbildung 68) In Tabelle 40 sind die Lagerungsbedingungen im Detail aufgeführt.

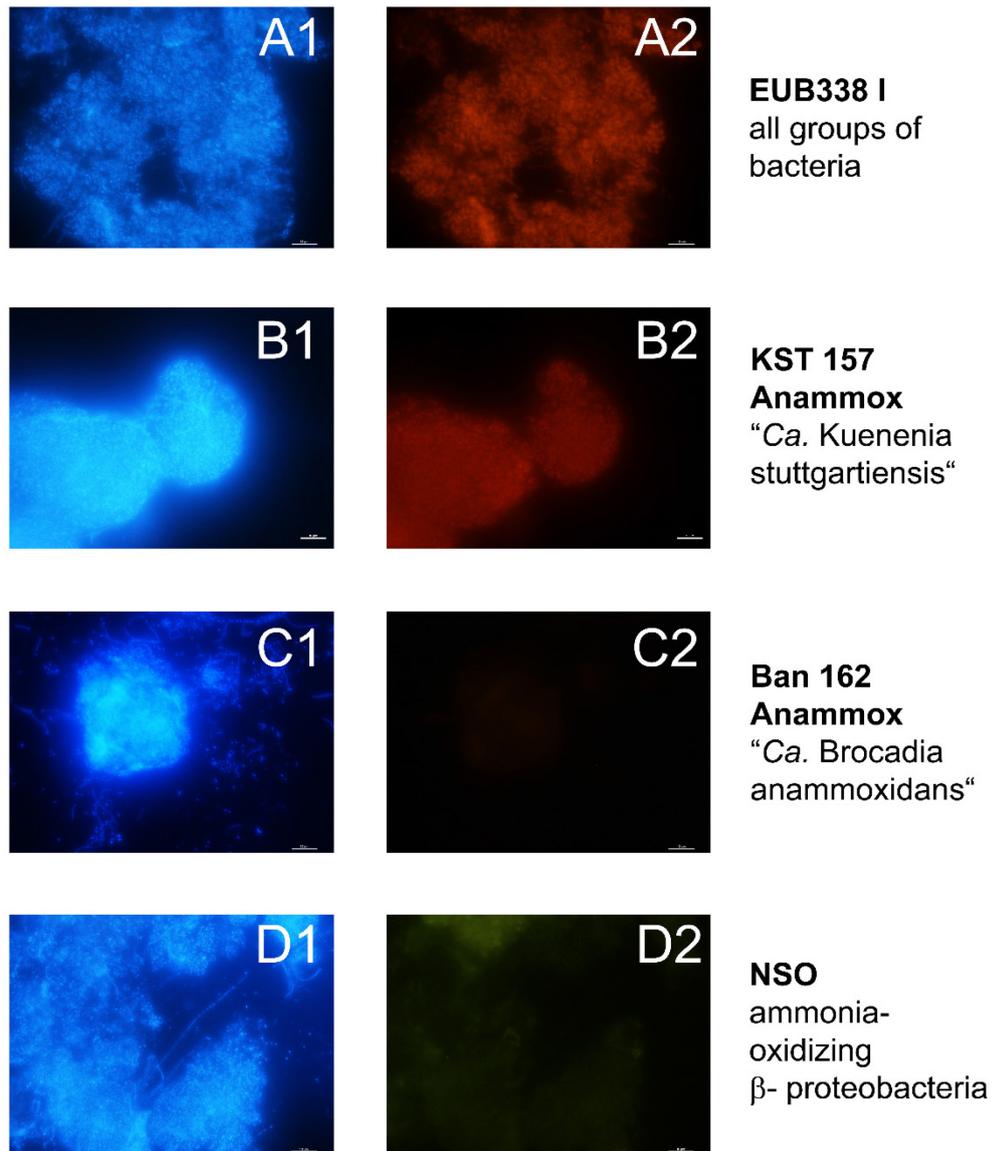


Abbildung 68 FISH-Bilder der Bakterienzusammensetzung bei Beginn der Lagerungsversuche; A: DAPI und EUB338 1 (Fluoreszenz-Farbe Cy3); B: DAPI und KST157 (Fluoreszenz-Farbstoff Texas Red); C: DAPI und BAN162 (Fluoreszenz-Farbstoff Oregon Green); D: DAPI und NSO (Fluoreszenz-Farbe Oregon Green). Die Skalierbalken unten links repräsentieren 10  $\mu\text{m}$ . In C1 repräsentiert der Balken 20  $\mu\text{m}$ .

Tabelle 40 Lagerungsbedingungen des Experiments zur Lagerung von biofilmmixierten Anammox-Bakterien; /: keine Zugabe; +  $\text{NO}_3^-$ : steht für die vorgelegte Konzentration von

5,7 mM Nitrat als Redox-Puffer; + MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>: steht für die vorgelegte Konzentration von 3 mM Molybdat als Redox-Puffer

1	2	3	4	Lage- rungsbe- dingung	5	6	7	8	9	10
4 °C	4 °C	4 °C	4 °C	Lage- rungs- temp.	20 °C	20 °C	20 °C	20 °C	20 °C	20 °C
+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	Redox Puffer Nit- rat	+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/	/	+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	/
/	+ MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	/	+ MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Redox Puffer Mo- lybdat	/	/	+ MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	+ MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	/	+ MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
+23d	+23d	/	/	Intervall der Nähr- stoffzu- gabe	+23d	+12d	+23d	+12d	/	/

### 3.10.1 Initiale spezifische Anammox-Aktivität (SAA)

Die spezifische Anammox-Aktivität wurde vor Beginn der Lagerungstests und zu den jeweiligen Zeitpunkten bestimmt. Die Ausgangsaktivität betrug  $767 \pm 32 \mu\text{mol NH}_4\text{-N}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g Protein}^{-1}$  und  $825 \pm 92 \mu\text{mol NH}_4\text{-N}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g Protein}^{-1}$ . Dies resultierte in einer N-Gesamt-Abbaurrate von  $1592 \mu\text{mol NH}_4\text{-N}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g Protein}^{-1}$ . Das NO<sub>2</sub>-N/NH<sub>4</sub>-N-Verhältnis lag bei 1,076.

### 3.10.2 Lagerung bei 20 °C

Bei der Lagerung mit einer Temperatur von 20 °C wurden die Effekte von Molybdat (MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) und Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) als verwendete Redoxpuffer, sowie der Einfluss der Zugabe von Nährstoffen alle 23 Tage, alle 12 Tage oder bei keiner Zugabe, analysiert. Die Aktivität wurde jeweils im Triplet nach 21, 49 und 78 Tagen ermittelt.

Nach 78 Tagen zeigten alle Proben (Lagerungsbedingung 5-10) eine geringere metabolische Aktivität im Vergleich zur initialen spezifischen Anammox-Aktivität (siehe Abbildung 69). Lagerungsbedingung 6 behielt mit 67,3 % die höchste spezifische Anammox-Aktivität. Das  $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4\text{-N}$ -Verhältnis lag mit 1,22 nahe dem optimalen Anammox-Verhältnis (1,32). Lagerungsbedingung 7 wies die niedrigste Aktivität auf (SAA von 28,4 %,  $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4\text{-N}$ : 0,34). Bedingung 6 wurde alle 12 Tage mit Nährstoffen versorgt und Nitrat als Redoxpuffer verwendet. Lagerungsbedingung 7 wurde alle 23 Tage mit Nährstoffen versorgt. Molybdat wurde als Redoxpuffer genutzt.

Molybdat als Redoxpuffer erreichte niedrigere SAA als ihre jeweiligen Nitratpuffer-Pendants.

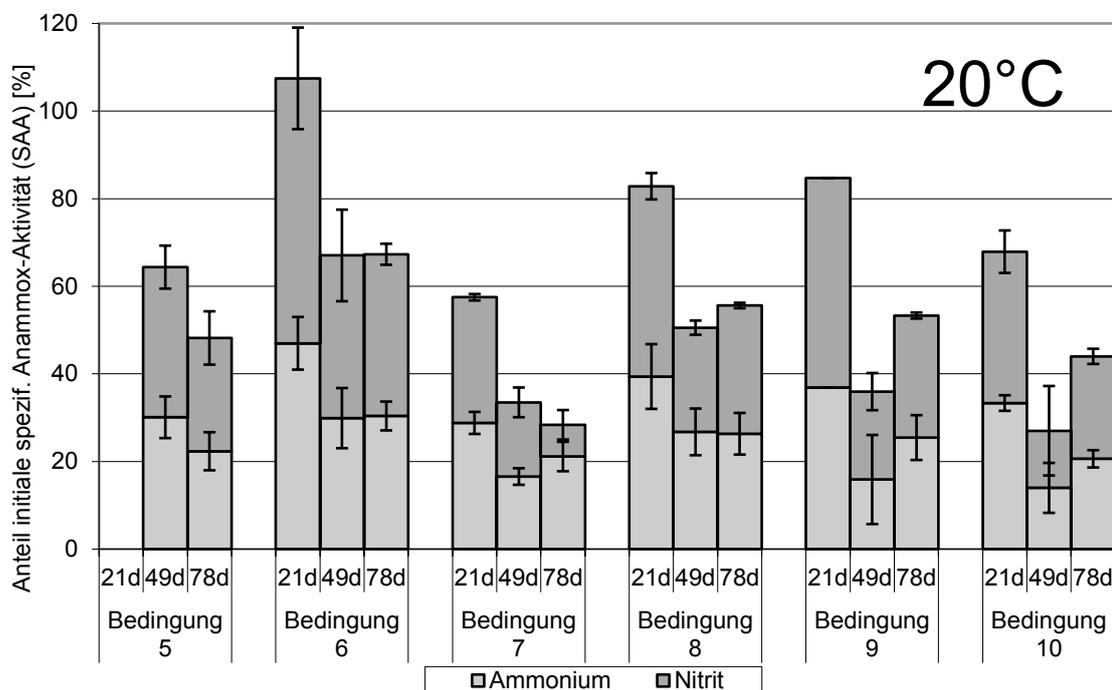


Abbildung 69 Spezifische Anammox-Aktivität (SAA) der, bei 20°C gelagerten, Anammox-Biomasse. Die SAA ist unterteilt in Ammonium-Aktivität (hellgrau) und Nitrit-Aktivität (dunkelgrau). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an. Für Bedingung 5,

nach 21 Tagen liegen, aufgrund von Fehlern bei der Lagerung, keine Daten vor. Bedingung 9 ist nach 21 Tagen nur durch eine Einfachmessung dargestellt.

### 3.10.3 Lagerung bei 4 °C

Bei der Lagerung bei 4 °C wurde ebenfalls der Effekt von unterschiedlichen Redoxpuffern (Nitrat und Molybdat) sowie der Einfluss einer regelmäßigen Nährstoffzugabe untersucht. Hier wurden alle 23 Tage Nährstoffe (je 3 mM  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{NH}_4^-$ ) verabreicht oder ohne weitere Nährstoffzugabe gearbeitet. Es wurde nach 22 Tagen, 64 Tagen und 106 Tagen gemessen.

In den Bedingungen 1, 2, und 3 konnte am ersten Messzeitpunkt nach 22 Tagen überraschenderweise eine höhere Aktivität als bei der initialen Messung festgestellt werden (Abbildung 70). Nach 106 Tagen wies Bedingung 4, mit 45,3 %, die niedrigste SAA auf, gefolgt von Bedingung 3 (49,8 %) und Bedingung 2 (63,0 %). Bedingung 1 erreichte die höchste Restaktivität mit 91,4 % der ursprünglichen Aktivität. Es wurde ein nahezu perfektes  $\Delta\text{NO}_2\text{-N}/\Delta\text{NH}_4\text{-N}$ -Verhältnis von 1,34 erreicht. Somit kann davon ausgegangen werden, dass der komplette Abbau auf Anammox zurückzuführen ist. Tabelle 41 gibt alle Ergebnisse detailliert wieder.

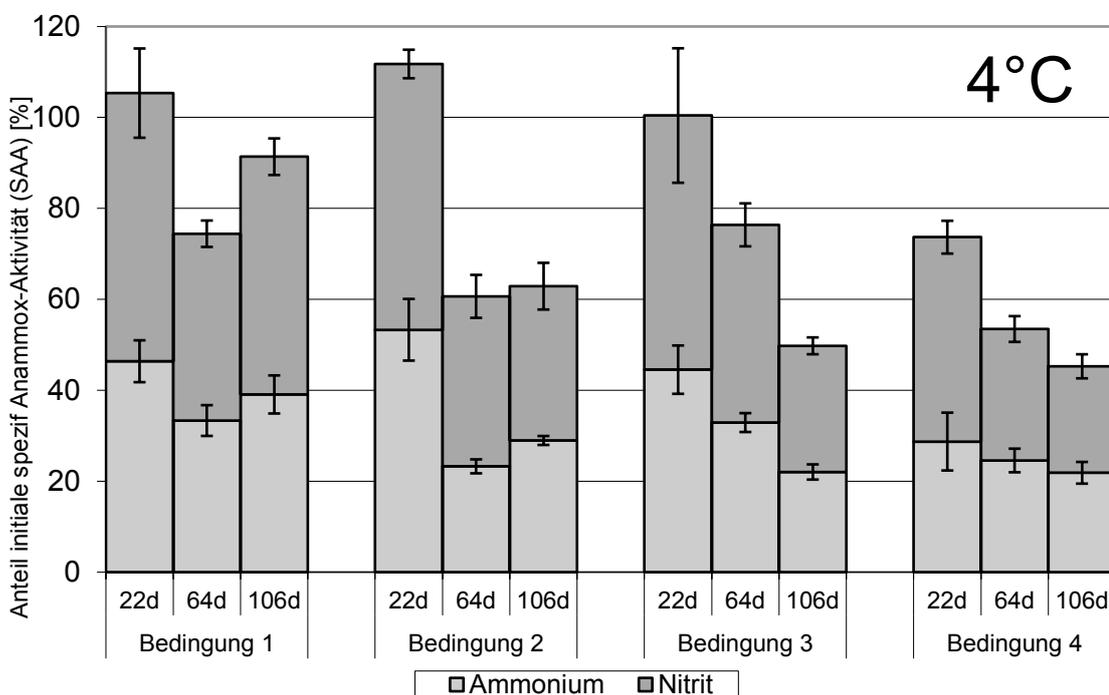


Abbildung 70 Spezifische Anammox Aktivität (SAA) der, bei 4°C gelagerten, Anammox-Biomasse. Die SAA ist unterteilt in Ammonium-Aktivität (hellgrau) und Nitrit-Aktivität (dunkelgrau). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung an.

Tabelle 41 Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Lagerungsbedingungen; + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: bedeutet eine anfängliche Zugabe von 5,7 mM Nitrat als Redoxpuffer; + MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> bedeutet eine anfängliche Zugabe von 3 mM Molybdat als Redoxpuffer; +12d, +23d, /.: bedeutet eine Nährstoffzugabe (3 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup> / 3 mM NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) alle 12 Tage, 23 Tage bzw. keine Zugabe,. Bei der Nährstoffzugabe während der Lagerung wurden 0,9 mL aus den Vials entfernt und dann mit 0,9 mL Nährmedium mit NO<sub>2</sub><sup>-</sup> und NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ersetzt. Das Nährmedium enthielt ebenfalls die richtige Konzentration an Molybdat bzw. Nitrat.

1	2	3	4	Lagerungsbedingung.	5	6	7	8	9	10
4°C	4°C	4°C	4°C	Lagerungstemperatur	20°C	20°C	20°C	20°C	20°C	20°C
+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Redoxpuffer	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
+23d	+23d	/	/	Nährstoffzugabe	+23d	+12d	+23d	+12d	/	/
105,4	111,8	100,4	73,7	22d, SAA [%]    21d, SAA [%]	-	107,5	57,5	82,8	84,7	67,9
74,4	60,7	76,4	53,5	64d, SAA [%]    49d, SAA [%]	64,4	67,0	33,5	50,6	36,0	27,0
91,4	63,0	49,8	45,3	106d, SAA [%]    78d, SAA [%]	48,2	67,3	28,4	55,6	53,3	44,0
1,27	1,10	1,26	1,57	22d  Verhältnis ΔNO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /Δ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>   21d	-	1,29	1,00	1,10	1,30	1,04
1,23	1,61	1,32	1,18	64d  Verhältnis ΔNO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /Δ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>   49d	1,14	1,24	1,02	0,89	1,26	0,93
1,34	1,17	1,26	1,07	106d  Verhältnis ΔNO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /Δ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>   78d	1,16	1,22	0,34	1,11	1,09	1,14

#### **3.10.4 Zusammenfassung Lagerung**

Die Lagerung bei 4 °C konnte bessere und länger anhaltende Aktivitäten erreichen als die Lagerung bei 20 °C. Nitrat als Redoxpuffer erreichte stets bessere Ergebnisse als Molybdat. Des Weiteren führt eine regelmäßige Zugabe von Nährstoffen zu höheren Aktivitätswerten.

Das beste Ergebnis konnte bei 4 °C Lagerungstemperatur und einer regelmäßigen Nahrungszufuhr alle 23 Tage erreicht werden. Nach 106 Tagen wurden 91,4 % der Anfangsaktivität gemessen. Es kann geschlossen werden, dass die hier verwendete immobilisierte Biomasse vorteilhaft für eine Lagerung ist.

Damit liegt eine einfache und preiswerte Methode zur Lagerung von Anammox-Biomasse vor.

## 4 Diskussion

Beim klassischen Aufbereitungsverfahren des häuslichen Abwassers werden Stickstoffverbindungen über Nitrifikation/ Denitrifikationsprozesse in molekularen Stickstoff überführt. Dies erfordert einen verhältnismäßig hohen technischen und energetischen Aufwand. Der Anammox-Prozess verspricht große Einsparpotentiale, konnte aber bis jetzt nicht im Hauptstrom von Kläranlagen etabliert werden. Im Rahmen dieser Arbeit sollte ein Lösungsansatz für dieses Problem gefunden werden. Ausgangspunkt war die Etablierung des Prozesses in Kleinkläranlagen.

In einem ersten Ansatz wurde versucht, über eine Nitritationsstufe Nitrit für eine nachfolgende Anammox-Stufe bereitzustellen. Es wurde sich hierfür an den Gegebenheiten von Kleinkläranlagen orientiert, da es das Ziel war, diesen Prozess dort zu etablieren. Nachdem der Versuch über eine separate Nitritation zu keinem nachhaltigen positiven Ergebnis führte, wurden Untersuchungen zu einer unvollständigen Denitrifikation durchgeführt. Hier sollte ebenfalls Nitrit als Vorstufe für einen Anammox-Reaktor bereitgestellt werden. Auch dieser Ansatz konnte keine zufriedenstellenden Resultate liefern. Daraufhin wurde versucht, AOB und Anammox-Bakterien in einem Biofilm zu vergesellschaften. Dies wurde in Silikonschläuchen durchgeführt. Der Sauerstoff diffundiert von außen in den Schlauch und ermöglichte somit die Nitritation bzw. den Aufwuchs von AOB. Es konnte nachgewiesen werden, dass sich ein gemischtes Biofilmkonsortium ansiedelte. Jedoch löste sich der Biofilm von der Schlauchwandung, was zu erhöhten Sauerstoffkonzentrationen im System führte, folglich Anammox hemmte und das Reaktorsystem instabil werden ließ. Um ungewollten Sauerstoffeintrag zu verhindern, wurde deshalb eine Silikonmembran in einen Reaktor eingebracht und über einen Kompressor mit Luft versorgt. Der Sauerstoff konnte dann durch an- und abschalten des Kompressors gezielt in das System eingebracht bzw. limitiert werden. Die Anammox-Bakterien wurden auf Trägermaterial räumlich von der Belüftungsmembran getrennt, auf der potentiell die AOB aufwachsen sollten. Somit sollte eine bessere Kontrolle der Reaktorleistung ermöglicht werden. Nach einer Adaptionsphase, in der Nitrit dem Nährmedium zugegeben, aber schrittweise reduziert wurde, funktionierte dieser PN/A-Prozess wie gewünscht. Im Weiteren wurde die Betriebstemperatur erfolgreich bis auf 8 °C gesenkt. Zudem wurde dieses System erfolgreich für hochsaline Wässer getestet. Des Weiteren wurden Untersuchungen der Aktivität von Anammox-Biomasse nach einer Adaption an NaCl im Vergleich zu

nicht adaptierter Biomasse durchgeführt. Als letzter Punkt wurde die initiale Aktivität nach einer Lagerung von Anammox-Bakterien untersucht.

### 4.1 Nitritation oder Vorstufe für Anammox

Der Aufbau der Reaktoren sowie die Steuerung der Prozesse orientierten sich stark an den Gegebenheiten einer Kleinkläranlage.

Zur Sicherstellung einer hinreichenden Nitrit- und Ammoniumkonzentration für den Anammox-Prozess wurde ein zweistufiges Nitritations-Anammox-System gewählt. Ein bereits etabliertes System ist der SHARON-Prozess. Ziel dieses zweistufigen Prozesses ist es, im Ablaufwasser des ersten Reaktors ca. 50 % Nitrit und 50 % Ammonium vorzulegen, um ein optimales Mischungsverhältnis für den folgenden zweiten, den Anammox-Reaktor bereitzustellen. Zur Akkumulation von Ammonium wurden im ersten Reaktor Temperaturen von 30 °C – 40 °C eingestellt. NOB weisen in diesem Temperaturbereich geringere Wachstumsraten als AOB auf. Folglich werden, wenn die HRT (ca. 1 d) der SRT (Schlammverweilzeit) entspricht, NOB ausgewaschen und nitritproduzierende AOB angereichert (Hellinga et al. 1998).

Die Nitritbildung wurde untersucht, zum einen beim Einsatz von Biomasseträger (Kaldnes K1, Messreihen 1 – 5), welche häufig in Kläranlagen verwendet werden und zum anderen mit Belebtschlamm (Messreihen 6 – 8). Bei der Verwendung von Biomasseträgern konnte Nitrit nicht nachhaltig bereitgestellt werden.

Bei der Verwendung von Belebtschlamm zeigte sich, dass bei einer Temperatur von 29,5 °C immerhin 23,1 % Nitrit gebildet worden war (Messreihe 6 (allerdings mit einer hohen Standardabweichung (Phase 34))). Jedoch nahm mit sinkender Temperatur auch die Nitritbildungsrate ab. Bei Temperaturen um 20 °C wurde noch 11,6 % Nitrit gebildet (Messreihe 6, Phasen 37 und 38). Bei 16,2 °C waren es lediglich noch 2,8 % (Messreihe 6, Phase 39). Diese geringen Nitritbildungsraten von rund 3 % wurden in der Messreihe 7 und der Messreihe 8 schon bei Temperaturen um 20 °C detektiert. Demzufolge war es nicht möglich, eine hinreichende Nitritbildung unterhalb einer Temperatur von 29 °C sicherzustellen.

Das in der Teilstrombehandlung üblicherweise zu behandelnde Wasser ist Ablaufwasser von Faultürmen (Dongen et al., 2001; Lackner et al., 2014). Die Unterschiede zu den hier genutzten Reaktorkonfigurationen sind zum einen das Medium. Es wurde vorgeklärtes Abwasser der Kläranlage Cottbus genutzt. Somit ist die  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Konzentration weit

niedriger ( $80 - 100 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ ) als sie es im Ablauf eines Faulturms ist ( $500 - 1500 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$  (Lackner et al. 2014)). Für den SHARON Prozess werden aufgrund der relativ niedrigen Affinitätskonstante der AOB zu Ammonium ( $20 - 40 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ ) Zu-  
laufkonzentrationen von über  $500 \text{ mg NH}_4\text{-N}$  empfohlen (Dongen et al., 2001; Hellinga et al., 1998). Bei hohen Ammoniumkonzentrationen und Nitritkonzentrationen liegen bei pH-Werten um 8 und höher aufgrund des Dissoziationsgleichgewichts auch ein immer größerer Teil als Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) bzw. salptryge Säure ( $\text{HNO}_2$ ) vor. Ammoniak und salptryge Säure wirken auf NOB stärker hemmend als auf AOB und können somit auch zur Diskriminierung eingesetzt werden (Anthonisen et al., 1976). Die Inhibierungskonstante der NOB für Ammoniak liegt bei  $46 \text{ }\mu\text{M}$  und für salptryge Säure bei  $1,7 - 6,8 \text{ }\mu\text{M}$ , wohingegen AOB eine Inhibierungskonstante von  $290 - 1600 \text{ }\mu\text{M}$  bei Ammoniak und  $12 \text{ }\mu\text{M}$  bei salptryger Säure haben (Park & Bae, 2009). Bei den niedrigen, hier verwendeten Konzentrationen tritt dieser selektierende Effekt nicht oder nur begrenzt auf, da die Konzentrationen zu niedrig sind um hemmend zu wirken. Dieser Umstand kann somit als ein Grund für das Scheitern betrachtet werden.

Ein weiterer Ansatz war die Manipulierung der Sauerstoffkonzentration in Höhe und zeitlicher Abfolge. (Blackburne et al., 2008b) ermittelten die Sauerstoffhalbsättigungskonstante für AOB und NOB. Bei AOB lag der Wert bei  $0,033 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  und NOB erreichten einen Wert von  $0,43 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Dies belegt die wesentlich höhere Affinität der AOB zu Sauerstoff. Somit können geringe  $\text{O}_2$ -Konzentrationen als diskriminierender Faktor für NOB eingesetzt werden. Die Lag-Phasen von AOB und NOB nach einer anoxischen Phase sind unterschiedlich. (Gilbert et al., 2014a) konnten durch  $15 - 20$  minütige anoxische Intervalle AOB gegenüber NOB bevorteilen. Da NOB länger brauchen, um ihren Stoffwechsel nach der sauerstofflosen Zeit wieder hochzufahren. Dies funktionierte auch bei niedrigen Temperaturen. Somit konnte eine stabile partielle Nitrifikation sichergestellt werden. Messreihe 2 nutzte Belüftungspausen von meist 18 Minuten. Es konnten maximal  $9 \%$  des Ammoniums zu Nitrit umgesetzt werden. Die Temperaturen lagen mit  $17,5 - 22,4 \text{ }^\circ\text{C}$  noch relativ hoch. Phase 18 und Messreihe 4 nutzen eine quasikontinuierliche Belüftung mit einer Soll-Sauerstoffkonzentration von  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Die niedrigen Sauerstoffkonzentrationen konnten allerdings nicht wesentlich die NOB in ihrer Aktivität unterdrücken, da nie mehr als  $2 \%$  Nitrit gebildet werden konnte. Hier funktionierte der Ansatz der Intervallbelüftung nicht. Bei (Gilbert et al., 2014a) funktionierte dieser Ansatz. Allerdings wurde dort PN/A in einem Reaktor durchgeführt.

In Messreihe 4 wurde eine Denitrifikation nachgeschaltet, um mittels unvollständiger Denitrifikation Nitrit bereitzustellen. (Martienssen and Schops, 1997) konnten in einer De-

nitrifikationsanlage einer Sickerwasseranlage Nitrit akkumulieren. Dies war auf die Ausbildung einer bestimmten mikrobiellen Gemeinschaft zurückzuführen. Erreicht wurde dies durch festgelegte TOC/N Verhältnisse und die hohe Salinität des Wassers. In der vorliegenden Arbeit konnte das TOC/N Verhältnis aufgrund des Aufbaus der Anlage nicht genau gesteuert werden. Um die Erfolgsaussichten einer funktionierenden partiellen Denitrifikation zu erhöhen, wären Impfschlämme aus bestimmten Reaktorsystemen förderlich gewesen (Cao et al., 2013). Des Weiteren konnten Cao et al. (2017) mit Denitrifikanten der Gattung *Thaura* besonders gute Nitritbildungsraten erreichen. Fehlende Optimierung des Systems und Züchtung von geeigneten Denitrifikanten sind weitere Gründe für die unbefriedigenden Ergebnisse mit einer nachgeschalteten Denitrifikation. Messreihe 3 nutzte Sauerstoffkonzentrationen zwischen 4 und 0,1 mg\*L<sup>-1</sup>. Auch hier konnte sich kein Trend in der Nitritakkumulation etablieren. Zu keiner Zeit konnten mehr als 2 % Nitritbildung erreicht werden. Obwohl gerade bei niedrigen Sauerstoffkonzentrationen positive Effekte zu erwarten gewesen wären. Hier könnte die Etablierung eines stabilen Biofilms die Hemmung der NOB verhindert haben. Messreihe 6 (Belebtschlamm; 0,6 mg O<sub>2</sub>\*L<sup>-1</sup>; 29,5 °C) konnte, 23,1 % (Phase 34) Nitrit bilden. In den folgenden Phasen sank der Wert bei gleicher Sauerstoffkonzentration, aber niedrigen Temperaturen (Phasen 36 – 39). Messreihe 8 konnte mit Intervallbelüftung, vorgeschalteter Denitrifikation und Temperaturen von 20 °C und höher keine signifikanten Mengen an Nitrit bilden.

## 4.2 Partielle Denitrifikation

Bei den Versuchen ging es darum schon gebildetes Nitrat zu Nitrit zu reduzieren, um es anschließend einem Anammox-Reaktor zuzuführen. Dieser Ansatz würde allerdings den großen Vorteil der Belüftungseinsparung verlieren, welcher durch die Integration eines PN/A-Prozesses erzielt werden könnte. Allerdings könnte so nochmals schon behandeltes Abwasser aus einem PN/A-Reaktor behandelt werden, da 11 % des Ammoniums zu Nitrat umgesetzt werden (De Prá et al., 2016). Des Weiteren könnten mit der partiellen Denitrifikation auch nitratbelastete Wässer mit weniger Kohlenstoffeinsatz gereinigt werden.

Mit dem hier genutzten Versuchsaufbau konnten leider keine positiven Ergebnisse erzielt werden. Die Modifikation der HRT hatte ebenso wenig einen Einfluss auf die Nitritbildung wie die Änderung von TOC-Konzentrationen. Die Versuche mit einem isolierten Nitrit akkumulierenden Stamm schlugen vermutlich fehl, weil sich die Biomasse an der

Glaswand des Reaktorgefäßes ansiedelte und sich folglich auch Denitrifikanten durchsetzen konnten, die komplett denitrifizierten. Der Versuchsaufbau hatte auch einige Probleme. Zum einen war das Anhaften der der Bakterien an der Glaswand nicht gewollt aber aufgrund der kleinen Reaktorgefäße nicht revidierbar. Dies führte zu einer Entkopplung der HRT zur Retentionszeit der Bakterien im System. Die Zulauf- und Ablaufkanülen der Reaktoren waren ebenfalls problematisch, da sie durch ihren geringen Durchmesser zu Verstopfungen neigten. Das verwendete Pepton war, aufgrund der enthaltenen Stickstoffverbindungen für eine Bilanzierung, ebenfalls suboptimal. Zu guter Letzt funktionierte die Autoklavierung nicht immer einwandfrei, was teils zu einer Nitritbildung in den Zulaufgefäßen führte und somit ebenfalls eine Bilanzierung erschwerte. Es gibt allerdings vielversprechende erfolgreiche Ansätze in der Literatur zur Nutzung der partiellen Denitrifikation (Cao et al., 2013, 2012).

### **4.3 Etablierung eines Anammox-Nitrifikanten-Biofilm-Konsortiums auf einer sauerstoffdurchlässigen Membran**

Die Idee war es, an der Innenseite eines Silikonschlauchs ein Konsortium aus AOB und Anammox aufwachsen zu lassen. Durch die Diffusion der Luft in den Schlauch wäre keine Energie für Kompressoren nötig gewesen. Die Zusammensetzung des Biofilms wird im Folgenden diskutiert.

Der relative Anteil von Anammox nahm bei beiden Schlauchanfängen stärker zu als an den Schlauchenden. Dies kann damit erklärt werden, dass hier fast kein Sauerstoff vorlag und Anammox somit nicht gehemmt wurde (Carvajal-Arroyo et al., 2013; Jetten et al., 1999; Joss et al., 2011). Größere Konzentrationen organischen Kohlenstoffs waren aufgrund der Nährmedium-Zusammensetzung ebenfalls nicht vorhanden, was eine mögliche Hemmung ausschließt (Dapena-Mora et al., 2007; Güven et al., 2005; Isaka et al., 2008).

Die Nitrifikanten konnten ihren Anteil in dem Biofilmkonsortium beibehalten oder sogar vergrößern (S1). Dies deutet darauf hin, dass die Umweltbedingungen am Schlauchanfang zwar Anammox den größten Wachstumsvorteil gaben, aber schon genug Sauerstoff vorhanden war, um die Nitrifikanten-Population verhältnismäßig stabil zu halten. Blackburne et al. (2008b) geben  $0,03 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  als Sauerstoffhalbsättigungskonstante an. Wiesmann (1994) gibt  $0,3 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  als Mittelwert aus verschiedenen Quellen an.

Der Anteil der Denitrifikanten ging bei beiden Schlauchanfängen deutlich zurück. Es war aber kein einheitliches Ergebnis im Verhältnis der Gene *nirK* zu *nirS* zu erkennen. Grund für den relativen Rückgang war die geringe Sauerstoffzufuhr und damit waren auch wenig Nitrat und Nitrit für Denitrifikanten vorhanden. Außerdem steht Anammox auch in Konkurrenz um Nitrit mit den Denitrifikanten. Zudem war aufgrund der Nährmediumszusammensetzung kein externer TOC verfügbar, was ebenfalls zur Reduzierung der Denitrifikanten-Aktivität und somit auch zur ihrer Reduzierung beitragen sollte (Her & Huang, 1995). Des Weiteren können geringe C/NO<sub>3</sub>-N Verhältnisse die Bildung von Nitrit fördern und somit eine vollständige Denitrifikation zum Distickstoff unterbinden (Cao et al., 2017; Her & Huang, 1995). Die Bildung von Nitrit würde Anammox bevorteilen.

Die Zusammensetzung des Biofilms am Ende der Silikonschläuche unterschied sich von der am Anfang. Der Anteil der Anammox-Bakterien stieg ebenfalls, allerdings nicht so stark wie an den Schlauchanfängen. Der Anteil lag bei 19 %. Die Bedingungen am Ende des Schlauches sollten Anammox mit Nitrit versorgen können. Die Ammoniumoxidierer verloren relativ gesehen.

Die Denitrifikanten wurden zu der größten Gruppe. Gründe hierfür war die Diffusion von Sauerstoff in das System, was dann Nitrifizierer befähigte Nitrit und Nitrat bereitzustellen. Da Denitrifikanten heterotroph sind, besitzen sie einen Wachstumsvorteil (mögliche Verdopplungszeiten von 0,33 h<sup>-1</sup> (El Hassan et al., 1985)) gegenüber Anammox (3 – 11 d (M. S. Jetten et al., 2001; Lotti et al., 2015a; Strous et al., 1998)) und Nitrifikanten (1,05 – 1,4 \*d<sup>-1</sup> (Munz et al., 2011)).

## **4.4 Biofilmzusammensetzung auf der Membran und den Trägern**

### **4.4.1 Schlauchreaktoren**

Der erfolgreiche Aufwuchs von AOB und Anammox auf der Membran konnte durch eine Verschiebung der Verhältnisse im zeitlichen wie auch im räumlichen Verlauf des Schlauchs S1 und S2 gezeigt werden. In allen Fällen konnte Anammox einen Anteil von mindestens 18,8 % erreichen. Pellicer-Nàcher et al. (2014) konnten ähnliche Ergebnisse erreichen. Dort etablierten sich etwa 25 % Anammox-Bakterien.

#### **4.4.2 Biofilmmzusammensetzung auf der Membran und den Trägern der membranbelüfteten Festbettreaktoren**

Terada et al. (2007) konnten den Vorteil einer Membranbelüftung gegenüber eines herkömmlichen Biofilmsystems aufzeigen. Das System war stabiler gegenüber Schwankungen. Bei zu dicken Biofilmen (ab 1450 µm) war aber der normale Biofilm wieder im Vorteil.

Die qPCR-Untersuchungen des Membranbiofilms im Niedrigtemperatur-Reaktor sowie im Salzreaktor zeigten einen AOB-Anteil von 19,7 % bzw. 18,2 %. Das Gen *hzsA* lag nur zu 0,065 bzw. 1,04 % vor. Li et al. (2016) beobachteten ähnliche Ergebnisse mit 33,1 % AOB und 5,1 % NOB. Anammox waren zu 4,8 % vorhanden. Downing & Nerenberg (2008) hatten bei ihrem Membranbiofilm einen NOB-Anteil, der 10 % AOB-Anzahl entsprach. Der Umstand, dass in der vorliegenden Arbeit so wenig Anammox auf der Membran gefunden wurde, ist allerdings nicht als negativ zu betrachten, denn Anammox-Bakterien sollten auf den Trägern etabliert werden. Im Niedrigtemperatur-Reaktor konnte auf dem Träger 6,6 % Anammox nachgewiesen werden. AOB fielen von 19,7 % auf der Membran auf 2,8 % auf den Trägern. Größere Anteile an heterotrophen Bakterien scheinen nicht ungewöhnlich zu sein. So berichteten Persson et al. (2016), dass in ihrem MBBR bis zu 50 % der Gensequenzen heterotrophen Bakterien zugeordnet werden können. Zudem konnten sie keine Änderung der Zusammensetzung während einer Temperaturabsenkung feststellen. In der vorliegenden Arbeit machten heterotrophe Bakterien im direkten Vergleich zwischen Denitrifikanten, AOB und Anammox über 90 % aus. Die Ergebnisse von Pellicer-Nàcher et al. (2014) deuten bei ihren membranbelüfteten Reaktor ebenfalls auf einen beträchtlichen Anteil von heterotrophen Bakterien im Membranbiofilm hin. Denn diese nahmen bei einer Biofilmdicke zwischen 200 und 400 µm eine dominante Rolle ein, wohingegen AOB bis zu 200 µm dominant waren. Anammox waren ab 400 µm dominant. Auch waren die AOB und Anammox häufiger und diversifizierter als die NOB. Es zeigt sich somit auch ein nicht zu vernachlässigendes Problem. Wenn der Membranbiofilm AOB und Anammox beinhalten soll, muss er relativ dick sein. Daraus folgt, dass die Gefahr der Sauerstoffinhibierung zunimmt (Martin & Nerenberg, 2012). Ablösungsprozesse von der Membran würden sich aufgrund der Mächtigkeit und somit des Alters des Biofilms auch negativ auswirken. Die Nutzung von relativ dünnen bzw. jungen Biofilmen in der vorliegenden Arbeit und die Trennung der Anammox-Bakterien auf separate Träger macht das vorliegende System sicherer und flexibler. Denn NOB und AOB können gezielt von der Membran entfernt werden ohne Anammox-Biomasse zu verlieren.

Die Ergebnisse der qPCR wurden durch die FISH-Ergebnisse qualitativ bestätigt. Das heißt, auf den Membranen sind vornehmlich AOB und NOB angesiedelt wohingegen auf den Anammox-Träger auch vornehmlich Anammox anzutreffen ist. So machte im Niedrigtemperatur-Reaktor Anammox etwa 90 % aus. Diese Ergebnisse stehen quantitativ in einem auffallenden Gegensatz zur qPCR, scheinen aber plausibler. So stellten Kouba et al. (2016) auf ihren MBBR Trägern hauptsächlich Anammox und AOB, mit einigen wenigen NOB fest. Pellicer-Nàcher et al. (2014) zeigten mittels FISH, dass in membranbelüfteten Biofilmen die AOB direkt auf der Membran sitzen und NOB weiter im äußeren Bereich. Dies lässt den Schluss zu, dass junge Biofilme weniger dazu neigen, komplett zu nitrifizieren. In der vorliegenden Arbeit wurde nur eine Mischprobe des Biofilms untersucht. Die FISH-Ergebnisse von Wang et al. (2016) unterstreichen ebenfalls, dass niedrige Sauerstoffkonzentrationen ( $0,3 - 0,8 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ) den Anteil von NOB, insbesondere von *Nitrobacter*, senken konnten. *Nitrobacter* konnte in der vorliegenden Arbeit auf der Membran nur in geringem Maße und auf den Anammox-Trägern gar nicht mit FISH nachgewiesen werden.

### **4.5 PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen**

Nachdem die partielle Nitrifikation als Vorstufe keine positiven Ergebnisse lieferte, wurde sich in der vorliegenden Arbeit auf ein Ein-Reaktor-System fokussiert. Denn dieses bietet die Vorteile der geringeren Investitionskosten, weniger komplexe Kontrollsysteme und eine geringere Gefahr der Inhibierung durch Nitrit bzw. salpetriger Säure (Giustinianovich et al., 2016).

#### **4.5.1 Etablierung des PN/A- Prozesses durch Verringerung des $\text{NO}_2\text{-N/NH}_4\text{-N}$ Verhältnisses**

Die Etablierung des PN/A bei  $18 \text{ }^\circ\text{C}$  erfolgte durch schrittweises Absenken des  $\text{NO}_2\text{-N/NH}_4\text{-N}$ -Verhältnisses über einen Zeitraum von ca. 160 Tagen in den Phasen M1 bis M8. Allerdings gab es längere Zeiträume mit technischen Störungen, welche den Prozess in die Länge gezogen haben. Es ist davon auszugehen, dass die Etablierung von PN/A um ein Viertel bis ein Drittel schneller möglich gewesen wäre. Somit sollte innerhalb von ca. 100 bis 120 Tagen eine funktionsfähige PN/A möglich sein. Es konnten schon stabile Ergebnisse nach 9 – 12 Tagen pro Phase erzielt werden (M4 – M8).

Daverey et al. (2015) konnten einen SNAD-Reaktor (**S**imultaneous partial **N**itrification, **A**namnox and **D**enitrification) in einem SBBR (**S**equencing **B**atch **B**iofilm **R**eactor) schon nach 51 Tagen vollständig in Betrieb nehmen. Die Betriebstemperatur lag bei 25 °C. Christensson et al. (2013) waren in der Lage bei 22 – 33 °C mit einem MBBR nach 4 Monaten die volle Leistungsfähigkeit erreichen. Huang et al. (2015) konnten bei 32 °C – 35 °C eine partielle Nitrifikation als Vorstufe für Anammox schon nach 25 Tagen etablieren. Wie zu erkennen ist, schwankte die Zeit bis zur gewünschten Leistungsfähigkeit beträchtlich. Hier beeinflussten eine Reihe von Faktoren die Ergebnisse, wie z. B. Reaktordesign, Temperatur, Schlammssystem, Granulars oder Biofilm. Hier war es allerdings auch nicht das Ziel, möglichst schnell auf Nitrit verzichten zu können, sondern möglichst viel Nitrit mittels der PN bereitzustellen, um die installierte Anammox-Biomasse ausreichend versorgen zu können. Dies konnte erreicht werden. Denn der Abbau durch PN/A stieg von 48,3 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> in M1 auf 88,8 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> in M6.

#### **4.5.2 PN/A in einem membranbelüfteten Festbettreaktor bei niedrigen Temperaturen (18 – 8 °C)**

#### **4.5.3 Einfluss der Temperatur auf den N-Gesamtabbau**

Die Abbauleistung bei 18 °C lag zwischen 47,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> (M13) und 51,7 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> (M11). Gilbert et al. (2014b) gelang es bei 20 °C 40 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> in einem MBBR abzubauen. Persson et al. (2014) nutzten ebenfalls einen MBBR und erreichten, bei 19 °C, 334 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Auch Kouba et al. (2016) verwendeten einen MBBR und konnten bei 22 °C noch 42 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> umsetzen. Lotti et al. (2014a) hingegen, erreichten eine Abbauleistung von 440 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> in einem Gas-Lift-SBR. Mit granulärem Schlamm konnten Lotti et al. (2015b) bei 19 °C 182 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abbauen. Li et al. (2016) konnten mit einem membranbelüfteten Reaktor (UMABR) bei 25 °C 77,6 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abbauen. Somit sind die in dieser Arbeit erzielten Abbauraten im unteren Bereich anzusiedeln, aber durchaus konkurrenzfähig.

Im Temperaturbereich zwischen 16 °C und 13 °C wurde zusätzlich ein Überdruck von 5 PSI auf den Schlauch gegeben. Somit sollte der Sauerstofftransfer erhöht werden und die Abbaurate ebenfalls verbessert werden (Li et al., 2016). Der Biofilm wurde in der Zeit nicht entfernt. Die N-Gesamt-Abbauraten waren trotz der Temperaturunterschiede fast konstant im Bereich zwischen 37,2 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> und 33,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Jedoch war die N-Gesamt-Abbauraten in der letzten Phase bei 18 °C noch bei 47,1 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Somit

führte die Druckerhöhung zu keiner Verbesserung der Abbauleistung, was allerdings mit der Temperaturabsenkung und dem voranschreitenden Biofilmbau zusammenhängen könnte. Zum Vergleich konnten Laureni et al. (2016) bei 15 °C in einem MBBR 30 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abbauen. Im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen sank bei Persson et al. (2014) in einem MBBR die Abbauleistung recht stark von 162 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> auf 110 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> zwischen 16 °C und 13 °C.

Der Bereich um 12 °C wird oftmals als Grenze der stabilen Prozessführung beschrieben (Gilbert, 2014; Gilbert et al., 2015; Hu et al., 2013; Laureni et al., 2016). Dahingegen konnte in dieser Arbeit ein Gesamtstickstoffabbau von bis zu 45,8 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> erreicht werden. Dies lag zwar zum Teil unter den Ergebnissen anderer Studien, wie bspw. von Hu et al. (2013) mit ca. 60 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> bei 12 °C. Die erzielte Abbauleistung erreichte jedoch das Niveau herkömmlicher Denitrifikationsanlagen (Laureni et al., 2016).

Durch die Absenkung der Temperatur auf 10 °C kam es im Vergleich zu 12 °C, zu keinen Einbußen im Stickstoffabbau (44,2 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>). Im Vergleich dazu erreichte der MBBR bei Gilbert et al. (2014b) noch 15 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Lotti et al. (2014a) erreichten hingegen noch 100 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> Abbaurate in einem Gas-Lift-SBR. Persson et al. (2014) erzielten bei sehr instabiler Prozessführung mit großen Schwankungen noch 34 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> Abbau. Die erzielten Werte sind also konkurrenzfähig und vor allem stabil. Im Gegensatz zu anderen Studien (Gilbert et al., 2014b; Persson et al., 2014) konnte hier über einen Zeitraum von 2 Monaten eine stabile PN/A durchgeführt werden. Denn später kam es bei Gilbert et al. (2014b) zu Nitritakkumulationen. Young et al. (2017) haben gezeigt, dass niedrige Temperaturen NOB in ihrer Anzahl reduzieren können. Hier war also ein Grund, für eine längere Stabilität nach Entfernung des Membranbiofilms zu sehen.

Der N-Gesamt-Abbau sank bei 8 °C, im Vergleich zu 9 °C (40,7 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>), nur auf 37,9 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Weiterhin wurde bei 8 °C die Zulaufkonzentration auf 145 mg NH<sub>4</sub>-N \*L<sup>-1</sup> gesenkt. Somit konnten Ablaufkonzentrationen auf bis zu 12,5 mg NH<sub>4</sub>-N \*L<sup>-1</sup> gesenkt werden. Damit lagen die Ablaufwerte in der Nähe der geforderten Ablaufqualität von realen Kläranlagen. In der Literatur werden niedrige Zulauf- Ablaufkonzentrationen ebenfalls als Herausforderung dargestellt (Gilbert, 2014; Laureni et al., 2015). Es konnte gezeigt werden, dass die Abbauleistung, im Vergleich zur vorherigen Phase mit erhöhten Zulaufkonzentrationen, auf 34,7 mg N \*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> abgesunken war, was weniger als 9 % Verlust entsprach. Folglich scheint auch eine Behandlung mit niedrigen Ablaufwerten potenziell möglich.

Insgesamt war der Einfluss der Temperatur relativ gering. Die Ergebnisse bei 12 °C erreichten noch 85,6 % und bei 8 °C wurden noch 72,1 % der Abbauleistung von 18 °C

erreicht. Die Temperatur schien also bei dem hier verwendeten PN/A-Prozess im Gegensatz zu anderen Studien, einen weniger starken Einfluss zu haben. Bei Gilbert et al. (2014b) sank von 20 °C auf 10 °C die Abbauleistung von 40 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> auf 15 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> wesentlich stärker ab, was einer Abnahme von 62,5 % entspricht. Ähnliches galt für Lotti et al. (2014a), hier sank die Abbauleistung ähnlich stark von 20 °C (440 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>) auf 100 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> bei 10 °C ab (-77,2 %). Bei Persson et al. (2014) sank die N-Gesamt-Abbauleistung von 334 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> bei 19 °C auf 34 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> bei 10 °C bei instabiler Prozessführung um fast 90 %. Andererseits wiesen Pellicer-Nàcher et al. (2010), sowie Zhu & Chen (2002) nach, dass nitrifizierende Biofilme weit weniger temperaturanfällig sind als Flockensysteme.

Es bleibt zu beachten, dass das System sauerstofflimitiert war. Somit konnte es natürlich dazu kommen, dass das System bei höheren Temperaturen nicht die volle Leistung entfalten konnte.

#### **4.5.4 Einfluss der Temperatur auf die Nitratbildung**

Die Nitratbildung ist weniger stark von der Temperatur als vom Biofilmalter und der Biofilmdicke abhängig. Bei 18 °C stieg die Nitratbildung immer weiter auf etwa 25 % an. Danach kam es zu einem Sprung zwischen 18 °C und 16 °C mit einem relativ stabilen Niveau bis zu 13 °C. Bei 12 °C stieg die Nitratbildung nochmal stark auf über 50 %. Nach Entfernung des Membranbiofilms bei 12 °C halbiert sich später die Bildung von Nitrat. Dies erklärt die höhere Nitratbildung bei 13 °C bis 16 °C da hier mit einem Membranbiofilmalter gearbeitet wurde. Auch bei 10 °C bis 8 °C blieb die Bildung fast konstant niedrig. Die Nitratbildung war im Bereich zwischen 12 °C und 8 °C sogar mit 22,6 % im niedrigen Temperaturbereich etwas niedriger als bei 18 °C (23,0 %).

Hier schien die Temperatur keinen Einfluss auf die Nitratbildung zu haben.

Isanta Eduardo et al. (2015) untersuchten die partielle Nitrifikation ohne Anammox in einem Gas-Lift-Reaktor und hatten bei 20 °C bzw. 15 °C nur 0,3 mg NO<sub>3</sub>-N\*L<sup>-1</sup> bzw. 0,4 mg NO<sub>3</sub>-N\*L<sup>-1</sup> im Ablauf des Reaktors. Bei 12,5 °C stieg die Nitratkonzentration auf 2,5 mg NO<sub>3</sub>-N\*L<sup>-1</sup> was nur 3,5 % des umgesetzten Ammoniums entsprach. Auch hier war der Einfluss der Temperatur eher gering. Gilbert (2014) untersuchte mehrere Ansätze auf deren Verhalten bei Temperaturabsenkungen von 20 °C auf 10 °C. Dort kam es zu relativ geringen Nitratbildungsraten von 5 % bei suspendierter Biomasse, ebenso wie bei granulierter Biomasse. Bei MBBR mit 2 mm breiten Aufwuchsträgern bildeten sich bei 10 °C 14 % und bei 10 mm breiten Trägern 11 % Nitrat. Diese Werte wirkten sehr vielversprechend. Allerdings lagen die Nitritbildungsraten bei 61 % für suspendierte Biomasse

und bei 46 % bei granulierter Biomasse. 2 mm breite Träger erreichten 28 % Nitritbildung. Es fand also eine ungewollte Nitritakkumulation statt. Nur 10 mm Träger (Kaldnes K1) waren mit 4 % Nitritbildung als positiv zu bewerten. Nitritakkumulation war in der vorliegenden Arbeit im gesamten Untersuchungszeitraum praktisch nicht vorhanden, mit Ausnahme von M18. Dort wurde der Biofilm entfernt und es kam zu erhöhten Sauerstoffkonzentrationen. Es kann also davon ausgegangen werden, dass mit dem Reaktor-design dieser Arbeit eine Anammox-Inhibierung sehr unwahrscheinlich war.

#### **4.5.5 Einfluss der Belüftungsstrategie**

Eine Verkürzung der Belüftungspausen bei 18 °C von 30 auf 3 Minuten sollte die Abbauleistung steigern, da mehr Sauerstoff zur Verfügung gestellt wurde. Doch der N-Gesamt-Abbau sank um ca. 10 %. Und der Anteil des gebildeten Nitrats im Verhältnis zum abgebauten Ammonium verdoppelte sich fast von 12,1 % auf 21,2 %. Weiterhin führte Dauerbelüftung zwar zu einer Steigerung des N-Gesamt-Abbaus um 25 %, allerdings stieg auch das gebildete Nitrat weiter auf 23,3 % an. Bei 12 °C wirkte sich eine Dauerbelüftung ebenfalls negativ auf die PN/A aus, was auch durch Gilbert et al. (2014a) bestätigt wurde. Bei Pellicer-Nàcher et al. (2010) wurde bei kontinuierlicher Belüftung sogar bis zu 95 % des gebildeten Nitrits weiter zum Nitrat oxidiert. Miao et al. (2016) konnten in einem bei 32 °C betriebenen SBR nach einer 100-tägigen Dauerbelüftungsstrategie mit niedrigen Sauerstoffkonzentrationen ( $0,17 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ) die Nitratkonzentration mittels einer intermittierenden Belüftung (7 min an – 21 min aus) stark, von  $30,8 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$  auf  $2,1 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ , reduzieren. Eine Verringerung des anteilig gebildeten Nitrats durch Wiedereinführung von Belüftungspausen gelang in der vorliegenden Arbeit nicht mehr. Sie stieg weiter leicht auf bis zu 25,3 % an. Der N-Gesamt-Abbau sank wieder auf das Niveau von 3 Minuten und 30 Minuten Belüftungspause. Dies widerspricht der Literatur, denn Y. Ma et al. (2017) empfahlen auch die Manipulation der Belüftungsdauer und der –pausen zur Unterdrückung von NOB, wohingegen geringe Sauerstoffkonzentrationen ohne intermittierende Belüftung nicht erfolgreich waren. Pellicer-Nàcher et al. (2010) konnten in membranbelüfteten Reaktoren bei 25 °C – 32 °C mittels intermittierender Belüftung ebenfalls die Nitratbildung auf unter 10 % absenken. Allerdings wurde jeweils 12 Stunden belüftet und 24 Stunden pausiert, was wesentlich länger als die hier verwendeten und die von Gilbert (2014) empfohlenen Intervalle (mind. 18 min Belüftungspause) war. Auch das anteilig gebildete Nitrat blieb relativ konstant. Pellicer-Nàcher et al. (2014) konnten bei 32 °C durch intermittierende Belüftung die Zahl der NOB stark reduzieren und AOB sowie Anammox anteilig stark anreichern. In der vorliegenden Arbeit wirkte

sich dieser Effekt nicht auf das Abbauverhalten aus. Vielleicht war die Länge der einzelnen Phasen zu kurz, um einen spürbaren Effekt zu messen. Andererseits konnte sich der Anteil an Nitrat in sehr kurzer Zeit erhöhen. Es deutet sich an, dass die Belüftungslänge eine weniger wichtige Rolle spielt (Vgl. M12 und M13), als die Pause (Vgl. M9 und M10). Unterstützt wird diese These durch die Erkenntnisse bei 8 °C. Dort wurde die Belüftungsdauer aufgrund von erhöhten Sauerstoffkonzentrationen auf 5 Minuten halbiert. Der N-Gesamt-Abbau hat sich trotz der Halbierung im Vergleich zu 9 °C ( $40,7 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) nur auf  $37,9 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  verringert.

Niedrige Sauerstoffkonzentrationen (unter  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) waren in dieser Arbeit bei niedrigen Temperaturen essentiell für eine funktionierende PN/A. Kouba et al. (2016) unterstützen durch ihre Beobachtungen diese Forderung. Sie stellten fest, dass die Absenkung der Sauerstoffkonzentration (auf  $0,4 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ) zwar die Aktivität der AOB senkt und sie zum limitierenden Faktor machte, aber die N-Gesamtabbauleistung aufgrund höherer Anammox-Aktivität stieg. Kouba et al. (2016) bestätigen also die eigenen Beobachtungen, dass niedrige Sauerstoffkonzentrationen im Niedrigtemperaturbereich essenziell waren.

Zusammenfassend muss berücksichtigt werden, dass die Sauerstoffkonzentrationen niedrig sein müssen, das heißt unterhalb von  $0,2 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ . Zum anderen müssen Belüftungspausen eingehalten werden, um das Voranschreiten der Nitratbildung zu minimieren. Die Länge der Belüftungsphase hat nur untergeordnete Rolle auf den N-Gesamt-Abbau.

#### **4.5.6 Einfluss des Biofilmtalters bzw. der Biofilmdicke**

Die Membran-Biofilmdicke bzw. das Membran-Biofilmtalter hatte einen großen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit der PN/A.

So trat bei 12 °C und einem Biofilmtalter von über 200 Tagen eine starke Nitratbildung von über 50 % auf. Picioreanu et al. (2016) gaben eine mögliche Erklärung dafür. Laut ihnen neigen AOB zu größeren Clustern als NOB. AOB nehmen zudem Sauerstoff schneller auf. Dies kann zu lokalen Sauerstoffminima aufgrund zu geringer Diffusion führen. Somit können AOB wegen ihrer höheren Sauerstoffaffinität und der größeren Cluster in ihrer Aktivität gehemmt sein, da sie den Sauerstoff zu schnell verbrauchen bzw. er nicht tief genug in die Cluster eindringen kann. Im Endeffekt bedeutet dies, dass die NOB-Cluster eine höhere Affinität aufweisen können als AOB-Cluster. Zudem wurde vermutlich der Großteil des gebildeten Nitrits von den NOB sofort verbraucht ohne in die Wasserphase überzugehen und Anammox zur Verfügung gestellt zu werden. Die Dicke

des Biofilms führte zu einem geringeren Übergang des Nitrits in die Wasserphase (Wang et al., 2009). Eine Verbesserung der Abbauleistung konnte in dieser Arbeit stets beobachtet werden, sobald der Biofilm entfernt wurde. Denn dann entwickelte sich der Biofilm vom Initialstadium her, was zu geringeren Nitratbildungsraten führte (z. B. bei 12 °C, 10 °C und 8 °C). Doch die Entfernung des Biofilms konnte schnell zu erhöhten Sauerstoffkonzentrationen führen (z. B. bei 12 °C und 8 °C). Die erhöhten Sauerstoffkonzentrationen führten zu einer stärkeren Bildung und Akkumulation von Nitrit. Grund hierfür waren zum einen, eine Hemmung von Anammox durch den Sauerstoff (Joss et al., 2011; Oshiki et al., 2011) und zum anderen das Fehlen von NOB durch die Entnahme des Biofilms, was allerdings gewollt war. Erkennbar wurde die Hemmung von Anammox an der nicht vorhandenen Absenkung der N-Gesamt-Fracht im Ablauf. Bei adäquater Belüftung konnten allerdings niedrige Nitratbildungsraten erreicht werden (z.B. bei 12 °C, 10 °C und 8 °C)

Diesen Effekt beschrieben Lackner & Smets (2012). Die Wachstumsraten der Bakterien waren der entscheidende Faktor bei der Etablierung einer membranbasierten partiellen Nitrifikation. Da AOB ohne Diffusionsbeschränkungen sauerstoffaffiner als NOB sind (Jubany et al., 2008; Wiesmann, 1994), besitzen sie gerade zu Beginn der Biofilmbildung einen Vorteil gegenüber NOB. Anammox kann das Nitrit verbrauchen bevor NOB dieses nutzen können. Hier spielte auch die Biofilmdicke eine wichtige Rolle.

Wang et al. (2009) verglichen das Biofilmwachstum und die Bildung von Nitrit und Nitrat bei Biofilmen, die mit Sauerstoff aus der Reaktorflüssigkeit versorgt wurden und bei Biofilmen die über eine Membran belüftet wurden. Der membranbelüftete Biofilm konnte weniger Nitrit akkumulieren und es bildete sich mehr Nitrat. Verantwortlich dafür war das Aufwachsen der AOB und NOB direkt an der Membranoberfläche. Diesbezüglich scheint also eine Belüftung über die Membran nicht optimal gewesen zu sein. Allerdings traten bei Wang et al. (2009) erhebliche Massenbilanzfehler auf, welche mit eventueller Anammox-Aktivität in Verbindung gebracht wurden. In diesem Fall wäre die Membranbelüftung im N-Gesamt-Abbaupotential überlegen. Pellicer-Nàcher et al. (2014) stellten ebenfalls ein starkes Aufwachsen von AOB und NOB direkt an der Membran fest, wobei Anammox in den äußeren Bereichen des Biofilms anzutreffen war. Der membranbelüftete Biofilm bei Wang et al. (2009) wuchs viel dicker auf (887 µm anstatt 107 µm dick). Die Biofilmdicke sollte aber nicht über 500 µm betragen, da sonst der Ammoniumabbau zurückgeht. Die Biofilmdicke schien allerdings keinen Einfluss auf die Nitritproduktion zu haben. Ab einer Dicke von 200 µm war die Reaktorflüssigkeit sauerstofffrei (Wang et al., 2009). Shanahan & Semmens (2015) konnten ebenfalls nach 300 µm Biofilm keinen Sauerstoff mehr detektieren und dies bei Sauerstoff(über)sättigung an der Membran. Bei

Y. Ma et al. (2017) konnte der Sauerstoff nur 60  $\mu\text{m}$  in den Biofilm eindringen. Diese Ergebnisse zeigten die gute Sauerstoffabschirmung durch den Membranbiofilm und somit den Schutz von Anammox auf dem Trägermaterial. Zudem führten zu mächtige Membran-Biofilme zu Verlusten beim Massentransfer und somit zu einer Verschlechterung der Leistungsfähigkeit (Hamdi, 1995; Stewart, 2003). Dies gab NOB ebenfalls mehr Zeit, das gebildete Nitrit zu verbrauchen (Wang et al., 2009). Auch Piculell et al. (2015) konnten in vollständig nitrifizierenden MBBR feststellen, dass dünne Biofilme (dort < 200  $\mu\text{m}$ ) die Nitratbildung senkten, selbst bei erhöhten Sauerstoffkonzentrationen. Des Weiteren stellten sie fest, dass dickere Biofilme nicht den Ammoniumabbau befördern, d. h. nicht besser nitrifizierten. Somit ist hier ein weiterer Grund gegen dickere Biofilme gegeben. Torresi et al. (2016) stellten ebenfalls bei nitrifizierenden MBBR keine Steigerung des Ammoniumabbaus bei über 200  $\mu\text{m}$  Biofilmdicke fest.

Diese Erkenntnisse unterstützen die eigenen Beobachtungen. Die Trennung des AOB/NOB-Biofilms auf der Membran von dem Anammox-Biofilm auf den offenporigen Festbettträgern, im Gegensatz zu anderen Studien (Pellicer-Nàcher et al., 2014), wirkte sich sehr positiv aus und konnte die weiter oben beschriebenen Effekte nutzen. Die AOB und NOB auf der Membran erhielten das beste Sauerstoffangebot und verbrauchten diesen auch. Somit waren die Sauerstoffkonzentrationen in der Reaktorflüssigkeit sehr gering. Dies schützte die Anammox-Bakterien auf den Schaumstoffträgern vor Inhibierung und erschwerte gleichzeitig die Ansiedlung von AOB und NOB und verhinderte die Möglichkeit des Überwachsens der Anammox-Bakterien. Das Belüftungsregime verringerte die Chance des Aufwachsens von NOB zusätzlich (Gilbert, 2014). Allerdings wirkten sich in der vorliegenden Arbeit alte bzw. dicke Membranbiofilme negativ auf den Abbau aus. Es kam zu erhöhter Nitratproduktion und somit zu einer verringerten N-Gesamt-Abbauleistung. Bei Almstrand et al. (2014) dauerte es in einem MBBR bei neu eingesetzten Trägern fünfeinhalb Monate bis die Dominanz der AOB der von Anammox gewichen war, da erst dann genügend anoxische Zonen im Biofilm entstanden waren. Auf diesen Trägern waren die Sauerstoffkonzentrationen anfänglich noch hoch, was Anammox hemmte. Bei dem hier genutzten System war die Sauerstoffhemmung ein weit geringeres Problem. Und somit konnte PN/A schneller die volle Leistungsfähigkeit erreichen. Zhang et al. (2016) verglichen die PN/A-Leistungsfähigkeit von Belebtschlamm und einem Biofilmsystem bei 14 °C bis 16 °C in einem SBR. Das Biofilmsystem war aufgrund des schlechteren Massentransfers weniger leistungsstark, aber es produzierte weniger Nitrat. Als Grund wurde ein Unterschied in der Biozönose angegeben. *Nitrobacter* wurde nicht im Biofilm entdeckt, dafür eine größere Vielfalt an *Nitrospira*-Bakterien. Diese Erkenntnis spricht ebenfalls für die Nutzung von Biofilmen.

In dieser Arbeit konnte der Zusammenhang zwischen Biofilmbildung auf der Belüftungsmembran und dem Abbauvermögen bzw. der Nitratbildung des Reaktors deutlich gemacht werden. Es zeigte sich, dass der N-Gesamt-Abbau bzw. die Nitratbildung direkt abhängig vom Biofilmbildung waren. In den ersten 90 Tagen konnten im beobachteten Temperaturbereich vergleichbar gute Ergebnisse erzielt werden (Mittelwert 22,0 % Nitratbildung). Wobei in den ersten 30 Tagen die Ergebnisse am besten waren und darauf folgend leicht abfielen. Danach verschlechtern sich die Ergebnisse stetig. Zwischen 121 Tagen und 210 Tagen Biofilmbildung lag der Mittelwert bei 34,7 %. Wobei die Nitratbildung im Temperaturbereich unter 12 °C deutlich langsamer anstieg. Allgemein lag die Nitratbildung vergleichsweise hoch, denn theoretisch sollten nur 11 % gebildet werden (De Prá et al., 2016). Li et al. (2016) konnten ebenfalls mit einem membranbelüfteten Reaktor, allerdings bei 25 °C betrieben, eine Nitratbildung von 8 % erreichen, was auf zusätzliche Denitrifikationsprozesse hindeutete. Ein ähnliches Bild zeigte sich auch beim N-Gesamt-Abbau. Auch hier war in den ersten 30 Tagen mit  $45,5 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  der stärkste Abbau möglich, welcher darauffolgend leicht sank und sich zwischen 91 Tagen und 210 Tagen auf einem Niveau von 33,1 bis  $35,8 \text{ mg NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  einpendelte. Es wird daher empfohlen spätestens nach 90 Tagen den Biofilm zu entfernen. Bei Temperaturen unter 12 °C ist eine längere Wachstumszeit auch noch vertretbar ohne stärkere Leistungseinbußen hinnehmen zu müssen.

#### 4.5.7 Einfluss des IC und des pH-Wertes

Shanahan & Semmens (2015) stellten starke pH-Absenkungen innerhalb von vollständig nitrifizierenden membranbelüfteten Biofilmen fest und empfahlen ein  $\text{CO}_3/\text{NH}_4\text{-N}$ -Verhältnis von 2. Zudem entwich das gebildete  $\text{CO}_2$  über die Membran, was eine Absenkung der Karbonat-Konzentration außerhalb des Biofilms zur Folge hatte. Dies könnte zu einer Inhibierung der AOB geführt haben, denn Seuntjens et al. (2017) stellten fest, dass eine IC-Limitierung AOB stärker inhibiert als NOB. Es wurden mindestens  $3 \text{ mmol C}\cdot\text{L}^{-1}$  empfohlen. IC-Limitierung war allerdings kein Problem in dieser Arbeit. Die Ablaufwerte waren mit etwa  $100 \text{ mg C}\cdot\text{L}^{-1}$  bzw.  $7,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  mehr als doppelt so hoch. Y. Ma et al. (2017) stellten ebenfalls innerhalb eines membranbelüfteten Biofilms stärkere pH-Änderungen ( $\pm 0,6$ ) fest, als sie in der Wasserphase ( $\pm 0,2$ ) auftraten. In den ersten 15 Minuten einer Belüftungsphase stieg der pH an, da akkumuliertes  $\text{CO}_2$  zur Membran diffundierte. Danach sank der pH-Wert aufgrund der Protonenbildung durch die Ammoniumoxidierung. In der vorliegenden Arbeit wurde meist nicht länger als 10 Minuten belüftet, somit

sollte sich der pH-Wert nicht negativ auswirken. Es könnte zu positiven Effekten gekommen sein, da ein Anstieg des pH-Wertes die AOB bevorteilte (Y. Ma et al., 2017).

#### 4.5.8 Alternative Ansätze

Bian et al. (2017) regelten die Belüftung eines MBBR nach dem Verhältnis von gelösten Sauerstoff zu  $\text{NH}_4\text{-N}$  im Reaktor. Bei 6 °C konnten sie mit einem Verhältnis von 0,17 bei (6,4 mg  $\text{O}_2\cdot\text{L}^{-1}$  und 21,5 mg  $\text{NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$ ) eine stabile Nitritation gewährleisten. Diese Studie deutet darauf hin, dass nicht nur die niedrigen Sauerstoffkonzentrationen wichtig sind, sondern auch das Verhältnis zu Ammonium. Dieser Ansatz ist zwar vielversprechend, müsste dann allerdings als zweistufiges Verfahren ausgeführt werden, da Anammox bei solch hohen Sauerstoffkonzentrationen gehemmt wird (Carvajal-Arroyo et al., 2013).

Eine Optimierung der Betriebskosten versprach die Belüftung mit geschlossenem Membranende. Es wurde allerdings von Perez-Calleja et al. (2017) ein periodisches Öffnen der Membranenden empfohlen, um gebildeten Stickstoff abzuführen und somit die Effizienz zu erhöhen.

Einen weiteren alternativen Ansatz zur Unterdrückung von NOB testeten Piculell et al. (2016). Sie verglichen unterschiedlich dicke Biofilme (400  $\mu\text{m}$  und 50  $\mu\text{m}$ ). Diese Biofilme waren nitrifizierend und wurden unter Hauptstrombedingungen betrieben und periodisch mit Schlammwasser aus Faultürmen beschickt. Die damit einhergehenden erhöhten Ammoniakkonzentrationen führten zu einer wesentlich stärkeren Hemmung der NOB bei dem Biofilm mit 50  $\mu\text{m}$  Dicke. Da die Schutzfunktion des Biofilms geringer war und somit NOB nachhaltig gehemmt wurden.

Des Weiteren beschrieben Y. Ma et al. (2017), dass auch bei Zulaufkonzentrationen von 75 mg  $\text{NH}_4\text{-N}\cdot\text{L}^{-1}$  der pH-Wert und damit der Anteil von Ammoniak der entscheidende Parameter zur Hemmung von NOB war. Kürzere Belüftungs- und Ruheintervalle (1 h-Intervalle) waren ebenfalls förderlich.

#### 4.5.9 Zusammenfassung Niedrigtemperaturreaktor

Die Abbauleistung sank im Temperaturbereich von 18 °C zu 8 °C um lediglich 27,9 % (36,3 mg  $\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Bei 12 °C lag die Abbauleistung noch bei 84,2 % (43,1 mg  $\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). Das Membranbiofilmalter spielte eine wichtige Rolle bei der Nitratbildung und beim N-

Gesamt-Abbau. Es sollte nicht länger als 90 Tage betragen, um die optimalen Abbauraten zu ermöglichen. Es sei denn man bewegt sich im Temperaturbereich unter 12 °C. Dort könnten auch längere Biofilmmalter aufgrund des langsameren Wachstums zu befriedigenden Ergebnissen führen. Im Mittel lag die Nitratbildung in den ersten 90 Tagen bei 22,0 %. Wohingegen im Zeitraum zwischen 121 und 210 Tagen der Mittelwert bei 34,7 % lag. Dies bedeutet auch, dass das System, verglichen mit den theoretisch 11 % gebildeten Nitrats (De Prá et al., 2016), relativ hohe Werte erreichte. Das nitratreiche Wasser könnte allerdings in einer späteren Anwendung durch Rückführung für eine vorgeschaltete Denitrifikation genutzt werden, um somit Belüftungsenergie für den Kohlenstoffabbau einzusparen.

Es stellte sich heraus, dass die Belüftungsdauer kaum einen Einfluss auf den N-Gesamt-Abbau hatte. Dauerbelüftung konnte zwar den N-Gesamt-Abbau steigern, führte allerdings zu erhöhter Nitratbildung. Und wird daher nicht als nachhaltig angesehen. Somit waren Belüftungspausen wichtig, um die Nitratbildung möglichst lang auf einem niedrigen Niveau zu halten.

Die räumliche Trennung von AOB und NOB einerseits und Anammox andererseits machten dieses Biofilmsystem flexibel. Denn die Anammox-Bakterien waren auf ihren Trägern vor hohen Sauerstoffkonzentrationen geschützt und andererseits bot die Belüftungsmembran gute Aufwuchsbedingungen für AOB aber auch NOB. Dieser Fakt wurde allerdings durch Belüftungspausen abgeschwächt, sodass NOB auf erschwerte Bedingungen trafen. Sobald der Biofilm zu dick wurde und die Nitratbildung zu hoch wurde, konnte der Biofilm einfach mechanisch von der Membran entfernt werden und der Prozess der erneuten Biofilmbildung auf der Membran begann erneut. Es musste lediglich, darauf geachtet werden, dass die Sauerstoffkonzentrationen im Reaktor niedrig blieben, da sonst eine Hemmung von Anammox auftreten konnte. Die Trennung der Nitrifikanten von den Anammox-Bakterien auf verschiedenen Trägersystemen wurde bis jetzt noch nicht in der Literatur dargestellt.

## **4.6 Membrabelüfteter PN/A-Reaktor mit erhöhten Salzkonzentrationen**

Ziel war es, eine stabile PN/A bei erhöhten Salzkonzentrationen (15 und 30 g NaCl·L<sup>-1</sup>) zu erreichen.

In Phase MS1 wurden die, mit Anammox bewachsenen, Biomasseträger eingesetzt. Diese Phase ist als Initialphase bzw. als Etablierungsphase des Systems anzusehen. Dies ist an der verhältnismäßig geringen Abbauleistung ( $19,7 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) zu erkennen. Zudem stieg der N-Gesamt-Abbau pro Tag um  $0,344 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1}$  an. Dahingegen sank die Nitratbildung (23,1 %) um täglich 0,187 %. Mit der Erhöhung der HRT und der gleichzeitigen Etablierung des Prozesses konnte noch einmal der Abbau auf  $33,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  gesteigert werden. Giustinianovich et al. (2018) konnten PN/A in einen SBR nach 40 Tagen etablieren. In der vorliegenden Arbeit endete die Etablierungsphase nach 48 Tagen, also nach einem vergleichbaren Zeitraum. Giustinianovich et al. (2018) erzielten diese schnelle Etablierung indem sie Anammox direkt den, von ihnen genutzten,  $18 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  aussetzten. Eine langsame Akklimatisierung führte hingegen zu einer fast vollständigen Inhibierung der Anammox-Bakterien. Bei Val del Rio et al. (2018) führte eine plötzliche Erhöhung der Salzkonzentration auf  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  bei der genutzten granulären Biomasse zu einem Versagen des PN/A Prozesses und es wurde im Anschluss eine erfolgreiche stufenweise Adaptierung durchgeführt. Diese Ergebnisse widersprachen den Erkenntnissen dieser Arbeit, in denen der Unterschied zwischen adaptierter und nicht adaptierter Anammox-Biomasse gering war (Vgl.4.5). Die Schock-Adaptierung an die  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  in MS1 erfolgte aber auch hier problemlos. Der N-Gesamt-Abbau erreichte bei Giustinianovich et al. (2018)  $29 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . Somit lagen die eigenen N-Gesamt-Abbauraten in einer ähnlichen Größenordnung (MS2:  $33,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ; MS5:  $32,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Es wird noch einmal darauf hingewiesen, dass das Volumen des Reaktors nur zum Teil mit Aufwuchsträgern und Belüftungsmembranen genutzt wurde. Höhere Abbauraten sollten also möglich sein. Malovany et al. (2015a) nutzten einen MBBR um die PN/A durchzuführen. Sie erhöhten schrittweise die NaCl-Konzentration um 2,5 bis  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Bei  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  hatte die SAA um 85 % abgenommen. Dies sprach zum einen dafür, dass die Adaptierung über eine längere Zeit keinen Vorteil bot (Giustinianovich et al., 2018) und zum anderen steht diese starke SAA-Abnahme im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen bei denen die Aktivität bei 15 g noch sehr ähnlich der initialen SAA war (Vgl.4.5).

Der Einsatz von TOC kann im Idealfall die Leistungsfähigkeit eines PN/A Reaktors steigern indem das gebildete Nitrat zusätzlich durch heterotrophe Denitrifikanten mit Hilfe des TOC reduziert wird (Giustinianovich et al., 2016). Die Zusammenführung von partieller Nitrifikation, Anammox und Denitrifikation wird auch als SNAD (**S**imultaneous **N**itrification, **A**nammox and **D**enitrification) bezeichnet. Die Ergebnisse dieser Arbeit konnten diese These nicht belegen, denn MS2 ohne TOC ( $33,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) und MS5 mit  $40 \text{ mg TOC} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $32,0 \text{ mg N} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) erreichten fast identische Resultate im N-Gesamt-Abbau.

Es bleibt allerdings festzuhalten, dass die Nitratbildung mit 14,1 % gegenüber 20,8 % deutlich niedriger war. Zudem wurde die maximale theoretische heterotrophe Denitrifikationskapazität ermittelt (Giustinianovich et al., 2018; Val del Rio et al., 2018). Die Nitratbildung bei den Phasen mit 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> und auch die Ablaufkonzentrationen zeigten keinen einheitlichen Trend. Hier schien es eher einen Zusammenhang mit dem Biofilmmalter zu geben. Die Korrelation zwischen der maximalen theoretischen Denitrifikationskapazität und den Nitratlaufkonzentrationen war für die Phasen MS3 – MS5 und MS7 ebenfalls sehr schwach. Deshalb kann geschlossen werden, dass ein Großteil des TOC nicht für die Denitrifikation verwendet wurde, denn Denitrifikanten sind meist fakultative Anaerobier und bevorzugen Sauerstoff als Elektronenakzeptor (Probian et al., 2003). Bei 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup> wurde das gesamte Nitrat abgebaut. Es sank aber auch die N-Gesamt-Abbauleistung, mit 18,8 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>, auf das niedrigste Niveau. Was ebenfalls dafür spricht, dass der Sauerstoff von Heterotrophen verbraucht wurde. Val del Rio et al. (2018) stellten bei 200 mg TOC\*L<sup>-1</sup> im Zulauf und Salzkonzentrationen von 7 – 9 g NaCl\*L<sup>-1</sup> eine Destabilisierung des gesamten PN/A-Prozesses fest. In der vorliegenden Arbeit kann zwar von einer Minderung der Leistungsfähigkeit, aber noch nicht von einer Destabilisierung gesprochen werden. Im Reaktor konnte in MS6 verstärkter Biomasseaufwuchs detektiert werden. Es ist also durchaus möglich, dass noch höhere TOC-Konzentrationen (>100 mg TOC\*L<sup>-1</sup>) zu stärkeren Beeinträchtigungen führen könnten. Die Umstellung auf eine Betriebsweise ohne TOC (MS7) führte zu leichten Verbesserungen der N-Gesamt-Abbauleistung. Der etablierte Biofilm auf dem Belüftungsschlauch verhinderte allerdings eine starke Steigerung der Abbauleistung (Torresi et al., 2016). Die Verdopplung der Salzkonzentrationen hatte keinen negativen Einfluss auf die N-Gesamt-Abbauleistung. Hier hätten die eigenen Ergebnisse durchaus eine Verringerung der Abbauleistung nahe gelegt (Vgl.4.5). Eine plausible Erklärung ist, dass die Anammox-Biomasse aufgrund der Sauerstofflimitierung und somit begrenzten Nitrit-Bereitstellung bei 15 g NaCl\*L<sup>-1</sup> noch nicht an ihrer maximalen Aktivität war und es somit zu keinem Leistungseinbruch bei 30 g NaCl\*L<sup>-1</sup> kam. Das Membran-Biofilmmalter hatte auch in diesem Reaktor starken Einfluss auf die Abbauleistung.

Schon innerhalb der ersten 30 Tage war eine Abnahme ersichtlich, welche bis zu 60 Tagen weiter sank, und dann im Intervall zwischen 61 und 90 Tagen einen Wert von 21,6 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup> erreichte. Diese Abbauleistung blieb bis zum letzten gemessenen Intervall (181-210 Tage) nahezu konstant und schwankte nur leicht zwischen 19,9 und 21,6 mg N\*L<sup>-1</sup>\*d<sup>-1</sup>. Das heißt, man kann ab einem Biofilmmalter von 90 Tagen von einem etablierten Biofilm sprechen, der sich nicht mehr wesentlich in Bezug auf die Abbauleistung ändert.

Die hohen Temperaturen forcierte die Aktivität und damit letztendlich auch die Wachstumsrate von Bakterien (Alawi et al., 2009; Grunditz and Dalhammar, 2001). Dies führte folglich zu einer schnellen Besiedlung der Belüftungsmembran. Der Biofilm gab auch NOB die Möglichkeit aufzuwachsen, welche Nitrat bildeten. Die höhere Wachstumsrate der AOB bei Temperaturen von über 25 °C (Hellinga et al., 1998), konnte deshalb nicht vollständig ein Aufwachsen von NOB verhindern. Des Weiteren wurde im salinen Reaktor auch teils TOC hinzudosiert, welches das Wachstum von heterotrophen Bakterien forcierte und somit ebenfalls den Biofilm schnell aufwachsen ließ. Die schnelle Etablierung eines dicken Biofilms verringerte die Bildung (Torresi et al., 2016) und die Diffusion des Nitrits durch den Biofilm in das Reaktorwasser und folglich zu den Anammox-Bakterien (Hamdi, 1995; Stewart, 2003).

In diesem Reaktor war die Auswirkung des Biofilmalters nicht klar erkennbar. Die Ergebnisse waren durch die Nutzung von TOC im Nährmedium stärker verfälscht. Bei Außerachtlassung der Phasen mit TOC-Nutzung ergab sich kein ansteigender Trend. Doch bei den Phasen mit 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> war durchaus ein Anstieg der Nitratbildung mit steigendem Biofilmalter vorhanden. Ein Grund für das gleichbleibende Niveau bei den Phasen ohne TOC könnte die Temperatur von 30 °C gewesen sein, welche AOB und NOB ihre maximale Aktivität erlaubte (Grunditz and Dalhammar, 2001). Die Konstanz der Nitratbildung korrelierte möglicherweise mit den höheren Wachstumsraten der AOB bei dieser Temperatur (Hellinga et al., 1998). Der Anstieg der Nitratbildung bei 40 mg TOC\*L<sup>-1</sup> war auf ein schnelles Anwachsen der Biofilmdicke zurückzuführen. Im Biofilm saßen verhältnismäßig viele heterotrophe Bakterien, die TOC und Sauerstoff zehrten. Das gebildete Nitrit diffundierte aufgrund der schlechteren Diffusion weniger stark in die Reaktorflüssigkeit, somit wurde Anammox nur unzureichend mit Nitrit versorgt (Piculell et al., 2015; Wang et al., 2009). Folglich konnte das Nitrit eher im Biofilm zu Nitrat aufoxidiert werden. Nun war allerdings kein TOC mehr vorhanden, um das gebildete Nitrat mittels heterotropher Denitrifikation abzubauen.

Kinh et al. (2017a, 2017b) konnten feststellen, dass membranbelüftete Nitrifikations/ Denitrifikationsreaktoren geringere Mengen N<sub>2</sub>O produzierten als klassische Biofilme. Somit konnte auch für diese Arbeit angenommen werden, dass die durch Denitrifikation verursachten Lachgasemissionen verhältnismäßig gering waren.

## 4.7 Salztoleranz von adaptierter und nicht adaptierter Anammox-Biomasse

Es sollte geprüft werden, ob bzw. wie gut Anammox-Bakterien Salzschocks tolerieren können. Oder wie viel besser adaptierte Bakterien mit hohen Salzkonzentrationen umgehen können. Der Hintergrund für diese Untersuchung sind viele Industrieabwässer, die mit hohen Salzkonzentrationen belastet sind.

Die adaptierte Biomasse erreichte ihre höchste SAA bei  $10 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  Salz und verlor die Hälfte ihrer Aktivität ( $\text{IC}_{50}$ ) bei  $19,99 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl. Kartal et al. (2006) beobachteten erst bei höheren Konzentrationen eine Absenkung der Aktivität. Sie erreichten die maximale SAA bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  und der  $\text{IC}_{50}$  lag bei  $60 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Bei  $90 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  konnte keine Aktivität mehr festgestellt werden. Oshiki et al. (2011) stellten einen Aktivitätsverlust von 30 % bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  fest. Carvajal-Arroyo et al. (2013) stellten bei suspendierter *Brocadia*-Biomasse bei  $11,7 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  eine komplette Inhibierung fest. Bei  $5,4 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  wurde schon die Hälfte gehemmt. Aber Kartal et al. (2006) stellten auch fest, dass schon  $45 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  zu Inaktivität führte, wenn die Biomasse längerfristig dieser Konzentration ausgesetzt war. Xing et al. (2015a) adaptierten UASB-Anammox-Biomasse zu  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  ohne Anzeichen einer Inhibierung. Im Vergleich zu marinen Anammox-Gattungen war die hier gezeigte Toleranz recht niedrig. Wei et al. (2016) erhöhten die Salzkonzentrationen von 30 auf  $50 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  und konnten noch keine Anzeichen von Inhibierung bei den marinen Anammox Bakterien feststellen. Gründe für die große Streuung der Ergebnisse in der Literatur sind auf die Unterschiede der Anammox-Biomasse in ihrer Form (z.B. Biofilm, suspendiert etc.) und Spezies zu suchen. Des Weiteren sind einige Ergebnisse direkt aus der Leistungsfähigkeit der Reaktoren und nicht aus *ex-situ* Tests abgeleitet worden.

Andere Autoren wie Jin et al. (2011) verglichen ebenfalls adaptierte und nicht adaptierte Anammox-Biomasse. Sie testeten die Biomasse bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  und stellten eine Abnahme um 45,1 %, verglichen mit der initialen SAA, fest. Nicht adaptierte Biomasse verlor 67,5 %. In der vorliegenden Arbeit verlor nicht adaptierte Biomasse 65,5 % und adaptierte 63,6 % der initialen SAA. Es handelt sich also nicht um einem signifikanten Unterschied. Liu et al. (2014) verloren mehr als 70 % des initialen SAA bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  unter Verwendung von nicht adaptierter Biomasse aus einem SBR. Ein stimulierender Effekt durch das Salz konnte ebenfalls nur minimal mit 3 % bei  $10 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  gegenüber der Aktivität ohne Salz angegeben werden. Dapena-Mora et al. (2010) kamen zu ähnlichen Ergebnissen wie in der vorliegenden Arbeit. Sie untersuchten den Effekt von Salz auf adaptierte und nicht adaptierte granuläre Anammox-Biomasse in einem SBR.

Nicht adaptierte Biomasse wurde bis zu  $6 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  stimuliert und verlor die Hälfte ihrer Aktivität bei  $13,5 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ . Diese Ergebnisse wurden auch von einer älteren Studie untermauert (Dapena-Mora et al., 2007). Adaptierte Biomasse konnte bis  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  stimuliert werden und verlor bei  $20 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  an Aktivität. Windey et al. (2005) verglichen ebenfalls adaptierte und nicht adaptierte OLAND-Biomasse bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  und stellte einen Aktivitätsverlust der Anammox-Reaktion von 96 % bei nicht adaptierter Biomasse und eine Hemmung von 58 % bei der adaptierten Biomasse fest. Die vorliegende Arbeit konnte für beide, adaptierte und nicht adaptierte Biomasse, einen stimulierenden Effekt bis zu  $10 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  Salz feststellen, aber es kam auch schon zu starkem Aktivitätsverlust bei  $20 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  Salz. Die  $\text{IC}_{50}$ -Werte lagen bei  $19,99 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  bei adaptierter und bei  $20,30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  bei nicht adaptierter Biomasse. Sie unterschieden sich somit nicht signifikant. Die meisten der veröffentlichten Arbeiten beschreiben Systeme mit granularem Schlamm. Allerdings sind Biofilmsysteme oftmals resistenter gegenüber Stressfaktoren, darum wurde hier mit Biofilmen gearbeitet. Yi et al. (2011) bewiesen bei einem Vergleich zwischen einem Schlamm- und einem Biofilmsystem, dass der Biofilm höhere Salzkonzentrationen tolerieren konnte, als das Flockensystem. Allerdings waren die Salzkonzentrationen im Vergleich zu anderen Studien mit  $7 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  vergleichsweise gering. Andere Studien, wie beispielsweise von Kartal et al. (2007a), Jin et al. (2011) und Yang et al. (2011) erreichten Schwellenwerte von  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$ , bis zu denen keine Aktivitätsverluste verzeichnet wurden. In der vorliegenden Arbeit hatte die Biomasse, egal ob adaptiert oder nicht, bei  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  Salz schon rund zwei Drittel der Aktivität verloren.

Wie schon beschrieben war die N-Gesamt-Abbaurrate bis zu  $30 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  sehr ähnlich zwischen adaptierter und nicht adaptierter Biomasse. Aber das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis unterschied sich ab  $15 \text{ g NaCl} \cdot \text{L}^{-1}$  immer mehr. Wie ist das möglich? Eine Erklärung kann die Autolyse der Zellen sein, welche das  $\text{NO}_2/\text{NH}_4$ -Verhältnis bei der nicht adaptierten Biomasse anhebt. Chen et al. (2015) vermuten erhöhte  $\text{NH}_4\text{-N}$  Konzentrationen, welche auf sich zersetzende organische Stickstoff-Verbindungen aus der Zelllyse zurückzuführen sind. Dieser Zusatz an gelöstem Ammonium im System würde dann eine langsamere Abbaurrate vortäuschen und somit das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnis verschieben. Zusätzlich liefert die Zelllyse auch gelösten organischen Kohlenstoff. Eine weitere Quelle für TOC ist extrazelluläre polymere Substanz (EPS), welche im Stressfall von Bakterien gebildet wird, um sich vor Umwelteinflüssen zu schützen (Cao et al., 2002). Dieser TOC kann von den vorhandenen Denitrifizierern genutzt werden, um das Nitrit im System abzubauen. Somit erscheint der Abbau von Nitrit schneller als er durch eine reine Anammox-

Reaktion wirklich stattfindet. Die niedrigeren  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Verhältnisse bei der adaptierten Biomasse deuteten darauf hin, dass der Abbau wesentlich stärker Anammox-basiert ist, als bei der nicht adaptierten Biomasse.

Ist der Verlust von Biomasse ein Problem, speziell bei der adaptierten Biomasse wie es von Ma et al. (2012) beobachtet wurde? Ma et al. (2012) nutzten einen SBR und beobachteten starken Biomasseverlust ab  $10 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$ . Die in dieser Arbeit gemessenen Proteinkonzentrationen machten deutlich, dass es in diesem System nicht zu substanziellen Biomasseverlust bei hohen Salzkonzentrationen kam. Als Grund hierfür kann das Biofilmsystem angenommen werden. Fernández et al. (2014) untersuchten die Bildung von Biofilmen bei verschiedenen Salzkonzentrationen. Sie konnten feststellen, dass sich bei  $5 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  oder  $5 \text{ g CaCl}_2\cdot\text{L}^{-1}$  beste Bildungsbedingungen ergaben.  $15 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  führten zu sehr geringer und instabiler Bildung von Biofilm. In der vorliegenden Arbeit bildete sich der Biofilm vor der Zugabe von Salz. Xing et al. (2015b) beschrieben einen positiven Effekt von Calcium ( $152 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), welcher die NaCl-Toleranz erhöhte. Als Grund wird die Reduzierung des osmotischen Drucks des Natriums in der Umgebung der Zellen angegeben. In dieser Arbeit lagen ähnliche Konzentrationen an Calcium vor. Somit kann davon ausgegangen werden, dass auch hier dieser positive Effekt auftrat. Dies und der schon etablierte Biofilm könnten Gründe sein, warum kein Biomasseverlust messbar war. Des Weiteren war die Turbulenz und damit Scherkräfte weit geringer als in den Experimenten von Fernández et al. (2014).

Einige Studien stellten sehr lange Adaptierungszeiten bei sehr geringen Salzkonzentrationen im Bereich von  $0 - 3 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  fest. Bei Chen et al. (2015) erreichte ein Reaktor im Anfahrbetrieb für zwei bis drei Wochen nicht die gewünschte Leistung. Gonzalez-Silva et al. (2017) beobachteten eine 153 Tage währende Adaptierungsphase in diesem sehr geringen Salzkonzentrationsbereich von  $0-3 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$ . Im weiteren Verlauf von  $3$  bis  $30 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  konnte die Adaptierung innerhalb von 40 Tagen durchgeführt werden. Liu et al. (2014) schockten ihren SBR mit  $30 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$ . Daraufhin benötigte die Biomasse im Reaktor 130 Tage, um sich wieder vollständig zu erholen. Es muss darauf hingewiesen werden, dass der Reaktor in der vorliegenden Arbeit bei  $4,7 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  betrieben wurde. Grund hierfür sind die hohen Konzentrationen von  $\text{NaNO}_2$  und  $\text{NH}_4\text{Cl}$  im Nährmedium. Dies lässt den Schluss zu, dass die Biomasse nicht diesen scheinbar kritischen Anpassungsbereich „durchleben“ musste und schon an Salz gewöhnt war. Dies kann auch erklären warum keine Änderung der Biomassezusammensetzung mittels qPCR und FISH detektiert wurde. Gonzalez-Silva et al. (2017) konnten „*Candidatus Brocadia fulgida*“ bei  $0-3 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  als dominante Gattung identifizieren. Wohingegen bei  $30 \text{ g NaCl}\cdot\text{L}^{-1}$  „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ dominant war. Jiang et al. (2017)

konnten bei Feuchtgebieten an Küsten ebenfalls eine Veränderung der Biomassezusammensetzung mit steigender Salzkonzentration feststellen. Dort hatte „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ einen Anteil an Anammox von 72,7 % bei 0 g NaCl\*L<sup>-1</sup> und sank bei 40 g NaCl\*L<sup>-1</sup> auf 13,5 %. *Candidatus Scalindua*-Arten stiegen von ca. 20 % auf ungefähr 80 % bei 40 g NaCl\*L<sup>-1</sup>. Die Änderung fand nach 60 bis 120 Tagen statt. Kurzzeitige Änderungen nach 10 Tagen waren allerdings nicht feststellbar.

#### **4.7.1 Zusammenfassung zur Salztoleranz von adaptierter und nicht adaptierter Anammox-Biomasse**

Da die Anammox-Bakterien in einem Reaktor betrieben wurden, welcher ein Salzgehalt von 4,7 g NaCl\*L<sup>-1</sup> hatte, konnte die nicht adaptierte genauso gut die hohe Salzkonzentration verarbeiten wie adaptierte Biomasse. Die IC<sub>50</sub> für adaptierte und nicht adaptierte Biomasse waren fast gleich bei 19,99 g NaCl\*L<sup>-1</sup> bzw. 20,30 g NaCl\*L<sup>-1</sup>. Bei steigenden Salzkonzentrationen (20 – 30 g NaCl\*L<sup>-1</sup>) veränderte sich das  $\Delta\text{NO}_2/\Delta\text{NH}_4$ -Abbauverhältnis der nicht adaptierten Biomasse signifikant, was einen stärkeren Einfluss anderer Abbauprozesse wie bspw. Denitrifikation nahelegte. Die adaptierte Biomasse konnte ab 40 g NaCl\*L<sup>-1</sup> deutlich mehr der SAA beibehalten, als dies bei nicht adaptierter Biomasse der Fall war.

### **4.8 Lagerungstests**

Die Lagerungstests wurden durchgeführt, da oftmals Inokulations-Biomasse für neu gestartete Reaktoren benötigt wird und zum anderen werden kleine Kläranlagen oftmals saisonal betrieben wie bspw. in Tourismusgebieten.

#### **4.8.1 Lagerung bei 20°C**

Es wurde eine höhere Aktivität bei den Proben mit Nitrat als Redoxpuffer als bei dem jeweiligen Gegenstück mit Molybdat als Redoxpuffer festgestellt. Dieses Erkenntnis stand im Kontrast zu den Erkenntnissen von Ali et al. (2014a). Dort wurden bei ähnlichen Bedingungen die besten Ergebnisse mit Molybdat (3 mM\*L<sup>-1</sup>) erzielt. Li et al. (2014) konnten keine negativen Effekte von Molybdat (22,8 mg Mo\*L<sup>-1</sup>) auf die Anammox-Aktivität fest-

stellen. Hingegen stellten Kimura & Isaka (2014) eine irreversible Schädigung der Anammox-Aktivität schon bei Konzentrationen von  $0,1 \text{ mg Mo} \cdot \text{L}^{-1}$  fest.

Ali et al. (2014a) konnten nach 90 Tagen Lagerung, mit Nitrat als Redoxpuffer, bei einer Nahrungszufuhr alle 45 Tage noch eine Aktivität von 40 % feststellen. Ali et al. (2016) nutzte „*Candidatus Brocadia sinica*“ mit 90 % Anreicherungsgrad. Vlaeminck et al. (2007) untersuchte OLAND-Biomasse (Mischung aus Anammox, Nitrifikanten und Denitrifikanten). Hier konnten nach 60 Tagen nur etwa 30 % der anfänglichen Aktivität ermittelt werden. Es wurden alle 15 Tage Nitrat als Redoxpuffer und nach Bedarf Nährstoffe hinzugegeben. Die von Vlaeminck et al. (2007) genutzte Biomasse setzte sich zu nur 18 % aus Anammox, zu 54 % aus Nitrifikanten und zu 28 % aus Denitrifikanten zusammen. Die Nitrifikanten könnten hier in der Konkurrenz um Ammonium die Anammox-Bakterien geschlagen haben. Die in dieser Arbeit verwendete Biomasse hatte einen Anreicherungsgrad von 68,8 % von „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“.

#### 4.8.2 Lagerung bei 4°C

Ali et al. (2014a) berichteten von nur 12 % spezifischer Anammox-Aktivität nach 90 Tagen Lagerung von Anammox-Granula der Gattung „*Candidatus Brocadia sinica*“ bei 4 °C. Nach 150 Tagen konnte keine Aktivität mehr festgestellt werden. Die von Vlaeminck et al. (2007) untersuchte OLAND-Biomasse wurde ebenfalls bei 4 °C gelagert und Nitrat als Redoxpuffer genutzt. Nach 60 und 150 Tagen konnten nicht mehr als 30 % der anfänglichen Aktivität nachgewiesen werden. Bei Nicht-Zugabe des Nitrats konnten nach 150 Tagen 55 % der anfänglichen Aktivität nachgewiesen werden. Eine Erklärung dafür ist, laut Vlaeminck et al. (2007), dass Denitrifikanten als Konkurrenz für Anammox durch das Fehlen von Nitrat unterdrückt wurden. Die Verwendung eines Biofilmsystems hat sich augenscheinlich ebenfalls positiv ausgewirkt. Dies wurde auch von anderen Autoren bestätigt (Fernández et al., 2012; Jin et al., 2012).

#### 4.8.3 Zusammenfassung Lagerung

Es kann festgehalten werden, dass die Lagerung bei 4 °C mehr Erfolg hatte. Des Weiteren war Nitrat als Redoxpuffer besser geeignet. Und eine regelmäßige Zugabe von Nährstoffen erhöhte ebenfalls die Lagerungsfähigkeit. Die besten Ergebnisse konnten bei 4 °C, einer regelmäßigen Nährstoffzufuhr alle 23 Tage und mit Nitrat als Redoxpuffer

erzielt werden. Es konnten nach 106 Tagen noch 91,4 % der ursprünglichen Aktivität nachgewiesen werden.

## 5 Zusammenfassung

Alternative Verfahren zur Eliminierung von Stickstoff in Abwässern aus Industrie, Verkehr und privaten Haushalten, sind aus wirtschaftlicher und ökologischer Sicht deutlich attraktiver als konventionelle Verfahren. So ein alternativer Ansatz ist der Prozess der anaeroben Ammoniumoxidation (Anammox). Im Vergleich zum klassischen Nitrifikation/Denitrifikation- Prozess, eröffnet Anammox ein enormes Einsparpotenzial hinsichtlich der Betriebskosten von Kläranlagen und der Nachhaltigkeit bei der Kohlendioxidbilanz.

Im Rahmen der vorliegenden Promotion wurde in einem ersten Ansatz untersucht, ob sich Anammox bei Kleinkläranlagen im häuslichen Maßstab etablieren lässt. In einem weiteren Schritt wurde die Toleranz eines Anammox-Konsortiums gegenüber erhöhten Salzkonzentrationen untersucht. Abschließend wurden Strategien zur erfolgreichen Lagerung von Anammox-Biomasse identifiziert. In dieser Arbeit konnte die Tauglichkeit der verwendeten Reaktorkonfiguration für die Behandlung von hochsalinen Abwässern bei 30 °C sowie der Behandlung von Abwässern bei bis zu 8 °C gezeigt werden. Die räumliche Trennung des Nitrifikanten-Biofilms vom Anammox-Biofilm ermöglichte eine gute Kontrolle der ungewollten Nitritoxidierung durch einfaches Entfernen des Biofilms. Zudem schützte die räumliche Trennung die Anammox-Bakterien vor der negativen Wirkung zu hoher Sauerstoffkonzentrationen. Nach der periodischen Entfernung des Membranbiofilms musste lediglich im Anschluss auf eine adäquate Belüftung geachtet werden, d.h. die Sauerstoffkonzentrationen sollten im Bereich von weniger als  $0,2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  bleiben. Für gewöhnlich bildete sich nach der Etablierung des Membran-Biofilms eine Nulllinie im Sauerstoffprofil aus. Die N-Gesamt-Abbaurrate korrelierte direkt mit dem Biofilmalter sowie mit der  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildungsrate bezogen auf den  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Abbau. Somit konnte das Biofilmalter als einfache Bemessungs- bzw. Kontrollgröße für die Effizienz des Reaktor-Systems herangezogen werden. Hier stellte sich heraus, dass es empfehlenswert war, den Membranbiofilm nach spätestens 90 Tagen zu entfernen. Später bildete sich allerdings ein Gleichgewicht aus und das Abbauvermögen stagnierte. Die Abbauleistung des Niedrigtemperaturreaktors bei 8 °C war nur um 27,9 % niedriger als bei 18 °C. Bei 12 °C sank die Abbauleistung, im Vergleich zu 18 °C, nur um 14,4 %. Des Weiteren wirkten sich variable Belüftungszeiten nur gering auf die Abbauleistung aus. Wohingegen Dauerbelüftung im Niedrigtemperaturreaktor zu erhöhter Nitratbildung führte. Es müssten demnach Belüftungspausen eingehalten werden, um einen nachhal-

tigen Betrieb gewährleisten zu können. Diese Arbeit lieferte den Beweis, dass die Prozessstabilität der „partiellen Nitrifikation/Anammox“- Reaktion (PN/A) auch bei einer niedrigen Temperatur von 8 °C sichergestellt werden konnte. Dies ist somit ein weiterer Beitrag zur möglichen zukünftigen Etablierung des PN/A-Prozesses im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen.

Im hochsalinen Reaktor bei 30 °C fiel der Effekt der Dauerbelüftung nicht negativ ins Gewicht. Dort konnte gezeigt werden, dass die Abbauprozesse im Reaktorsystem auch bei 40 mg TOC·L<sup>-1</sup> stabil blieben. Bei 100 mg TOC·L<sup>-1</sup> kam es zwar zu Abbaueinbußen, aber die Prozessstabilität konnte dennoch gewährleistet werden. Eine nachfolgende Beschickung des Reaktors, frei von organischem Kohlenstoff (TOC), führte zu einem ähnlich verlässlichen Abbauverhalten wie vor der Zugabe von TOC. Es konnte gezeigt werden, dass organischer Kohlenstoff nur anteilig für Denitrifikationsprozesse genutzt wurde. Ein anderer Teil wurde durch das mikrobielle Konsortium aerob veratmet. Dies senkte die Effizienz des Systems, da es sauerstofflimitiert ist.

Adaptierte Anammox-Biomasse war in der Lage, relativ hohe Salzkonzentrationen von bis zu 30 g NaCl·L<sup>-1</sup> als Schockkonzentration ähnlich gut zu verarbeiten, wie nicht angepasste Anammox-Biomasse. Bei höheren Salzkonzentrationen war die adaptierte Biomasse überlegen. Des Weiteren war die Aktivität der adaptierten und nicht adaptierten Biomasse bei 10 g NaCl·L<sup>-1</sup> höher als bei der initialen spezifischen Anammox-Aktivität bei 0 g NaCl·L<sup>-1</sup>. 15 g NaCl·L<sup>-1</sup> verursachten eine ähnlich hohe Aktivität wie bei der initialen Messung ohne Salz.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit konnte die erfolgreiche Lagerung von Anammox-Biomasse belegen. In allen Ansätzen gelang eine erfolgreiche Aktivierung nach der Lagerungsperiode. Allerdings erzielten Lagerungsparameter von 4 °C Lagerungstemperatur und Nitrat als Redoxpuffer die besten Ergebnisse. Eine regelmäßige Zugabe von Nährstoffen erhöhte zusätzlich die Aktivität der Biomasse. So blieben nach 106 Tagen noch 91,4 % der spezifischen Anammox-Aktivität erhalten.

## 6 Ausblick

Weiterführende Forschung muss sich mit dem Verhalten des PN/A Prozesses bei Anwesenheit von organischem Kohlenstoff im Niedrigtemperaturbereich beschäftigen. Es ist stark davon auszugehen, dass damit die Effizienz des Systems sinkt. Es besteht, aber auch die theoretische Möglichkeit, das Abbauvermögen zu steigern indem Nitrat denitrifiziert wird. Im Gegensatz zu den gewonnenen Erkenntnissen dieser Arbeit, weisen Literaturquellen auf eine erfolgreiche Nutzung hin. Weiterhin ist die Frage nach der Prozessstabilität bei noch niedrigeren Temperaturen interessant. Hierzu laufen gegenwärtig weitere vielversprechende Versuche. Tiefergehende Untersuchungen zur Zusammensetzung der Biofilme tragen ebenfalls zum weiteren Prozessverständnis bei.

Später kann auch die Ausführung der Membran ein Forschungsschwerpunkt sein. Hier sollte auf jeden Fall die Praktikabilität der Reinigung auf den Kläranlagen berücksichtigt werden. Die Membranmodule sollten leicht aus dem Reaktor zu entnehmen und zu reinigen sein. Auch die Aufwuchsmatrix der Anammox-Bakterien kann in Einbauform und Porengröße variiert werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- Abma, W.R., Driessen, W., Haarhuis, R., Van Loosdrecht, M.C.M., 2010. Upgrading of sewage treatment plant by sustainable and cost-effective separate treatment of industrial wastewater. *Water Sci. Technol.* 61, 1715–1722. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.977>
- Alawi, M., Off, S., Kaya, M., Spieck, E., 2009. Temperature influences the population structure of nitrite-oxidizing bacteria in activated sludge. *Environ. Microbiol. Rep.* 1, 184–190. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00029.x>
- Ali, M., Oshiki, M., Awata, T., Isobe, K., Kimura, Z., Yoshikawa, H., Hira, D., Kindaichi, T., Satoh, H., Fujii, T., Okabe, S., 2015. Physiological characterization of anaerobic ammonium oxidizing bacterium “*Candidatus Jettenia caeni*.” *Environ. Microbiol.* 17, 2172–2189. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12674>
- Ali, M., Oshiki, M., Okabe, S., 2014a. Simple, rapid and effective preservation and reactivation of anaerobic ammonium oxidizing bacterium “*Candidatus Brocadia sinica*”. *Water Res.* 57, 215–22. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.036>
- Ali, M., Oshiki, M., Okabe, S., 2014b. Simple, rapid and effective preservation and reactivation of anaerobic ammonium oxidizing bacterium “*Candidatus Brocadia sinica*.” *Water Res.* 57, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.036>
- Ali, M., Rathnayake, R.M.L.D., Zhang, L., Ishii, S., Kindaichi, T., Satoh, H., Toyoda, S., Yoshida, N., Okabe, S., 2016. Source identification of nitrous oxide emission pathways from a single-stage nitrification-anammox granular reactor. *Water Res.* 102, 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.06.034>
- Almstrand, R., Persson, F., Daims, H., Ekenberg, M., Christensson, M., Wilén, B.M., Sörensson, F., Hermansson, M., 2014. Three-dimensional stratification of bacterial biofilm populations in a moving bed biofilm reactor for nitrification-anammox. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 2191–2206. <https://doi.org/10.3390/ijms15022191>
- Amann, R.L., Binder, B.J., Olson, R.J., Chisholm, S.W., Devereux, R., Stahl, D.A., 1990. oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations . Combination of 16S rRNA-Targeted Oligonucleotide Probes with Flow Cytometry for Analyzing Mixed Microbial Populations. *Appl. Environ. Microbiol. Microbiol.* 56, 1919–1925. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01066.x>
- Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B., Srinath, E.G., 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.* 48, 835–852. <https://doi.org/10.2307/25038971>
- Bassin, J.P., Kleerebezem, R., Muyzer, G., Rosado, A.S., Van Loosdrecht, M.C.M., Dezotti, M., 2012. Effect of different salt adaptation strategies on the microbial diversity, activity, and settling of nitrifying sludge in sequencing batch reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93, 1281–1294. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3428-7>
- Bian, W., Zhang, S., Zhang, Y., Li, W., Kan, R., Wang, W., Zheng, Z., Li, J., 2017. Achieving nitrification in a continuous moving bed biofilm reactor at different temperatures through ratio control. *Bioresour. Technol.* 226, 73–79. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.12.014>
- Bierbach, D., 2017. Untersuchungen eines membranbelüfteten PN/A (partielle Nitrifikation/Anammox) Festbettreaktors zur Behandlung von hochsalinen Wässern. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.

- Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J., 2008a. Demonstration of nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Water Res.* 42, 2166–2176. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.029>
- Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J., 2008b. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation* 19, 303–312. <https://doi.org/10.1007/s10532-007-9136-4>
- Braker, G., Fesefeldt, A., Witzel, K.-P., 1998. Development of PCR Primer Systems for Amplification of Nitrite Reductase Genes (*nirK* and *nirS*) To Detect Denitrifying Bacteria in Environmental Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3769–3775.
- Broda, E., 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Z. Allg. Mikrobiol.* 17, 491–493.
- Buck, C.S., 2013. Untersuchung der Einflussparameter auf die Nitritation zur Kopplung mit dem Anammox-Prozess. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Cabello, P., Roldán, M.D., Castillo, F., Moreno-Vivián, C., 2009. Nitrogen Cycle, in: Schaechter, M. (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (Third Edition). Elsevier Science Ltd, pp. 299–321. <https://doi.org/doi:10.1016/B978-012373944-5.00055-9>
- Cao, S., Du, R., Li, B., Ren, N., Peng, Y., 2016. High-throughput profiling of microbial community structures in an ANAMMOX-UASB reactor treating high-strength wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 6457–6467. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7427-6>
- Cao, S., Du, R., Li, B., Wang, S., Ren, N., Peng, Y., 2017. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: performance, kinetics and microbial community. *Chem. Eng. J.* 326, 1186–1196. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.066>
- Cao, S., Wang, S., Peng, Y., Wu, C., Du, R., Gong, L., Ma, B., 2013. Achieving partial denitrification with sludge fermentation liquid as carbon source: The effect of seeding sludge. *Bioresour. Technol.* 149, 570–574. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.09.072>
- Cao, X., Qian, D., Meng, X., 2012. Effects of pH on nitrite accumulation during wastewater denitrification. *Environ. Technol.* 34, 45–51. <https://doi.org/10.1080/09593330.2012.679700>
- Carvajal-Arroyo, J.M., Puyol, D., Li, G., Sierra-Álvarez, R., Field, J.A., 2014. The role of pH on the resistance of resting- and active anammox bacteria to NO<sub>2</sub><sup>-</sup> inhibition. *Biotechnol. Bioeng.* 111, 1949–1956. <https://doi.org/10.1002/bit.25269>
- Carvajal-Arroyo, J.M., Sun, W., Sierra-Alvarez, R., Field, J. a, 2013. Inhibition of anaerobic ammonium oxidizing (anammox) enrichment cultures by substrates, metabolites and common wastewater constituents. *Chemosphere* 91, 22–7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.025>
- Cataldo, D., Maroon, M., Schrader, L., & Youngs, V., 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 6, 71–80.
- Chaudhary, J., 2014. Bachelor Thesis Influence of the Total Organic Carbon on the Incomplete Bachelorarbeit Einfluss des gesamten organischen Kohlenstoffs auf die Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Chen, Y.-P., Ma, T.-F., Hu, X., Fang, F., Shen, Y., Yang, J.-X., Guo, J.-S., Bao, Z.-G.,

- Yan, P., 2015. Start-Up of a Combined Anaerobic/Partial Nitritation/ANAMMOX Process for High-Salt Mustard Wastewater Treatment. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 175, 119–134. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1247-x>
- Christensson, M., Ekström, S., Andersson Chan, a, Le Vaillant, E., Lemaire, R., 2013. Experience from start-ups of the first ANITA Mox plants. *Water Sci. Technol.* 67, 2677–84. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.156>
- Daims, H., Lebedeva, E. V, Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R.H., von Bergen, M., Ratte, T., Bendinger, B., Nielsen, P.H., Wagner, M., 2015. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528, 504.
- Daims, H., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H.E.R.H., Wagner, M., Schleifer, K., Nielsen, P.H.E.R.H., Schleifer, K., 2001. In Situ Characterization of *Nitrospira* -Like Nitrite-Oxidizing Bacteria Active in Wastewater Treatment Plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 5273–5284. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.11.5273>
- Dapena-Mora, A., Fernández, I., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R., Jetten, M.S.M., 2007. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 859–865. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.06.018>
- Dapena-Mora, A., Vázquez-Padín, J.R., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Jetten, M.S.M., Méndez, R., 2010. Monitoring the stability of an Anammox reactor under high salinity conditions. *Biochem. Eng. J.* 51, 167–171. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.06.014>
- Daverey, A., Chen, Y.-C., Dutta, K., Huang, Y.-T., Lin, J.-G., 2015. Start-up of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in sequencing batch biofilm reactor using novel biomass carriers. *Bioresour. Technol.* 190, 480–6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.064>
- De Clippeleir, H., Vlaeminck, S.E., De Wilde, F., Daeninck, K., Mosquera, M., Boeckx, P., Verstraete, W., Boon, N., 2013. One-stage partial nitritation/anammox at 15 °C on pretreated sewage: feasibility demonstration at lab-scale. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4744-x>
- De Prá, M.C., Kunz, A., Bortoli, M., Scussiato, L.A., Coldebella, A., Vanotti, M., Soares, H.M., 2016. Kinetic models for nitrogen inhibition in ANAMMOX and nitrification process on deammonification system at room temperature. *Bioresour. Technol.* 202, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.11.048>
- Dongen, U. Van, Jetten, M.S.M., Loosdrecht, M.C.M. Van, 2001. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci. Technol.* 44, 153–160.
- Dosta, J., Fernández, I., Vázquez-Padín, J.R., Mosquera-Corral, a., Campos, J.L., Mata-Álvarez, J., Méndez, R., 2008. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *J. Hazard. Mater.* 154, 688–693. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.10.082>
- Downing, L.S., Nerenberg, R., 2008. Effect of oxygen gradients on the activity and microbial community structure of a nitrifying, membrane-aerated biofilm. *Biotechnol. Bioeng.* 101, 1193–1204. <https://doi.org/10.1002/bit.22018>
- Egli, K., Fanger, U., Alvarez, P.J.J., Siegrist, H., Van der Meer, J.R., Zehnder, A.J.B., 2001. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Arch. Microbiol.* 175, 198–207. <https://doi.org/10.1007/s002030100255>

- Eifler, J., 2012. Optimierung des Stand- und Belüftungsintervalls für die aerobe Nitritbildung zur weitergehenden Kopplung mit Anammox-Bakterien. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus.
- El Hassan, G.A., Zablutowicz, R.M., Focht, D.D., 1985. Kinetics of denitrifying growth by fast-growing cowpea rhizobia. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 517–521.
- Engelbrecht, S., Fondengcap, M.T., Rathsack, K., Martienssen, M., 2016. Highly efficient long-term storage of carrier-bound anammox biomass. *Water Sci. Technol.* 1911–1918. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.364>
- Engelbrecht, S., Mozooni, M., Rathsack, K., Böllmann, J., Martienssen, M., 2018. Effect of increasing salinity to adapted and non-adapted Anammox biofilms. *Environ. Technol.* 0, 1–9. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1455748>
- Fang, H.H., Xu, L.-C., Chan, K.-Y., 2002. Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion. *Water Res.* 36, 4709–4716. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00207-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00207-5)
- Fernández, I., Bravo, J.I., Mosquera-Corral, A., Pereira, A., Campos, J.L., Méndez, R., Melo, L.F., 2014. Influence of the shear stress and salinity on Anammox biofilms formation: modelling results. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 37, 1955–1961. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1171-z>
- Fernández, I., Dosta, J., Fajardo, C., Campos, J.L., Mosquera-Corral, a., Méndez, R., 2012. Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the Anammox process. *J. Environ. Manage.* 95, S170–S174. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.044>
- Fogel, G.B., Collins, C.R., Li, J., Brunk, C.F., 1999. Prokaryotic genome size and SSU rDNA copy number: Estimation of microbial relative abundance from a mixed population. *Microb. Ecol.* 38, 93–113. <https://doi.org/10.1007/s002489900162>
- Fondengcap, M.T., 2014. Activity and Storage Tests of Anammox Biomass Masterarbeit Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Fukushima, T., Whang, L.M., Chiang, T.Y., Lin, Y.H., Chevalier, L.R., Chen, M.C., Wu, Y.J., 2013. Nitrifying bacterial community structures and their nitrification performance under sufficient and limited inorganic carbon conditions. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 6513–6523. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4436-y>
- Ge, S., Wang, S., Yang, X., Qiu, S., Li, B., Peng, Y., 2015. Detection of nitrifiers and evaluation of partial nitrification for wastewater treatment: A review. *Chemosphere* 140, 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.004>
- Gilbert, E.M., 2014. Partielle Nitritation / Anammox bei niedrigen Temperaturen. Karlsruher Institut für Technologie.
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2014a. Response of different *Nitrospira* Species to anoxic periods depends on operational DO. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2934–2941. <https://doi.org/10.1021/es404992g>
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Karst, S.M., Horn, H., Nielsen, P.H., Lackner, S., 2014b. Low temperature partial nitritation/anammox in a moving bed biofilm reactor treating low strength wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 48, 8784–92. <https://doi.org/10.1021/es501649m>
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2015. Comparing different Reactor Configurations for Partial Nitritation/Anammox at low Temperatures. *Water Res.* 81, 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.022>
- Giustinianovich, E.A., Campos, J.-L., Roeckel, M.D., Estrada, A.J., Mosquera-Corral, A.,

- Val del Río, Á., 2018. Influence of biomass acclimation on the performance of a partial nitrification-anammox reactor treating industrial saline effluents. *Chemosphere* 194, 131–138. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.11.146>
- Giustinianovich, E.A., Campos, J.L., Roeckel, M.D., 2016. The presence of organic matter during autotrophic nitrogen removal: Problem or opportunity? *Sep. Purif. Technol.* 166, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.04.012>
- Gonzalez-Martinez, A., Rodriguez-Sanchez, A., van Loosdrecht, M.C.M., Gonzalez-Lopez, J., Vahala, R., 2016. Detection of comammox bacteria in full-scale wastewater treatment bioreactors using tag-454-pyrosequencing. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 25501–25511. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7914-4>
- Gonzalez-Silva, B.M., Rønning, A.J., Andreassen, I.K., Bakke, I., Cervantes, F.J., Østgaard, K., Vadstein, O., 2017. Changes in the microbial community of an anammox consortium during adaptation to marine conditions revealed by 454 pyrosequencing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101, 5149–5162. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8160-5>
- Gruchot, G., 2014. Etablierung und Optimierung einer Nitritationsstufe als Vorlage für den Anammoxprozess. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Grunditz, C., Dalhammar, G., 2001. Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of nitrosomonas and nitrobacter. *Water Res.* 35, 433–440. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00312-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00312-2)
- Guillén, J.A.S., Vazquez, C.M.L., Cruz, L.M.D.O., Brdjanovic, D., Lier, J.B. Van, 2016. Long-term performance of the Anammox process under low nitrogen sludge loading rate and moderate to low temperature 110, 95–106.
- Guo, Q., Xing, B.S., Li, P., Xu, J.L., Yang, C.C., Jin, R.C., 2015. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) under realistic seasonal temperature variations: Characteristics of biogranules and process performance. *Bioresour. Technol.* 192, 765–773. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.049>
- Güven, D., Dapena, A., Kartal, B., Markus, C., Maas, B., Pas-schoonen, K. Van De, Mendez, R., Camp, H.J.M.O. Den, Mike, S., Jetten, M., Strous, M., Schmidt, I., Gu, D., Dapena, A., Kartal, B., Schmid, M.C., Maas, B., Pas-schoonen, K. Van De, Sozen, S., Mendez, R., Camp, H.J.M.O. Den, Jetten, M.S.M., Strous, M., Schmidt, I., 2005. Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1066–1071. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.1066>
- Hager, C.F., 2018. „ Untersuchungen eines membranbelüfteten PN / A ( partielle Nitrifikation / Anammox ) Festbettreaktors “. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Hamdi, M., 1995. Biofilm thickness effect on the diffusion Biofloc critical diameter significance. *Bioprocess Eng.* 12, 193–197.
- Harhangi, H.R., Le Roy, M., van Alen, T., Hu, B. Ian, Groen, J., Kartal, B., Tringe, S.G., Quan, Z.X., Jetten, M.S.M., Op den Camp, H.J.M., 2012. Hydrazine synthase, a unique phylomarker with which to study the presence and biodiversity of anammox bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 752–758. <https://doi.org/10.1128/AEM.07113-11>
- Heilmann, I., 2015. Etablierung eines Anammox-Nitrifikanten-Biofilms auf semipermeablen Membranen. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-

Senftenberg.

- Hellinga, C., Schellen, A.A.J.C., Mulder, J.W., van Loosdrecht, M.C.M. and Heijnen, J.J., 1998. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Sci. Technol.* 37, 135–142.
- Her, J.-J., Huang, J.-S., 1995. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresour. Technol.* 54, 45–51.
- Heylen, K., Ettwig, K., Hu, Z., Jetten, M., Kartal, B., 2012. Rapid and simple cryopreservation of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 3010–3. <https://doi.org/10.1128/AEM.07501-11>
- Höll, 1968. *Wasser, Untersuchung-Beurteilung-Aufbereitung, Chemie- Bakteriologie-Biologie.* Verlag Walter de Gruyter & Co, Berlin.
- Hollocher, T.C., Tate, M.E., Nicholas, D.J.D., 1981. Oxidation of ammonia by *Nitrosomonas europaea*. Definite <sup>18</sup>O-tracer evidence that hydroxylamine formation involves a monooxygenase. *J. Biol. Chem.* 256, 10834–10836. <https://doi.org/10.1128/AEM.01061-14>
- Hu, Z., Lotti, T., de Kreuk, M., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M., Kruit, J., Jetten, M.S.M., Kartal, B., 2013. Nitrogen Removal by a Nitritation-Anammox Bioreactor at Low Temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2807–2812. <https://doi.org/10.1128/AEM.03987-12>
- Huang, X., Urata, K., Wei, Q., Yamashita, Y., Hama, T., Kawagoshi, Y., 2015. Fast Start-up of Partial Nitritation as Pre-treatment for Anammox in Membrane Bioreactor. *Biochem. Eng. J.* 105, 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.10.018>
- Ijioma, U.D., 2013. Master thesis Determination of specific metabolic activities of Anammox bacteria and their sensitivity to oxygen Masterarbeit Untersuchungen zu spezifischen metabolischen Aktivitäten und der Sauerstoffempfindlichkeit von Anammoxbakterien.
- Isaka, K., Sumino, T., Tsuneda, S., 2007. High nitrogen removal performance at moderately low temperature utilizing anaerobic ammonium oxidation reactions. *J. Biosci. Bioeng.* 103, 486–490. <https://doi.org/10.1263/jbb.103.486>
- Isaka, K., Suwa, Y., Kimura, Y., Yamagishi, T., Sumino, T., Tsuneda, S., 2008. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) irreversibly inhibited by methanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81, 379–85. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1739-0>
- Isanta Eduardo, Rino Clara, Carrera Julian, P.J., 2015. Stable partial nitritation for low strength wastewater at low temperature in an aerobic granular reactor. *Water Res.* 80, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.028>
- Jaroszynski, L.W., Cicek, N., Sparling, R., Oleszkiewicz, J. a, 2012. Impact of free ammonia on anammox rates (anoxic ammonium oxidation) in a moving bed biofilm reactor. *Chemosphere* 88, 188–95. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.085>
- Jeanningros, Y., Vlaeminck, S.E., Kaldate, A., Verstraete, W., Graveleau, L., 2010. Fast start-up of a pilot-scale deammonification sequencing batch reactor from an activated sludge inoculum. *Water Sci. Technol.* 61, 1393–1400. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.019>
- Jetten, M.S., Wagner, M., Fuerst, J., van Loosdrecht, M., Kuenen, G., Strous, M., 2001. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12, 283–8.
- Jetten, M.S.M., Niftrik, L. Van, Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J.T., Op den Camp,

- H.J.M., 2009. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 44, 65–84. <https://doi.org/10.1080/10409230902722783>
- Jetten, M.S.M., Strous, M., Pas-schoonen, K.T. Van De, Schalk, J., Dongen, U.G.J.M. Van, Graaf, A.A. Van De, Logemann, S., Iy, G.M., Loosdrecht, M.C.M. Van, Kuenen, J.G., 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol. Rev.* 22, 421–437.
- Jetten, M.S.M., Strous, M., Van De Pas-Schoonen, K.T., Schalk, J., Van Dongen, U.G.J.M., Van De Graaf, A. a., Logemann, S., Muyzer, G., Van Loosdrecht, M.C.M., Kuenen, J.G., 1998. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol. Rev.* 22, 421–437. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(98\)00023-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(98)00023-0)
- Ji, Y.X., Jin, R.C., 2014. Effect of different preservation conditions on the reactivation performance of anammox sludge. *Sep. Purif. Technol.* 133, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.06.029>
- Jiang, X., Hou, L., Zheng, Y., Liu, M., Yin, G., Gao, J., Li, X., Wang, R., Yu, C., Lin, X., 2017. Salinity-driven shifts in the activity, diversity, and abundance of anammox bacteria of estuarine and coastal wetlands. *Phys. Chem. Earth* 97, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2017.01.012>
- Jin, R.-C., Yang, G.-F., Yu, J.-J., Zheng, P., 2012. The inhibition of the Anammox process: A review. *Chem. Eng. J.* 197, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.014>
- Jin, R.C., Ma, C., Mahmood, Q., Yang, G.F., Zheng, P., 2011. Anammox in a UASB reactor treating saline wastewater. *Process Saf. Environ. Prot.* 89, 342–348. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2011.05.001>
- Joss, A., Derlon, N., Cyprien, C., Burger, S., Szivak, I., Traber, J., Siegrist, H., Morgenroth, E., 2011. Combined nitrification-anammox: advances in understanding process stability. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9735–42. <https://doi.org/10.1021/es202181v>
- Jubany, I., Carrera, J., Lafuente, J., Baeza, J.A., 2008. Start-up of a nitrification system with automatic control to treat highly concentrated ammonium wastewater: Experimental results and modeling. *Chem. Eng. J.* 144, 407–419. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2008.02.010>
- Kalvelage, T., Jensen, M.M., Contreras, S., Revsbech, N.P., Lam, P., Günter, M., LaRoche, J., Lavik, G., Kuypers, M.M.M., 2011. Oxygen sensitivity of anammox and coupled N-cycle processes in oxygen minimum zones. *PLoS One* 6, e29299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029299>
- Kartal, B., Koleva, M., Arsov, R., van der Star, W., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2006. Adaptation of a freshwater anammox population to high salinity wastewater. *J. Biotechnol.* 126, 546–553. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2006.05.012>
- Kartal, B., Kuypers, M.M.M., Lavik, G., Schalk, J., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2007a. Anammox bacteria disguised as denitrifiers: nitrate reduction to dinitrogen gas via nitrite and ammonium. *Environ. Microbiol.* 9, 635–42. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01183.x>
- Kartal, B., Rattray, J., van Niftrik, L. a, van de Vossenberg, J., Schmid, M.C., Webb, R.I., Schouten, S., Fuerst, J. a, Damsté, J.S., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2007b. Candidatus “Anammoxoglobus propionicus” a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 30, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2006.03.004>
- Kartal, B., Van Niftrik, L., Rattray, J., Van De Vossenberg, J.L.C.M., Schmid, M.C.,

- Sinninghe Damsté, J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2008a. Candidatus "Brocadia fulgida": An autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63, 46–55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00408.x>
- Kartal, B., van Niftrik, L., Rattray, J., van de Vossenberg, J.L.C.M., Schmid, M.C., Sinninghe Damsté, J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2008b. Candidatus "Brocadia fulgida": an autofluorescent anaerobic ammonium oxidizing bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63, 46–55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00408.x>
- Kawagoshi, Y., Nakamura, Y., Kawashima, H., Fujisaki, K., Fujimoto, A., Furukawa, K., 2009. Enrichment culture of marine anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria from sediment of sea-based waste disposal site. *J. Biosci. Bioeng.* 107, 61–63. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.10.003>
- Kimura, Y., Isaka, K., 2014. Evaluation of inhibitory effects of heavy metals on anaerobic ammonium oxidation (anammox) by continuous feeding tests. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 6965–6972. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5735-2>
- Kimura, Y., Isaka, K., Kazama, F., Sumino, T., 2010. Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86, 359–65. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2359-z>
- Kinh, C.T., Riya, S., Hosomi, M., Terada, A., 2017a. Identification of hotspots for NO and N<sub>2</sub>O production and consumption in counter- and co-diffusion biofilms for simultaneous nitrification and denitrification. *Bioresour. Technol.* 245, 318–324. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.08.051>
- Kinh, C.T., Suenaga, T., Hori, T., Riya, S., Hosomi, M., Smets, B.F., Terada, A., 2017b. Counter-diffusion biofilms have lower N<sub>2</sub>O emissions than co-diffusion biofilms during simultaneous nitrification and denitrification: Insights from depth-profile analysis. *Water Res.* 124, 363–371. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2017.07.058>
- Kornaros, M., Dokianakis, S.N., Lyberatos, G., 2010. Partial nitrification/denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7245–7253. <https://doi.org/10.1021/es100564j>
- Kouba, V., Widiayuningrum, P., Chovancova, L., Jenicek, P., Bartacek, J., 2016. Applicability of one-stage partial nitrification and anammox in MBBR for anaerobically pre-treated municipal wastewater. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 43, 965–975. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1766-2>
- Kowalchuk, G.A., Stephen, J.R., 2001. Ammonia-Oxidizing Bacteria: A Model for Molecular Microbial Ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 485–529. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.485>
- Kuai, L., Verstraete, W., 1998. Ammonium Removal by the Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification System Ammonium Removal by the Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification System. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4500–4506.
- Kuenen, J.G., Kartal, B., van Loosdrecht, M.C.M., 2011. Application of anammox for N-removal can turn sewage treatment plant into biofuel factory. *Biofuels* 2, 237–241. <https://doi.org/10.4155/BFS.11.10>
- Kuypers, M.M.M., Sliemers, A.O., Lavik, G., Schmid, M., 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature* 422, 2–5. <https://doi.org/10.1038/nature01526.1>
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M.C.M.,

2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. *Water Res.* 55, 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.02.032>
- Lackner, S., Smets, B.F., 2012. Effect of the kinetics of ammonium and nitrite oxidation on nitrification success or failure for different biofilm reactor geometries. *Biochem. Eng. J.* 69, 123–129. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2012.09.006>
- Laureni, M., Falás, P., Robin, O., Wick, A., Weissbrodt, D.G., Nielsen, J.L., Ternes, T.A., Morgenroth, E., Joss, A., 2016. Mainstream partial nitrification and anammox: Long-term process stability and effluent quality at low temperatures. *Water Res.* 101, 628–639. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.005>
- Laureni, M., Weissbrodt, D.G., Szivák, I., Robin, O., Nielsen, J.L., Morgenroth, E., Joss, A., 2015. Activity and growth of anammox biomass on aerobically pre-treated municipal wastewater. *Water Res.* 80, 325–336. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.04.026>
- Ledoux, E., Gomez, E., Monget, J.M., Viavattene, C., Viennot, P., Ducharme, A., Benoit, M., Mignolet, C., Schott, C., Mary, B., 2007. Agriculture and groundwater nitrate contamination in the Seine basin. The STICS–MODCOU modelling chain. *Sci. Total Environ.* 375, 33–47. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2006.12.002>
- Li, G., Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J.M., Sierra-Alvarez, R., Field, J. a., 2014. Inhibition of anaerobic ammonium oxidation by heavy metals. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1002/jctb.4377>
- Li, X., Sun, S., Badgley, B.D., Sung, S., Zhang, H., He, Z., 2016. Nitrogen removal by granular nitrification-anammox in an upflow membrane-aerated biofilm reactor. *Water Res.* 94, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.031>
- Lindner, C., 2014. Etablierung und Optimierung einer Nitrifikationsstufe mit nachgeschalteter Denitrifikation zur Bereitstellung von Nitrit für den Anammox-Prozess. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Lindsay, M.R., Webb, R.I., Strous, M., Jetten, M.S.M., Butler, M.K., Forde, R.J., Fuerst, J.A., 2001. Cell compartmentalisation in planctomycetes: Novel types of structural organisation for the bacterial cell. *Arch. Microbiol.* 175, 413–429. <https://doi.org/10.1007/s002030100280>
- Liu, C., Yamamoto, T., Nishiyama, T., Fujii, T., Furukawa, K., 2009. Effect of salt concentration in anammox treatment using non woven biomass carrier. *J. Biosci. Bioeng.* 107, 519–523. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.01.020>
- Liu, M., Peng, Y., Wang, S., Liu, T., Xiao, H., 2014. Enhancement of anammox activity by addition of compatible solutes at high salinity conditions. *Bioresour. Technol.* 167, 560–563. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.015>
- Liu, S., Yang, F., Gong, Z., Su, Z., 2008. Assessment of the positive effect of salinity on the nitrogen removal performance and microbial composition during the start-up of CANON process. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80, 339–348. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1536-9>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Abelleira-Pereira, J.M., Abbas, B., van Loosdrecht, M.C.M., 2015a. Faster through training: The anammox case. *Water Res.* 81, 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.001>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Hu, Z., Kartal, B., de Kreuk, M.K., van Erp Taalman Kip, C., Kruit, J., Hendrickx, T.L.G., van Loosdrecht, M.C.M., 2015b. Pilot-scale evaluation of anammox-based mainstream nitrogen removal from municipal wastewater. *Environ. Technol.* 36, 1167–77. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.982722>

- Lotti, T., Kleerebezem, R., Hu, Z., Kartal, B., Jetten, M.S.M., van Loosdrecht, M.C.M., 2014a. Simultaneous partial nitrification and anammox at low temperature with granular sludge. *Water Res.* 66, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.047>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Lubello, C., van Loosdrecht, M.C.M., 2014b. Physiological and kinetic characterization of a suspended cell anammox culture. *Water Res.* 60, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.017>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., Van Erp Taalman Kip, C., Hendrickx, T.L.G., Kruit, J., Hoekstra, M., Van Loosdrecht, M.C.M., 2014c. Anammox growth on pretreated municipal wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 48, 7874–7880. <https://doi.org/10.1021/es500632k>
- Lotti, T., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C.M., 2015c. Effect of temperature change on anammox activity. *Biotechnol. Bioeng.* 112, 98–103. <https://doi.org/10.1002/bit.25333>
- Lotti, T., van der Star, W.R.L., Kleerebezem, R., Lubello, C., van Loosdrecht, M.C.M., 2012. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. *Water Res.* 46, 2559–2569. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.02.011>
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, L.A., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275. [https://doi.org/10.1016/0304-3894\(92\)87011-4](https://doi.org/10.1016/0304-3894(92)87011-4)
- Lu, X., Yin, Z., Sobotka, D., Wisniewski, K., Czerwionka, K., Xie, L., Zhou, Q., Makinia, J., 2017. Modeling the pH effects on nitrogen removal in the anammox-enriched granular sludge. *Water Sci. Technol.* 75, 378–386. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.530>
- Ma, B., Peng, Y., Zhang, S., Wang, J., Gan, Y., Chang, J., Wang, S., Wang, S., Zhu, G., 2013. Performance of anammox UASB reactor treating low strength wastewater under moderate and low temperatures. *Bioresour. Technol.* 129, 606–611. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.025>
- Ma, B., Yang, L., Wang, Q., Yuan, Z., Wang, Y., Peng, Y., 2017. Inactivation and adaptation of ammonia-oxidizing bacteria and nitrite-oxidizing bacteria when exposed to free nitrous acid. *Bioresour. Technol.* 245, 1266–1270. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.08.074>
- Ma, C., Jin, R.C., Yang, G.F., Yu, J.J., Xing, B.S., Zhang, Q.Q., 2012. Impacts of transient salinity shock loads on Anammox process performance. *Bioresour. Technol.* 112, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.122>
- Ma, Y., Domingo-Felez, C., Ploz, B.G., Smets, B.F., 2017. Intermittent Aeration Suppresses Nitrite-Oxidizing Bacteria in Membrane-Aerated Biofilms: A Model-Based Explanation. *Environ. Sci. Technol.* 51, 6146–6155. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00463>
- Ma, Y., Sundar, S., Park, H., Chandran, K., 2014. The effect of inorganic carbon on microbial interactions in a biofilm nitrification e anammox process. *Water Res.* 70, 246–254. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.12.006>
- Magr, A., Vanotti, M.B., Szgi, A. a, 2012. Anammox sludge immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) cryogel carriers. *Bioresour. Technol.* 114, 231–40. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.077>
- Malovanyy, A., Plaza, E., Trela, J., Malovanyy, M., 2015a. Ammonium removal by partial nitrification and Anammox processes from wastewater with increased salinity. *Environ. Technol. (United Kingdom)* 36, 595–604.

<https://doi.org/10.1080/09593330.2014.953601>

- Malovanyy, A., Trela, J., Plaza, E., 2015b. Mainstream wastewater treatment in integrated fixed film activated sludge (IFAS) reactor by partial nitrification/anammox process. *Bioresour. Technol.* 198, 478–487. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.123>
- Martienssen, M., Schops, R., 1997. Biological treatment of leachate from solid waste landfill sites - Alterations in the bacterial community during the denitrification process. *Water Res.* 31, 1164–1170.
- Martin, K.J., Nerenberg, R., 2012. The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment: Principles, applications, and recent developments. *Bioresour. Technol.* 122, 83–94. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.02.110>
- Miao, Y., Zhang, L., Yang, Y., Peng, Y., Li, B., Wang, S., Zhang, Q., 2016. Start-up of single-stage partial nitrification-anammox process treating low-strength sewage and its restoration from nitrate accumulation. *Bioresour. Technol.* 218, 771–779. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.06.125>
- Michels, J., Stuhmann, M., Frey, C., Koschitzky, H.P., 2008. Handlungsempfehlungen mit Methodensammlung, natürliche Schadstoffminderung bei der Sanierung von Altlasten.
- Mobarry, B.K., Wagner, M., Urbain, V., Rittmann, B.E., Stahl, D. a, Mobarry, B.K., Wagner, M., Urbain, V., Rittmann, B.E., Stahl, D. a, 1996. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria . These include : Phylogenetic Probes for Analyzing Abundance and Spatial Organization of Nitrifying Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2156–2162.
- Mozooni, M., 2017. Master Thesis Title Establishment of Nitritation Reactor under High Saline Conditions. Brandenburgisch Technische Universität Cottbus-Senftenberg.
- Mrkonjic Fuka, M., Gesche Braker, S.H., Philippot, L., 2007. Molecular Tools to Assess the Diversity and Density of Denitrifying Bacteria in Their Habitats, in: *Biology of the Nitrogen Cycle*. Elsevier, pp. 313–330. <https://doi.org/10.1016/B978-044452857-5.50021-7>
- Munz, G., Lubello, C., Oleszkiewicz, J. a, 2011. Factors affecting the growth rates of ammonium and nitrite oxidizing bacteria. *Chemosphere* 83, 720–5. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.058>
- Nadkarni, M., Martin, F.E., Jacques, N.A., Hunter, N., 2002. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad range (universal) probe and primer set. *Microbiology* 148, 257–266. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.5.1698>
- Nerenberg, R., 2016. The membrane-biofilm reactor (MBfR) as a counter-diffusional biofilm process. *Curr. Opin. Biotechnol.* 38, 131–136. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2016.01.015>
- Neumann, S., Wessels, H.J.C.T., Rijpstra, W.I.C., Sinninghe Damsté, J.S., Kartal, B., Jetten, M.S.M., van Niftrik, L., 2014. Isolation and characterization of a prokaryotic cell organelle from the anammox bacterium *Kuenenia stuttgartiensis*. *Mol. Microbiol.* 94, 794–802. <https://doi.org/10.1111/mmi.12816>
- Norton, J.M., Alzerreca, J.J., Suwa, Y., Klotz, M.G., 2002. Diversity of ammonia monooxygenase operon in autotrophic ammonia-oxidizing bacteria. *Arch. Microbiol.* 177, 139–149. <https://doi.org/10.1007/s00203-001-0369-z>
- Oshiki, M., Shimokawa, M., Fujii, N., Satoh, H., Okabe, S., 2011. Physiological characteristics of the anaerobic ammonium-oxidizing bacterium “Candidatus

- Brocadia sinica." Microbiology 157, 1706–1713. <https://doi.org/10.1099/mic.0.048595-0>
- Park, S., Bae, W., 2009. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process Biochem.* 44, 631–640. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.02.002>
- Pellicer-Nàcher, C., Franck, S., Gülay, A., Rusalleda, M., Terada, A., Al-Soud, W.A., Hansen, M.A., Sørensen, S.J., Smets, B.F., 2014. Sequentially aerated membrane biofilm reactors for autotrophic nitrogen removal: Microbial community composition and dynamics. *Microb. Biotechnol.* 7, 32–43. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12079>
- Pellicer-Nàcher, C., Sun, S., Lackner, S., Terada, A., Schreiber, F., Zhou, Q., Smets, B.F., 2010. Sequential aeration of membrane-aerated biofilm reactors for high-rate autotrophic nitrogen removal: Experimental demonstration. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7628–7634. <https://doi.org/10.1021/es1013467>
- Perez-Calleja, P., Aybar, M., Picioreanu, C., Esteban-Garcia, A.L., Martin, K.J., Nerenberg, R., 2017. Periodic venting of MABR lumen allows high removal rates and high gas-transfer efficiencies. *Water Res.* 121, 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.042>
- Persson, F., Suarez, C., Hermansson, M., Plaza, E., Sultana, R., Wilén, B.-M., 2016. Community structure of partial nitrification-anammox biofilms at decreasing substrate concentrations and low temperature. *Microb. Biotechnol.* 0. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12435>
- Persson, F., Sultana, R., Suarez, M., Hermansson, M., Plaza, E., Wilén, B.-M., 2014. Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification–anammox at low temperatures. *Bioresour. Technol.* 154, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.062>
- Philippot, L., Hallin, S., 2005. Finding the missing link between diversity and activity using denitrifying bacteria as a model functional community. *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.04.003>
- Picioreanu, C., Erez, J.P., Van Loosdrecht, M.C.M., 2016. Impact of cell cluster size on apparent half-saturation coefficients for oxygen in nitrifying sludge and biofilms. *Water Res.* 106, 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.017>
- Piculell, M., Suarez, C., Li, C., Christensson, M., Persson, F., Wagner, M., Hermansson, M., Jönsson, K., Welander, T., 2016. The inhibitory effects of reject water on nitrifying populations grown at different biofilm thickness. *Water Res.* 104, 292–302. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2016.08.027>
- Piculell, M., Welander, P., Jönsson, K., Welander, T., 2015. Evaluating the effect of biofilm thickness on nitrification in moving bed biofilm reactors. *Environ. Technol.* 37, 732–743. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1080308>
- Probian, C., Wülfing, A., Harder, J., 2003. Anaerobic Mineralization of Quaternary Carbon Atoms: Isolation of Denitrifying Bacteria on Dimethylmalonate Anaerobic Mineralization of Quaternary Carbon Atoms: Isolation of Denitrifying Bacteria on Dimethylmalonate. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 1866–1870. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.3.1866>
- Prosser, J.I., 2007. The Ecology of Nitrifying Bacteria, in: *Biology of the Nitrogen Cycle*. Elsevier, pp. 223–243. <https://doi.org/10.1016/B978-044452857-5.50016-3>
- Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J.M., Garcia, B., Sierra-Alvarez, R., Field, J. a., 2013. Kinetic characterization of Brocadia spp.-dominated anammox cultures. *Bioresour.*

- Technol. 139, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.001>
- Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J.M., Li, G.B., Dougless, A., Fuentes-Velasco, M., Sierra-Alvarez, R., Field, J.A., 2014a. High pH (and not free ammonia) is responsible for Anammox inhibition in mildly alkaline solutions with excess of ammonium. *Biotechnol. Lett.* 36, 1981–1986. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1564-8>
- Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J.M., Sierra-Alvarez, R., Field, J. a., 2014b. Nitrite (not free nitrous acid) is the main inhibitor of the anammox process at common pH conditions. *Biotechnol. Lett.* 36, 547–551. <https://doi.org/10.1007/s10529-013-1397-x>
- Quan, Z.-X., Rhee, S.-K., Zuo, J.-E., Yang, Y., Bae, J.-W., Park, J.R., Lee, S.-T., Park, Y.-H., 2008. Diversity of ammonium-oxidizing bacteria in a granular sludge anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) reactor. *Environ. Microbiol.* 10, 3130–9. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01642.x>
- Rathsack, K., Böllmann, J., Martienssen, M., 2014. Comparative Study of Different Methods for Analyzing Denitrifying Bacteria in Fresh Water Ecosystems. *J. Water Resour. Prot.* 6, 609–617. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2014.66059>
- Rothrock, M.J., Vanotti, M.B., Szögi, A. a, Gonzalez, M.C.G., Fujii, T., 2011. Long-term preservation of anammox bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 92, 147–57. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3316-1>
- Rotthauwe, J., Witzel, K., 1997. The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 4704–4712.
- Schmid, M., Schmitz-Esser, S., Jetten, M., Wagner, M., 2001. 16S-23S rDNA intergenic spacer and 23S rDNA of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: Implications for phylogeny and in situ detection. *Environ. Microbiol.* 3, 450–459. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00211.x>
- Schmid, M., Twachtmann, U., Klein, M., Strous, M., Juretschko, S., Jetten, M., Metzger, J.W., Schleifer, K.-H., Wagner, M., 2000. Molecular Evidence for Genus Level Diversity of Bacteria Capable of Catalyzing Anaerobic Ammonium Oxidation. *Syst. Appl. Microbiol.* 23, 93–106. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(00\)80050-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(00)80050-8)
- Schmid, M., Walsh, K., Webb, R., Rijpstra, W.I.C., van de Pas-Schoonen, K., Verbruggen, M.J., Hill, T., Moffett, B., Fuerst, J., Schouten, S., Damsté, J.S.S., Harris, J., Shaw, P., Jetten, M., Strous, M., 2003. Candidatus “*Scalindua brodae*”, sp. nov., Candidatus “*Scalindua wagneri*”, sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 26, 529–538. <https://doi.org/10.1078/072320203770865837>
- Seuntjens, D., Han, M., Kerckhof, F.-M., Boon, N., Al-Omari, A., Takacs, I., Meerburg, F., De Mulder, C., Wett, B., Bott, C., Murthy, S., Carvajal Arroyo, J.M., De Clippeleir, H., Vlaeminck, S.E., 2017. Pinpointing wastewater and process parameters controlling the AOB to NOB activity ratio in sewage treatment plants. *Water Res.* <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2017.11.044>
- Shanahan, J.W., Semmens, M.J., 2015. Alkalinity and pH effects on nitrification in a membrane aerated bioreactor: An experimental and model analysis. *Water Res.* 74, 10–22. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.12.055>
- Sinninghe Damsté, J.S., Rijpstra, W.I.C., Geenevasen, J. a J., Strous, M., Jetten, M.S.M., 2005. Structural identification of ladderane and other membrane lipids of planctomycetes capable of anaerobic ammonium oxidation (anammox). *FEBS J.* 272, 4270–83. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04842.x>

- Siripong, S., Rittmann, B.E., 2007. Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Res.* 41, 1110–1120. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.11.050>
- Snell, F.D., Snell, C.T., 1948. *Colorimetric methods of analysis; including some turbidimetric and nephelometric methods.*
- Sokoll, S., Holtappels, M., Lam, P., Collins, G., Schlüter, M., Lavik, G., Kuypers, M.M.M., 2012. Benthic nitrogen loss in the Arabian Sea off Pakistan. *Front. Microbiol.* 3, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00395>
- Sonthiphand, P., Hall, M.W., Neufeld, J.D., 2014. Biogeography of anaerobic ammonia-oxidizing (anammox) bacteria. *Front. Microbiol.* 5, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00399>
- Stecker, A., 1994. Leistungen unterschiedlicher Methoden für die Bestimmung der Biomasse auf porösen Trägermaterialien. Universität Halle.
- Stewart, P.S., 2003. GUEST COMMENTARIES Diffusion in Biofilms WHY IS DIFFUSION AN IMPORTANT PROCESS. *J. Bacteriol.* 185, 1485–1491. <https://doi.org/10.1128/JB.185.5.1485>
- Strebel, O., Duynisveld, W.H.M., Bottcher, J., 1989. Nitrate Pollution of Groundwater in Western Europe. *Ecosyst. Environ. Elsevier Sci. Publ. B.V* 26, 189–214.
- Strous, M., Fuerst, J. a, Kramer, E.H., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G., Jetten, M.S., 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* 400, 446–449. <https://doi.org/10.1038/22749>
- Strous, M., Heijnen, J.J., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50, 589–596. <https://doi.org/10.1007/s002530051340>
- Strous, M., Jetten, M., 1997. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing ( anammox ) sludge . Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing ( Anammox ) Sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 2446–2448.
- Strous, M., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 1999. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 0–3.
- Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M.W., Horn, M., Daims, H., Bartol-Mavel, D., Wincker, P., Barbe, V., Fonknechten, N., Vallenet, D., Segurens, B., Schenowitz-Truong, C., Médigue, C., Collingro, A., Snel, B., Dutilh, B.E., Op den Camp, H.J.M., van der Drift, C., Cirpus, I., van de Pas-Schoonen, K.T., Harhangi, H.R., van Niftrik, L., Schmid, M., Keltjens, J., van de Vossenberg, J., Kartal, B., Meier, H., Frishman, D., Huynen, M. a, Mewes, H.-W., Weissenbach, J., Jetten, M.S.M., Wagner, M., Le Paslier, D., 2006. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature* 440, 790–4. <https://doi.org/10.1038/nature04647>
- Terada, A., Lackner, S., Tsuneda, S., Smets, B.F., 2007. Redox-Stratification Controlled Biofilm (ReSCoBi) for Completely Autotrophic Nitrogen Removal: The Effect of Co-versus Counter-Diffusion on Reactor Performance. *Biotechnol. Bioeng.* 97, 40–51. <https://doi.org/DOI 10.1002/bit.21213>
- Third, K.A., Sliemers, A.O., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 2001. The CANON System ( Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite ) under Ammonium Limitation : *Syst. Appl. Microbiol.* 596, 588–596.

- Throbäck, I.N., Enwall, K., Jarvis, Å., Hallin, S., 2004. Reassessing PCR primers targeting nirS, nirK and nosZ genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49, 401–417. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.04.011>
- Tomaszewski, M., Cema, G., Ziemińska-Buczyńska, A., 2017. Significance of pH control in anammox process performance at low temperature. *Chemosphere* 185, 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.034>
- Torà, J. a, Lafuente, J., Baeza, J. a, Carrera, J., 2010. Combined effect of inorganic carbon limitation and inhibition by free ammonia and free nitrous acid on ammonia oxidizing bacteria. *Bioresour. Technol.* 101, 6051–8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.005>
- Torresi, E., Fowler, S.J., Polesel, F., Bester, K., Andersen, H.R., Smets, B.F., Ploz, B.G., Christensson, M., 2016. Biofilm Thickness Influences Biodiversity in Nitrifying MBBRs Implications on Micropollutant Removal. *Environ. Sci. Technol.* 50, 9273–9288. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02007>
- Val del Rio, A., Pichel, A., Fernandez-Gonzalez, N., Pedrouso, A., Fra-Vázquez, A., Morales, N., Mendez, R., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., 2018. Performance and microbial features of the partial nitrification-anammox process treating fish canning wastewater with variable salt concentrations. *J. Environ. Manage.* 208, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.007>
- van de Graaf, A., Bruijn, P. De, Robertson, L.A., Jetten, M.M., Kuenen, J.G., 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 142, 2187–2196.
- Van de Graaf, a a, Mulder, A., De Bruijn, P., Jetten, M.S.M., Robertson, L. a, Kuenen, J.G., 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1246–1251. <https://doi.org/PMC167380>
- Van de Vossenberg, J., Woebken, D., Maalcke, W.J., Wessels, H.J.C.T., Dutilh, B.E., Kartal, B., Janssen-Megens, E.M., Roeselers, G., Yan, J., Speth, D., Gloerich, J., Geerts, W., Van der Biezen, E., Pluk, W., Francoijs, K.J., Russ, L., Lam, P., Malfatti, S.A., Tringe, S.G., Haaijer, S.C.M., Op den Camp, H.J.M., Stunnenberg, H.G., Amann, R., Kuypers, M.M.M., Jetten, M.S.M., 2013. The metagenome of the marine anammox bacterium “*Candidatus Scalindua profunda*” illustrates the versatility of this globally important nitrogen cycle bacterium. *Environ. Microbiol.* 15, 1275–1289. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02774.x>
- van der Star, W.R.L., Abma, W.R., Blommers, D., Mulder, J.-W., Tokutomi, T., Strous, M., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M.C.M., 2007. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. *Water Res.* 41, 4149–63. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.044>
- Van Hulle, S.W., Volcke, E.I.P., Teruel, J.L., Donckels, B., van Loosdrecht, M.C.M., Vanrolleghem, P.A., 2007. Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 82, 471–480. <https://doi.org/10.1002/jctb>
- van Niftrik, L., Fuerst, J. a., Damsté, J.S.S., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2004. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 233, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.01.044>
- van Niftrik, L., Geerts, W.J.C., van Donselaar, E.G., Humbel, B.M., Webb, R.I., Fuerst, J. a, Verkleij, A.J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2008a. Linking ultrastructure and function in four genera of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: cell plan,

- glycogen storage, and localization of cytochrome C proteins. *J. Bacteriol.* 190, 708–17. <https://doi.org/10.1128/JB.01449-07>
- van Niftrik, L., Geerts, W.J.C., van Donselaar, E.G., Humbel, B.M., Webb, R.I., Harhangi, H.R., Camp, H.J.M.O. Den, Fuerst, J. a, Verkleij, A.J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2009. Cell division ring, a new cell division protein and vertical inheritance of a bacterial organelle in anammox planctomycetes. *Mol. Microbiol.* 73, 1009–19. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06841.x>
- van Niftrik, L., Geerts, W.J.C., van Donselaar, E.G., Humbel, B.M., Yakushevskaya, A., Verkleij, A.J., Jetten, M.S.M., Strous, M., 2008b. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: a membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria. *J. Struct. Biol.* 161, 401–10. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2007.05.005>
- van Niftrik, L., Jetten, M.S.M., 2012. Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria: Unique Microorganisms with Exceptional Properties. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 76, 585–596. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05025-11>
- Vázquez-Padín, J., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Méndez, R., Revsbech, N.P., 2010. Microbial community distribution and activity dynamics of granular biomass in a CANON reactor. *Water Res.* 44, 4359–70. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.05.041>
- Vázquez-Padín, J.R., Fernández, I., Morales, N., Campos, J.L., Mosquera-Corral, a, Méndez, R., 2011. Autotrophic nitrogen removal at low temperature. *Water Sci. Technol.* 63, 1282–8. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.370>
- Vlaeminck, S.E., Geets, J., Vervaeren, H., Boon, N., Verstraete, W., 2007. Reactivation of aerobic and anaerobic ammonium oxidizers in OLAND biomass after long-term storage. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 74, 1376–84. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0770-2>
- Wagner, M., Rath, G., Koops, H.-P., Flood, J., Amann, R., 1996. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants. *Water Sci. Technol.* 34, 237–244. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00514-8](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00514-8)
- WallisDeVries, M.F., 2017. Nitrogen deposition impacts on biodiversity in terrestrial ecosystems: Mechanisms and perspectives for restoration. *Biol. Conserv.* 212, 387–389. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2017.01.017>
- Wang, R., Terada, A., Lackner, S., Smets, B.F., Henze, M., Xia, S., Zhao, J., 2009. Nitritation performance and biofilm development of co- and counter-diffusion biofilm reactors: Modeling and experimental comparison. *Water Res.* 43, 2699–2709. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2009.03.017>
- Wang, S., Peng, Y., Ma, B., Wang, S., Zhu, G., 2015. Anaerobic ammonium oxidation in traditional municipal wastewater treatment plants with low-strength ammonium loading: widespread but overlooked. *Water Res.* 84, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.005>
- Wei, Q., Kawagoshi, Y., Huang, X., Hong, N., Van Duc, L., Yamashita, Y., Hama, T., 2016. Nitrogen removal properties in a continuous marine anammox bacteria reactor under rapid and extensive salinity changes. *Chemosphere* 148, 444–451. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.041>
- Weidinger, K., Neuhäuser, B., Gilch, S., Ludewig, U., Meyer, O., Schmidt, I., 2007. Functional and physiological evidence for a Rhesus-type ammonia transporter in *Nitrosomonas europaea*. *FEMS Microbiol. Lett.* 273, 260–267. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00805.x>

- Wett, B., 2007. Development and implementation of a robust deammonification process. *Water Sci. Technol.* 56, 81–8. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.611>
- Wiesmann, U., 1994. Biological nitrogen removal from wastewater, in: *Biotechnics/Wastewater*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 113–154. <https://doi.org/10.1007/BFb0008736>
- Windey, K., De Bo, I., Verstraete, W., 2005. Oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification (OLAND) in a rotating biological contactor treating high-salinity wastewater. *Water Res.* 39, 4512–20. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.09.002>
- Wobken, D., Lam, P., Kuypers, M.M.M., Naqvi, S.W.A., Kartal, B., Strous, M., Jetten, M.S.M., Fuchs, B.M., Amann, R., 2008. A microdiversity study of anammox bacteria reveals a novel *Candidatus Scalindua* phylotype in marine oxygen minimum zones. *Environ. Microbiol.* 10, 3106–3119. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01640.x>
- Xing, B.-S., Guo, Q., Yang, G., Zhang, J., Qin, T.-Y., Li, P., Ni, W., Jin, R., 2015a. The influences of temperature, salt and calcium concentration on the performance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) process. *Chem. Eng. J.* 265, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.12.007>
- Xing, B.-S., Guo, Q., Yang, G., Zhang, Z., Li, P., Guo, L., 2015b. The properties of anaerobic ammonium oxidation ( anammox ) granules: Roles of ambient temperature , salinity and calcium concentration. *Sep. Purif. Technol.* 147, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.04.035>
- Yang, J., Trela, J., Zubrowska-Sudol, M., Plaza, E., 2015. Intermittent aeration in one-stage partial nitritation/anammox process. *Ecol. Eng.* 75, 413–420. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.11.016>
- Yang, J., Zhang, L., Hira, D., Fukuzaki, Y., Furukawa, K., 2011. Anammox treatment of high-salinity wastewater at ambient temperature. *Bioresour. Technol.* 102, 2367–2372. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.101>
- Yi, Y., Yong, H., Ping, D.H., 2011. Effect of salt on anammox process. *Procedia Environ. Sci.* 10, 2036–2041. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.09.319>
- Young, B., Delatolla, R., Kennedy, K., Laflamme, E., Stintzi, A., 2017. Low temperature MBBR nitrification: Microbiome analysis. *Water Res.* 111, 224–233. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2016.12.050>
- Zhang, L., Narita, Y., Gao, L., Ali, M., Oshiki, M., Okabe, S., 2017. Maximum specific growth rate of anammox bacteria revisited. *Water Res.* 116, 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.027>
- Zhang, L., Zhang, S., Peng, Y., Han, X., Gan, Y., 2015. Nitrogen removal performance and microbial distribution in pilot- and full-scale integrated fixed-biofilm activated sludge reactors based on nitritation-anammox process. *Bioresour. Technol.* 196, 448–453. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.07.090>
- Zhang, X., Liang, Y., Ma, Y., Du, J., Pang, L., Zhang, H., 2016. Ammonia removal and microbial characteristics of partial nitrification in biofilm and activated sludge treating low strength sewage at low temperature. *Ecol. Eng.* 93, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.05.016>
- Zhu, S., Chen, S., 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquac. Eng.* 26, 221–237. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(02\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(02)00022-5)

## 8 Anhang

Anhang 1 Die wichtigsten Ergebnisse der partiellen Denitrifikation bei 0 mg TOC\*L<sup>-1</sup>

TOC 0	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NO <sub>3</sub> -N [mg N*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges. Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Bildung [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Abbau [%]	TOC Abbau [%]
HRT 1	1	21,7 ±0,4	7,5 ±0,2	91,0 ±5,8	0,2	0,2	-0,9	2,48	-
HRT 1,5	1,5	23,7 ±0,5	7,5 ±0,1	57,7 ±0,0	-1,2	0,0	0,0	-1,14	-
HRT 0,5	0,5	22,7 ±0,3	7,6 ±0,2	238 ±30,6	6,2	-1,9	0,0	4,48	-
HRT 0,25	0,25	21,7 ±0,9	7,0 ±0,8	452,0 ±13,3	-2,7	0,0	0,0	-2,64	-
HRT 0,1	0,1	21,6 ±0,6	6,5 ±0,6	899,3 ±0,0	-2,8	0,0	0,0	-2,82	-
HRT 0,5; Reinstamm	0,5	22,2 ±0,6	6,6 ±0,3	209,6 ±14,3	-3,6	0,5	0,5	-1,5	-
HRT 0,25; Reinstamm	0,25	22,1 ±0,1	6,4 ±0,0	461,7 ±11,3	-0,7	0,0	0,0-	-0,69	-

Anhang 2 Die wichtigsten Ergebnisse der partiellen Denitrifikation bei 25 mg TOC\*L<sup>-1</sup>

TOC 25	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NO <sub>3</sub> -N [mg N*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges. Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Bildung [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Abbau [%]	TOC Abbau [%]
--------	---------	------------	----	--	---------------------	------------------------------------	-----------------------------------	---------------------------------	---------------

HRT 1	1	22,0 ±0,4	7,8 ±0,1	93,0 ±0,3	4,7	5,9	0,1	18,3	75,7
HRT 1,5	1,5	24,4 ±0,7	7,8 ±0,3	67,2 ±0,0	8,9	7,8	0,1	8,8	66,3
HRT 0,5	0,5	22,8 ±0,7	7,6 ±0,2	257,7 ±14,1	21,5	3,2	0,1	18,3	61,6
HRT 0,25	0,25	21,5 ±1,0	7,5 ±0,3	445,6 ±19,8	5,8	1,8	-0,4	-5,8	59,0
HRT 0,1	0,1	21,5 ±0,6	7,2 ±0,3	932,5 ±0,0	13,5	6,8	-0,2	16,0	49,3
HRT 0,5; Reinstamm	0,5	21,9 ±0,5	7,3 ±0,1	204,6 ±10,1	-1,9	5,5	6,4	2,0	11,0
HRT 0,25; Reinstamm	0,25	21,7 ±0,0	7,2 ±0,2	479,5 ±23,4	5,3	5,9	0,0	5,0	52,0

Anhang 3 Die wichtigsten Ergebnisse der partiellen Denitrifikation bei 50 mg TOC\*L<sup>-1</sup>

TOC 50	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufkonz. NO <sub>3</sub> -N [mg N*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges. Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Bildung [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Abbau [%]	TOC Abbau [%]
HRT 1	1	22,4 ±0,3	7,9 ±0,2	98,4 ±1,5	15,9	10,0	0,3	32,7	85,5
HRT 1,5	1,5	24,7 ±0,7	8,0 ±0,2	76,2 ±0,0	17,1	15,3	-0,5	32,2	75,3
HRT 0,5	0,5	22,9 ±0,4	7,9 ±0,2	245,0 ±4,2	24,1	8,9	0,2	29,9	74,8
HRT 0,25	0,25	22,0 ±0,7	7,9 ±0,2	422,5 ±59,4	18,7	2,7	-22,4	9,6	75,0

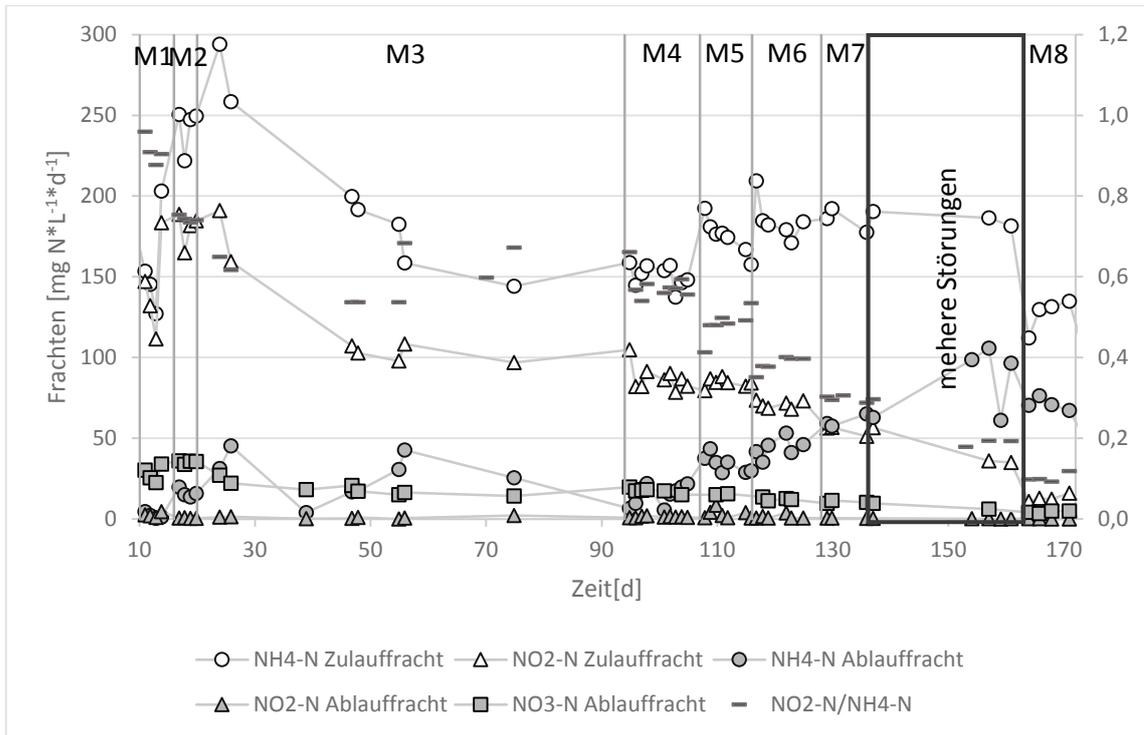
HRT 0,1	0,1	22,1 ±0,3	7,4 ±0,3	923,9 ±0,0	10,5	6,3	-0,9	20,7	53,5
HRT 0,5; Reinstamm	0,5	22,0 ±0,3	7,7 ±0,1	171,5 ±9,7	-0,1	10,9	12,0	7,4	34,1
HRT 0,25; Reinstamm	0,25	21,6 ±0,2	7,6 ±0,2	437,8 ±41,7	2,1	13,5	0,1	15,7	59,6

Anhang 4 Die wichtigsten Ergebnisse der partiellen Denitrifikation bei 100 mg TOC\*L<sup>-1</sup>

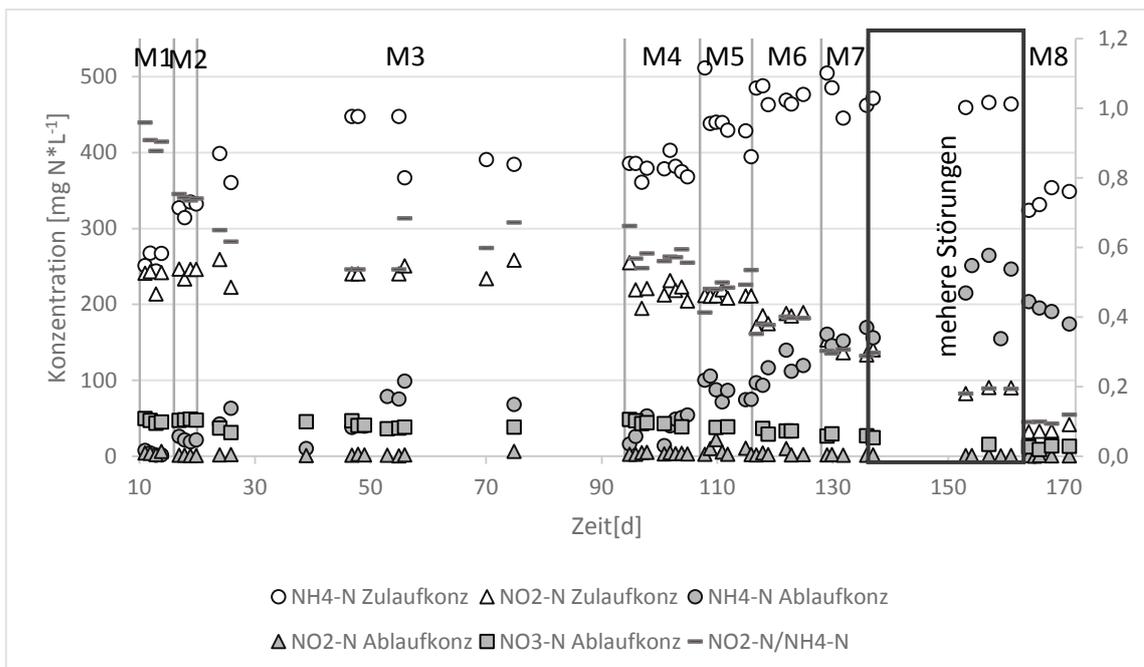
TOC 100	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulaufnachfr. NO <sub>3</sub> -N [mg N*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges. Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Bildung [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Abbau [%]	TOC Abbau [%]
HRT 1	1	22,6 ±0,6	8,1 ±0,2	96,8 ±5,7	44,2	22,3	0,1	71,6	80,4
HRT 1,5	1,5	24,6 ±0,6	8,2 ±0,4	67,3 ±0,0	18,5	33,8	0,5	53,6	67,3
HRT 0,5	0,5	22,8 ±0,3	8,2 ±0,2	226,8 ±12,8	36,5	20,9	-0,2	51,0	78,8
HRT 0,25	0,25	22,1 ±0,5	8,2 ±0,2	282,2 ±54,1	36,2	5,1	-98,3	27,5	78,3
HRT 0,1	0,1	22,1 ±0,3	7,9 ±0,2	755,4 ±0,0	32,0	31,5	0,2	37,6	68,5
HRT 0,5; Reinstamm	0,5	22,1 ±0,4	7,8 ±0,3	163,6 ±14,2	-0,1	19,2	36,1	34,1	38,2
HRT 0,25; Reinstamm	0,25	21,8 ±0,1	8,0 ±0,1	454,4 ±55,1	23,0	23,3	0,0	47,8	71,7

Anhang 5 Die wichtigsten Ergebnisse der partiellen Denitrifikation bei 200 mg TOC\*L<sup>-1</sup>

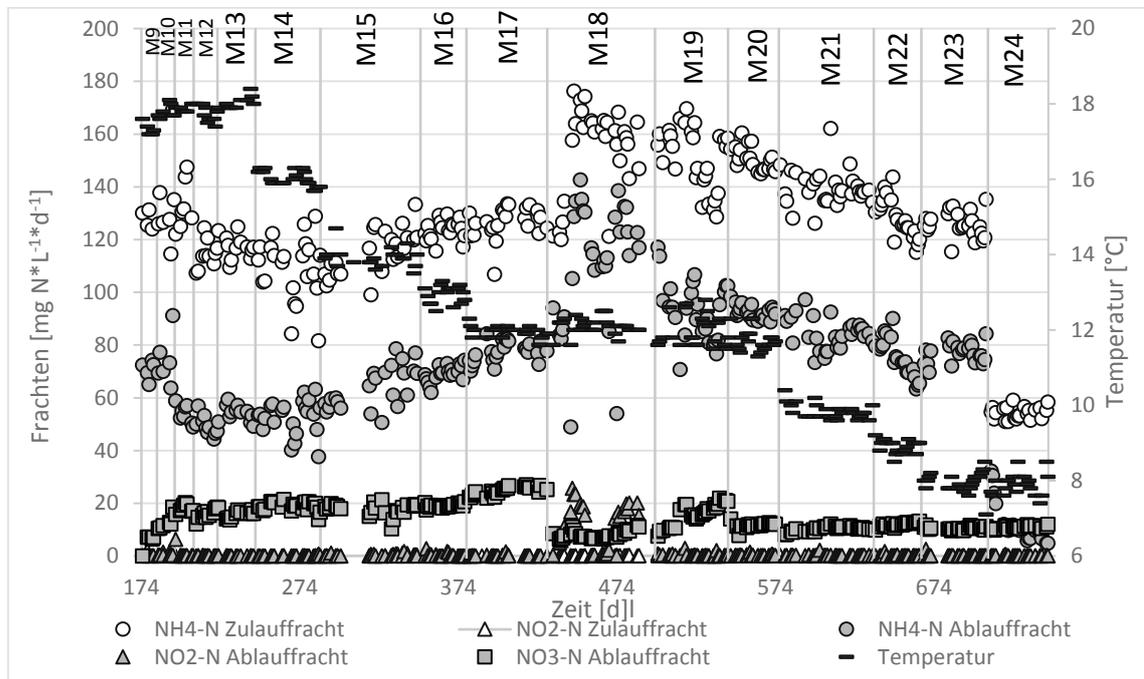
TOC 200	HRT [d]	Temp. [°C]	pH	Zulauffracht NO <sub>3</sub> -N [mg N*L <sup>-1</sup> *d <sup>-1</sup> ]	N-Ges Abbau [%]	NH <sub>4</sub> -N- Bildung [%]	NO <sub>2</sub> -N-Bildung [%]	NO <sub>3</sub> -N-Abbau [%]	TOC Abbau [%]
HRT 1	1	22,4 ±0,5	8,3 ±0,3	94,9 ±4,6	50,7	42,1	-8,3	98,3	74,7
HRT 1,5	1,5	24,5 ±0,6	8,5 ±0,2	68,4 ±0,0	38,9	59,2	-1,2	99,9	66,8
HRT 0,5	0,5	23,0 ±0,4	8,5 ±0,2	167,6 ±67,0	49,7	49,3	0,3	91,6	53,0
HRT 0,25	0,25	22,1 ±0,6	8,4 ±0,2	341,7 ±138,2	55,5	22,6	-78,4	95,5	50,9
HRT 0,1	0,1	22,0 ±0,5	8,2 ±0,3	854,8	34,3	43,7	0,6	83,0	39,7
HRT 0,5; Reinstamm	0,5	22,1 ±0,4	8,2 ±0,2	183,5 ±0,7	31,6	47,1	8,1	85,0	34,2
HRT 0,25; Reinstamm	0,25	21,9 ±0,1	8,2 ±0,1	436,7 ±31,3	36,8	40,6	-2,5	79,2	48,7



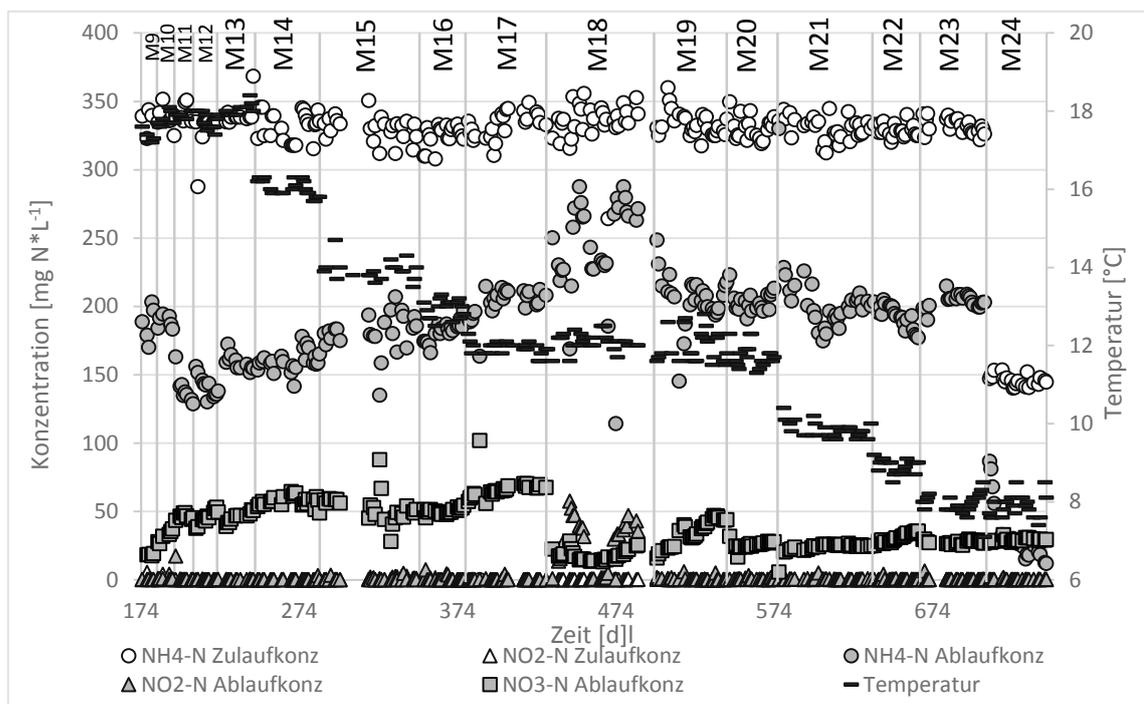
Anhang 6 Zu- und Ablaufrachten von Ammonium, Nitrit, Nitrat sowie das NO<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub>-Verhältnis im Zulauf in der Etablierungsphase des membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktors



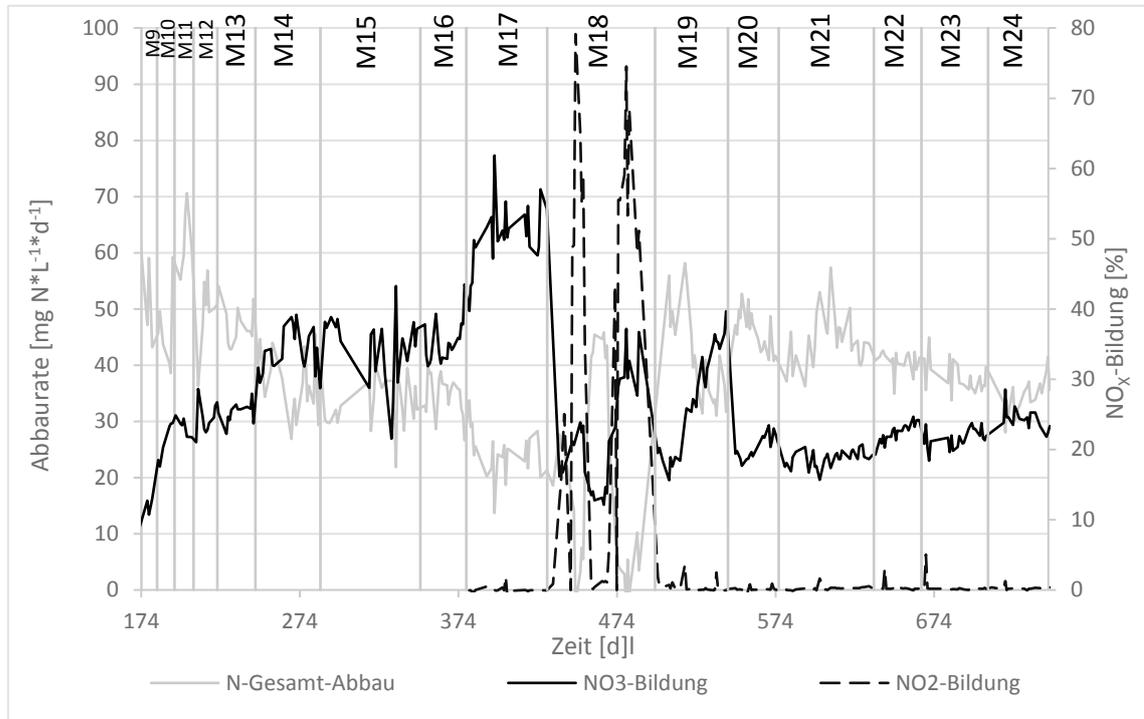
Anhang 7 Zu- und Ablaufkonzentrationen von Ammonium, Nitrit, Nitrat sowie das NO<sub>2</sub>/NH<sub>4</sub>-Verhältnis im Zulauf in der Etablierungsphase des membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktors



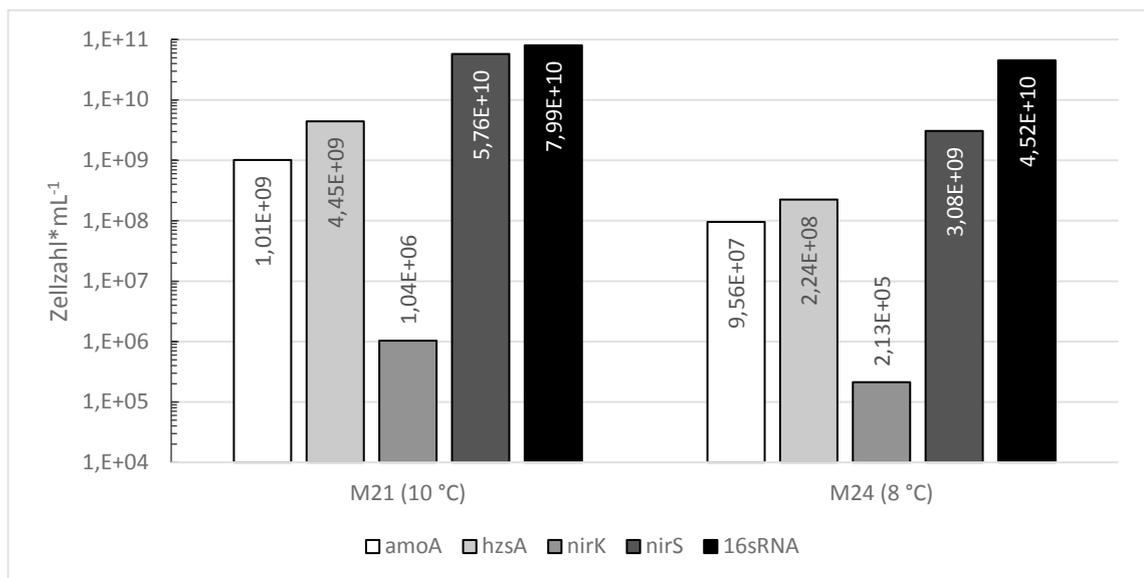
Anhang 8 Zu- und Ablaufkonzentrationen von Ammonium, Nitrit, Nitrat sowie des Temperaturgradienten des membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktors



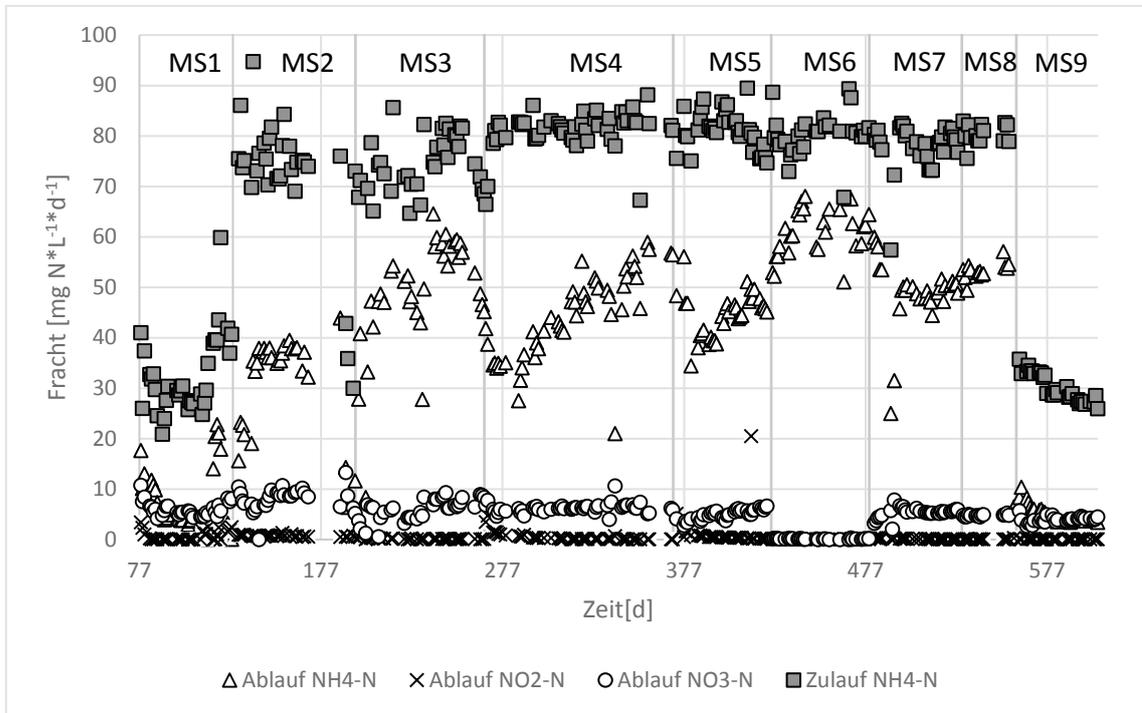
Anhang 9 Zu- und Ablaufkonzentrationen von Ammonium, Nitrit, Nitrat sowie das Temperaturgradienten des membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktors



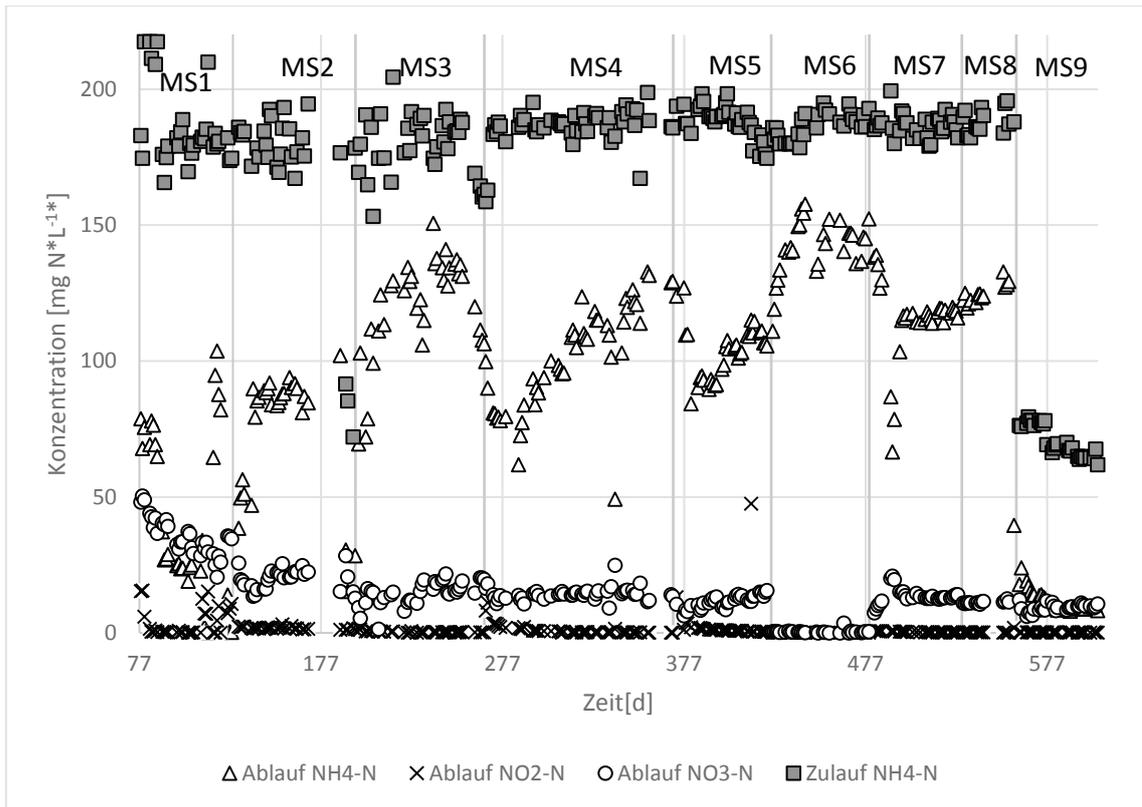
Anhang 10 N-Gesamt-Abbaureate,  $\text{NO}_3$ -N-Bildung und  $\text{NO}_2$ -N-Bildung bezogen auf den  $\text{NH}_4$ -N-Abbau des membranbelüfteten Niedrigtemperaturreaktors.



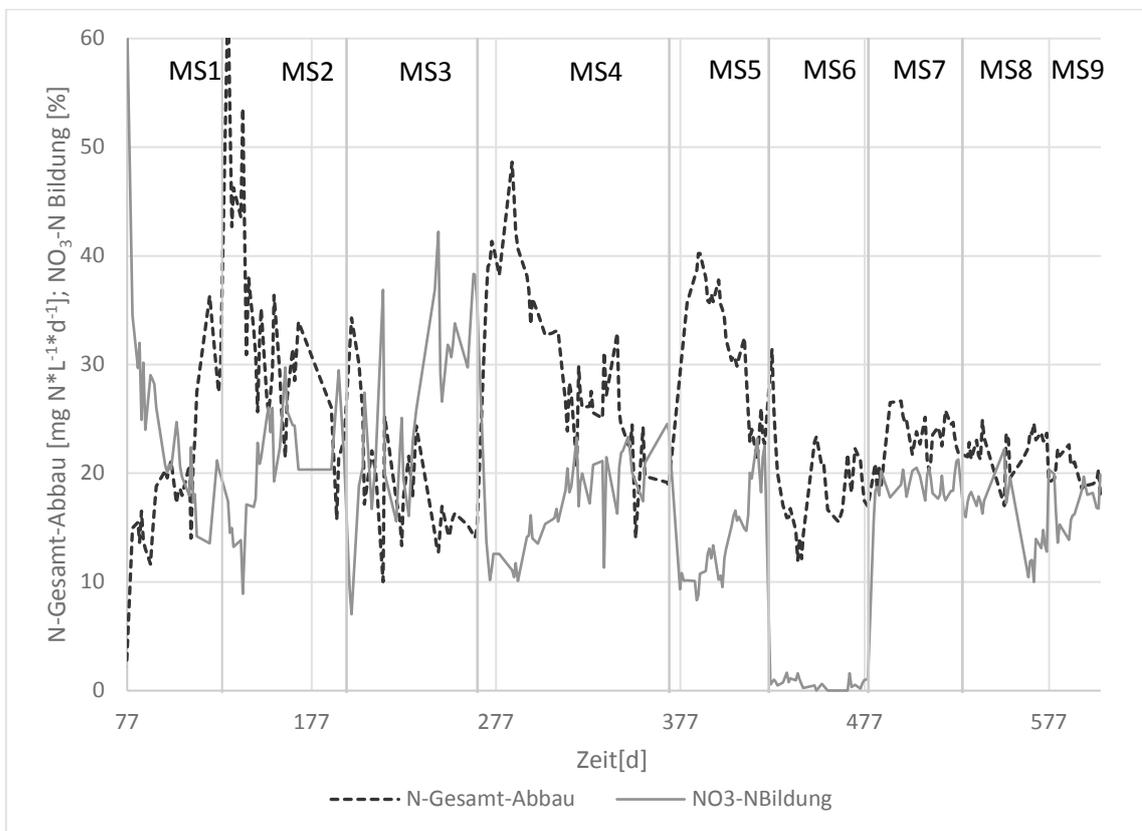
Anhang 11 Zeitliche Änderung der Zellzahlen der verschiedenen Gene auf den Anamoxträgern des membranbelüfteten Niedrigtemperatur-Reaktors über 159 Tage, ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf einen mL Biofilmmfrischmasse.



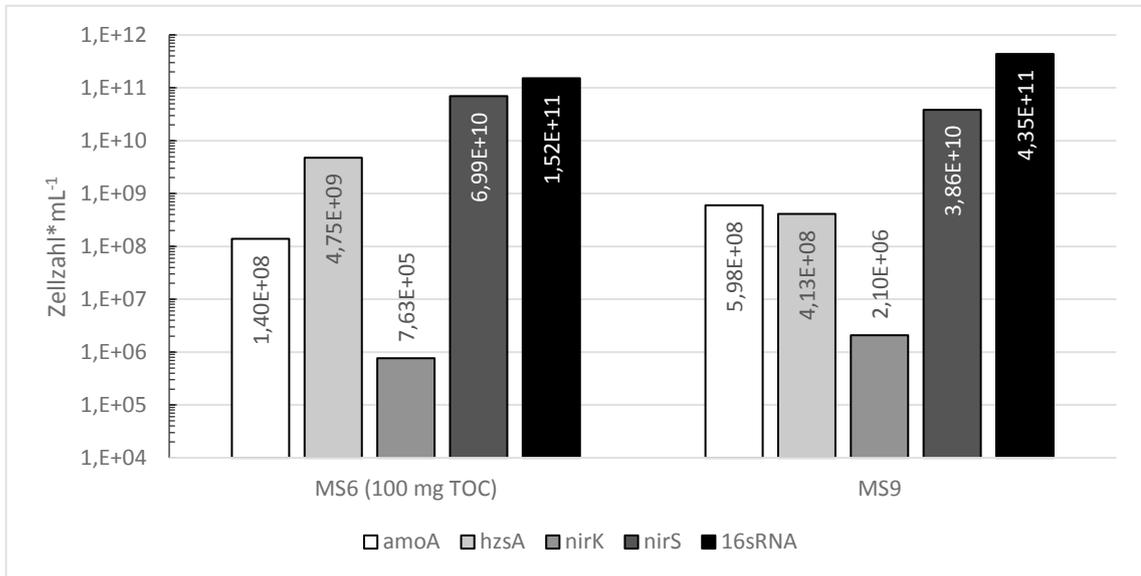
Anhang 12 NH<sub>4</sub>-N-Zulauffrachten des sowie NH<sub>4</sub>-N-, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N Abauffrachten des hochsalinen membranbelüfteten Reaktors.



Anhang 13  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Zulaufkonzentrationen des sowie  $\text{NH}_4\text{-N}$ -,  $\text{NO}_2\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$  Ablaufkonzentrationen des hochsalinen membranbelüfteten Reaktors.



Anhang 14 N-Gesamt-Abbau und  $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bildung bezogen auf den  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Abbau des hochsalinen membranbelüfteten Reaktors.



Anhang 15 Zeitliche Änderung Zellzahlen der verschiedenen Gene den Anammoxträgern des hochsalinen membranbelüfteten Reaktors über 142, ermittelt durch qPCR. Die mL-Angabe bezieht sich auf einen mL Biofilmfrischmasse.