

# **Partielle Nitrifikation / Anammox bei niedrigen Temperaturen**

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des  
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte  
DISSERTATION

von  
M. Sc. Eva Marianne Gilbert  
aus Frankfurt am Main

Referent: Prof. Dr. Harald Horn

Korreferent: Prof. Dr. Karl-Heinz Rosenwinkel

Korreferentin: Prof. Dr. Susanne Lackner

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.2014

*Schreiben ist gut, denken ist besser.*

- Hermann Hesse -

## Danksagung

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk einer einzelnen Person, deshalb möchte ich mich an erster Stelle bei einigen Menschen bedanken, die mir während der Promotion geholfen haben.

Für die Möglichkeit mit diesem Thema in dieser Umgebung zu promovieren, für die Ressourcen, Mittel und Möglichkeiten, dies professionell zu tun, für kritische und hilfreiche Unterstützung dabei, für den entgegengebrachten Respekt und das Vertrauen und vor allem für einiges sehr Lehrreiches: Prof. Dr. rer. nat. Harald Horn

Für das ehrliche Interesse an meiner Arbeit, für die Zeit und Mühe bei der Korrektur und für einen überraschend angenehmen Tag in Hannover: Prof. Dr.-Ing. Karl-Heinz Rosenwinkel

Für wunderbare Unterstützung und Betreuung, für das großzügige Entgegenkommen über die „üblichen“ Förderbedingungen hinaus: Dem Promotionsstipendienteam der Deutschen Bundesstiftung für Umwelt (DBU) und ganz besonders Dr. Hans-Christian Schäfer.

Dem weltallerbesten Hiwi: Nils Hillebrandt

Allen Studenten, allen voran Fabian Brunner, Steffen Becker, Tobias Dannenmeier, Sebastian Schuler: Von Preisen, von Boxen, von Makros, von Bildern, von Postern, von Sprüchen, von Sonden, von ...Es war mir eine Freude!!!

For sharing my enthusiasm for that topic and for so much more: Shelesh Agrawal

Der guten Seele der Doktoranden: Maria Pia Herrling. Deine Art hat mir immer wieder gut getan

Für die Ruhe und ganz viel Unterstützung: Fabian Brunner

Für Anregungen, Fragen, Hilfe, Zuspruch: Den anderen Doktoranden des Lehrstuhls, allen voran Chunyan Li, Florian Blauert, Samuel Welker, Norman Hack, Di Peng, Jueying Quian, Marc Tuczinsky

Für Messungen und deren Optimierung: Elly Karle und Rafael Peschke. Fand ich ganz toll. Toller noch fand ich die Stimmung auf dem Gang. Ich liebe euch!

Für die Wartung der Reaktoren, für Hilfe in Sachen Schlüsselgewalt und bei unzähligen Suchen nach allem Möglichen: Axel Heidt und Ulrich Reichert.

Für deine Art, „Laborgeschehen“ anzugehen, für geteilte Meinungen und Ansichten, für Verständnis und für Bierdurst: Steffi West. Fühl dich mal ganz fest gedrückt!

Erst mal noch für die Freude am tüfteln und Ideen, Ratschläge und Hilfe dabei – und mindestens genauso für viele gemeinsame Feierabendstunden: Dr. Michael Wagner

Für Unterstützung und Hilfe bei jeder Begegnung: Dr. Gudrun Abbt-Braun

Für unzählige Werkstattscheine und den Ton dabei: Dr. Markus Delay

Einfach dafür, dass du bist, wie du bist: Hajo Bitter

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Wasserchemie und Wassertechnologie, die ich hier im Zusammenhang mit der Arbeit nicht explizit aufführe: Ich hatte eine gute Zeit bei euch.

Für unzählige kleinere und größere Anfertigungen: Alfred Herbst und der gesamten Metallwerkstatt -  
Ich bin immer gerne zu euch gekommen

Für Spannung an der Anlage: Stefan Herbel und Matthias

Für den Grundstein meiner Promotion: Prof. Dr. Adalbert Freudenberger

Für die ganze Hilfe mit den Reaktoren (und auch sonst): Hubert Moosrainer

Für Motivation und alle Unterstützung, auch auf dem Schwierigeren von zwei Wegen: Meinen Eltern

Und von allen am allermeisten: Prof. Dr. Susanne Lackner

## **Kurzfassung**

Die Kombination aus Partieller Nitrifikation und Anammox (PNA) ist eine neuartige Methode zur biologischen Stickstoffelimination aus Abwasser. Sie wird bereits in zunehmendem Umfang großtechnisch zur Behandlung von industriellem Abwasser und in erster Linie von Faulschlamm-Zentrat eingesetzt. Eine Anwendung im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen ist aus Sicht der Forschung reizvoll, da sie wegen der vergleichsweise niedrigen Temperaturen und der einzuhaltenden Grenzwerte eine große Herausforderung darstellt. Eine erfolgreiche Anwendung dort birgt natürlich auch wirtschaftliche Vorteile, da allein wegen der großen Menge kommunalen Abwassers, die täglich in Deutschland anfällt, die Energieeinsparpotentiale im Vergleich zur konventionellen Stickstoffelimination enorm sind.

Im Rahmen dieser Promotion wurde die prinzipielle Eignung verschiedener Reaktorsysteme und Biomasse unterschiedlicher Größen-Ausprägungen für den Einsatz von PNA bei Hauptstrombedingungen untersucht. Hierfür wurde die jahreszeitlich bedingte Temperaturreduktion von 20°C im Sommer auf 10°C im Winter simuliert und dabei die Ammoniumstickstoffkonzentrationen im Zu- und Ablauf auf realistischem Niveau gehalten.

Es konnte gezeigt werden, dass mit allen Reaktorsystemen eine charakteristische Nitritakkumulation auftritt, wenn die Temperaturen unter 13-15°C fallen. Dies zeigt zunächst an, dass ein störender Nebenprozess, nämlich die aerobe Nitritoxidation, unter niedrigen Temperaturen leidet. Dies ist durchweg als positiv zu werten, da es die Prozessstabilität positiv beeinflusst. Weiter zeigt die Nitritakkumulation aber auch, dass der zweite Schritt der PNA, Anammox, ebenfalls unter niedrigen Temperaturen verlangsamt wird. Weitergehende Messungen der Umsatzraten der einzelnen Prozesse, die begleitend zur Prozessüberwachung durchgeführt wurden, belegten, dass die Nitritoxidation bereits bei höheren Temperaturen nachlässt als Anammox. Dies lässt den Rückschluss zu, dass eine höhere Anammoxkapazität die Prozessstabilität steigert. Wenn nämlich ausreichend Anammoxaktivität vorhanden ist, kann die durch die nachlassende Nitritoxidation initiierte Nitritakkumulation reduziert werden. Tatsächlich trat auch im Reaktorsystem, welches die besten Ausgangsbedingungen für Anammox, bot, am wenigsten Nitritakkumulation auf. Dieses war ein Reaktorsystem mit besonders dickem Biofilm, welcher viel dauerhaft anaerobes Milieu bot. Hier war sogar ein Rückgang der Nitritakkumulation zu beobachten, obwohl die Temperatur weiter fiel. So war in diesem Reaktorsystem bei 10°C eine gute Stickstoffeliminationsleistung zu erzielen.

Generell kann jedoch allen untersuchten Reaktorsystemen eine prinzipielle Eignung für PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen attestiert werden, da in vielen deutschen Kläranlagen die Temperatur nur tageweise unter den kritischen Temperaturbereich fällt.

Weiter wurde im Rahmen dieser Promotion eine Belüftungsstrategie entwickelt, mit der gezielt die Nitritoxidation unterdrückt werden kann – unabhängig von der Temperatur. Grundlage dafür waren Versuche, in denen erstmals gezeigt werden konnte, dass die Nitritoxidation nach kurzen Belüftungspausen erst zeitverzögert beginnt. Durch Wiederholung dieser Versuche mit verschiedenen Biomassen stellte sich heraus, dass diese Verzögerung immer dann einsetzt, sobald eine bestimmte Belüftungspausenzeit eingehalten wird. Zudem scheint die Dauer der Verzögerung über die Sauerstoffverfügbarkeit während der Belüftung beeinflussbar zu sein.

Im Laborreaktorbetrieb konnte die entwickelte Belüftungsstrategie sowohl bei 20°C als auch bei 10°C verifiziert werden. Dabei zeigte sich, dass damit nicht nur die Nitritoxidation erfolgreich unterdrückt werden kann - auch die Anammoxaktivität wird positiv beeinflusst.

## **Abstract**

Combining partial nitrification and anammox (PNA) established a new approach for biologically mediated nitrogen removal from wastewater. PNA is implemented in more and more full scale installations, mainly for treatment of centrate from dewatering digested sludge, but also for industrial wastewater. An application in the mainstream of municipal wastewater treatment plants is of great interest in research as the relatively low temperatures and the concentration restrictions represent a great challenge. Moreover, an application in the mainstream has a high economic potential as the energy savings would be huge in comparison to conventional nitrogen removal, due to the large quantities of municipal wastewater.

In this study, the general suitability of different reactor systems and biomass in different size dimensions was evaluated for PNA with respect to mainstream conditions. The seasonal temperature reduction from 20°C in summer to 10°C in winter was simulated while the ammonium concentrations in influent and effluent were kept at realistic levels.

It was proven that a characteristic nitrite accumulation occurs in all reactor systems, when the temperature drops below 13-15°C. Primarily, this nitrite accumulation indicates that the interfering aerobic nitrite oxidation suffers at low temperatures. This is a very positive result, as it helps stabilizing the overall PNA process. But the nitrite accumulation also indicates that the second step of PNA, anammox, suffers as well at low temperatures. Extended activity measurements, conducted for process monitoring, proved that nitrite oxidation starts collapsing before anammox is affected. This leads to the conclusion that a higher anammox capacity in the system enhances the process stability, as it would reduce the nitrite accumulation, which is initiated by decreasing nitrite oxidation. Nitrite accumulation was the least pronounced in the reactor system with the best preconditions for anammox. This was the reactor system with the thickest biofilm, which provided permanently anaerobic conditions in the inner core. And indeed, with this reactor system only a decrease in nitrite accumulation was observed, even as the temperature was further reduced. This led to a good process performance in terms of nitrogen removal at 10°C with this reactor system.

Basically all examined reactor are suitable for PNA at the conditions of mainstream municipal wastewater treatment, as in many wastewater treatment plants the temperature drops only on a few days per year below the critical temperature range.

In addition, a temperature independent aeration strategy for systematic suppression of the aerobic nitrite oxidation was developed. The basis for this aeration strategy was a test series, which proved for the first time that, after short aeration breaks, nitrite oxidation starts with a certain delay. Replications of those test series with different biomasses showed that on one hand this delay is always initiated

when a certain duration of the aeration breaks is kept. On the other hand, the duration of the delay itself seems to be manipulable via the oxygen availability during the aeration.

The reaction strategy was successfully verified in lab reactors at 20°C as well as at 10°C. The verification runs further showed that not only nitrite oxidation can be reduced successfully – the anammox activity is stimulated as well.

# Inhalt

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>1 Einleitung und theoretische Grundlagen</b>	<b>3</b>
1.1 Naturwissenschaftliche Grundlagen: Autotrophe Stickstoffelimination	6
1.1.1 Bakterielleres Wachstum	6
1.1.2 Autotrophe Stickstoffelimination	7
1.2 Verfahrenstechnische Grundlagen: Betriebsstrategien	12
1.2.1 Partielle Nitrifikation und Anammox	12
1.2.2 Nitrifikation	13
1.2.3 Großtechnische Anwendung von PNA	15
1.3 Fragestellung der Dissertation	17
<b>2 Material und Methodik</b>	<b>19</b>
2.1 Laborreaktoren	19
2.1.1 Steuerung	19
2.1.2 Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR)	20
2.1.3 Sequencing Batch Reactor (SBR)	21
2.1.4 Sauerstoffeintrag	23
2.2 Messung der mikrobiologischen Umsatzleistung	24
2.2.1 Batchversuche mit direkter Messung	24
2.2.2 Batchversuche mit indirekter Messung: Manometrische Respirometrie	25
2.3 Charakterisierung der Biomasse	27
<b>3 Einfluss niedriger Temperaturen auf PNA in verschiedenen Systemen</b>	<b>29</b>
3.1 Untersuchte Reaktorsysteme	30
3.1.1 Ursprung und Charakteristika der Biomassen	30
3.1.2 Versuchsbedingungen in den Laborreaktoren	32
3.2 Auswirkungen des Temperaturgradienten Sommer-Winter	35
3.2.1 Konzentrationsprofile in den Laborreaktoren	35
3.2.2 Umsatzleistung der Laborreaktoren	39
3.2.3 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse	39
3.2.4 Fazit: Auswirkungen des Temperaturgradienten Sommer-Winter	43
3.3 Umsatzleistung bei 20°C (Sommer)	49
3.3.1 Umsatzleistung der Laborreaktoren	49

3.3.2 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse	50
3.3.3 Fazit: Umsatzleistung bei 20°C (Sommer)	52
<b>3.4 Umsatzleistung bei 10°C (Winter)</b>	<b>54</b>
3.4.1 Umsatzleistung der Laborreaktoren	54
3.4.2 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse	54
3.4.3 Fazit: Umsatzleistung bei 10°C (Winter)	56
3.5 Temperaturabhängigkeit der beteiligten Prozesse	57
3.6 Fazit: Einfluss niedriger Temperaturen auf PNA in verschiedenen Systemen	60
<b>4 Prozesssteuerung bei niedrigen Temperaturen</b>	<b>62</b>
4.1 Belüftungsstrategie	62
4.1.1 Detailstudie zur lag-Phase von NOB	63
4.1.2 Laborreaktorstudie zur intermittierenden Belüftung	71
4.2 pH-Milieu	76
4.3 Fazit: Prozessbeeinflussung über Betriebsparameter	78
<b>5 Eignung und Grenzen von PNA in der kommunalen Abwasserbehandlung</b>	<b>79</b>
<b>6 Literatur</b>	<b>81</b>
<b>7 Eigene Publikationen, Stand November 2014</b>	<b>90</b>
7.1 ISI-Journale	90
7.2 Konferenzbeiträge	90
7.2.1 Präsentationen	90
7.2.2 Poster	90
<b>A Anhang</b>	<b>91</b>
A.1 Substratzusammensetzungen	91
A.1.1 Synthetisches Abwasser	91
A.1.2 Batchversuche (Aktivitätsmessungen und Versuchsreihe Belüftungspausen)	92
A.2 Berechnungen Umsatzraten	94
A.2.1 Manometrische Respirometrie	94
A.3 Aufbau Laborreaktoren	95
A.4 Anhang Detailstudie zur lag-Phase von NOB	96

## Abkürzungsverzeichnis

Anammox	<u>A</u> naerobe <u>A</u> mmonium <u>o</u> xidation
AOB	<u>A</u> mmonium <u>O</u> xidierende <u>B</u> akterien
AnAOB	<u>A</u> naerob <u>A</u> mmonium <u>O</u> xidierende <u>B</u> akterien
$c_s$	Substratkonzentration ( $\text{g l}^{-1}$ )
d	Durchmesser (mm bzw. $\mu\text{m}$ )
$d_{\text{area}}$	Äquivalentdurchmesser „Area-Durchmesser“ einer projektionsflächengleichen Kugel (mm bzw. $\mu\text{m}$ )
$d_{\text{Femax}}$	Äquivalentdurchmesser „maximaler Feret-Durchmesser“, dem maximalen Abstand zweier Tangenten, die senkrecht zur Messrichtung an die Partikelprojektion angelegt wurden. Entspricht dem maximalen Abstand zweier Pixel auf dem Umfang der Partikelprojektion (mm bzw. $\mu\text{m}$ )
ISE	Ionenselektive Elektrode (hier Ammonium- bzw. Nitratselektiv)
$K_S$	Affinitätskonstante. Beschreibt die Substratkonzentration, bei der 50% von $\mu_{\text{max}}$ erreicht werden ( $\text{g l}^{-1}$ )
MBBR	<u>M</u> oving <u>B</u> ed <u>B</u> iofilm <u>R</u> eactor
N/DN	Nitrifikation / Denitrifikation
NOB	<u>N</u> itrit <u>O</u> xidierende <u>B</u> akterien
OZ	Oxidationszahl
PNA	<u>P</u> artielle <u>N</u> itritation / <u>A</u> namnox
PGV	Partikelgrößenverteilung
P	Pumpe
p	Druck (hPa)
$\Delta p$	Druckdifferenz (hPa)
PIR	<u>P</u> ressure <u>I</u> ndication <u>R</u> ecord. Bezeichnet Anzeige und Aufzeichnung der Druckmessung
QIR	<u>Q</u> uality <u>I</u> ndication <u>R</u> ecord. Bezeichnet Anzeige und Aufzeichnung von Messwerten
QI	<u>Q</u> uality <u>I</u> ndication. Bezeichnet Anzeige verschiedener Messwerte
SBR	<u>S</u> equencing <u>B</u> atch <u>R</u> eactor
t	Zeit (d)
$t_{90}$	Ansprechzeit (hier: einer Elektrode). Zeitdauer bis zum Erreichen von 90 % einer sprunghaften Messwertveränderung
T	Temperatur ( $^{\circ}\text{C}$ )
V	Volumen
$V_{\text{Gasraum}}$	Volumen des Gasraums ( $\text{m}^{-3}$ )
$V_{\text{Medium}}$	Volumen der Flüssigphase ( $\text{m}^{-3}$ )
r	Umsatzrate ( $\text{g m}^{-3}\text{d}^{-1}$ )
$\mu$	Wachstumsrate ( $\text{d}^{-1}$ )
$\mu_{\text{max}}$	Maximale Wachstumsrate ( $\text{d}^{-1}$ )
$\mu_{20}$	Wachstumsrate bei $20^{\circ}\text{C}$ ( $\text{d}^{-1}$ )
$\theta$	Dimensionsloser Temperaturkoeffizient. Beschreibt die Änderung der Wachstumsrate je $^{\circ}\text{C}$



## 1 Einleitung und theoretische Grundlagen

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts schien der mikrobiologische Stickstoffkreislauf vollständig bekannt: Im Wesentlichen wird Stickstoff ( $N_2$ ) in Gewässern oder im Boden zu Ammonium ( $NH_4^+$ ) fixiert, welches von autotrophen Bakterien mit Sauerstoff ( $O_2$ ) über Nitrit ( $NO_2^-$ ) zu Nitrat ( $NO_3^-$ ) nitrifiziert wird. Dieses kann von vielen heterotrophen Bakterien anstelle von Sauerstoff zur Oxidation von organischem Substrat verwendet werden, wobei es wieder zu Stickstoff denitrifiziert wird.

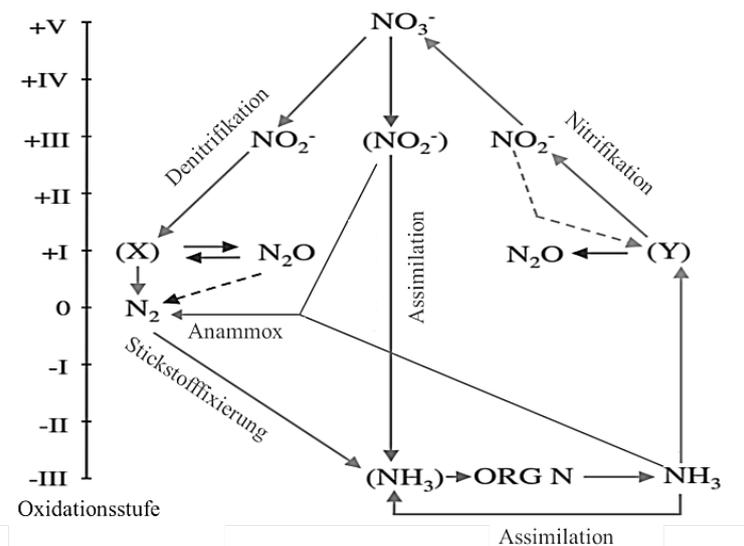


Abbildung 1-1 Stickstoffkreislauf (Codispoti et al., 2001)

In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts wurde wegen der zunehmenden Gewässerbelastung durch Nährstoffe ein verbesserter Stickstoffabbau in Kläranlagen gefordert und 1992 in Form von Stickstoffgrenzwerten vorgeschrieben, wie sie heute in der Abwasserverordnung stehen (AbwV, 1997). Zu deren Einhaltung wurde die mikrobiologische Stickstoffumwandlung technisch genutzt: Der im Abwasser enthaltene anorganische Stickstoff liegt im Kläranlagenzulauf in Form von Ammonium vor und wird zunächst aerob nitrifiziert, das dabei entstehende Nitrat dann in Abwesenheit von gelöstem Sauerstoff denitrifiziert. Technisch aufwändig ist dabei vor allem die Denitrifikation, da ein zusätzliches unbelüftetes Klärbecken geschaffen und Substrat für die heterotrophen Denitrifikanten bereitgestellt werden muss. Dies wird meist über die vorgeschaltete Denitrifikation gelöst: Das im Abwasser enthaltene organische Substrat wird genutzt, wodurch zugleich Belüftungsenergie in der aeroben Stufe eingespart wird. Dazu muss allerdings ein Großteil des gereinigten Abwassers zurückgepumpt werden, da Nitrat erst nach der Nitrifikation im aeroben Becken im dann biologisch gereinigten Abwasser enthalten ist.

Zeitgleich zur Implementierung der Nitrifikation/Denitrifikation (N/DN) auf kommunalen Kläranlagen wurden Ende des 20. Jahrhunderts vereinzelt auftretende Unregelmäßigkeiten in der Stickstoffbilanz verschiedener technischer Abwassersysteme genauer untersucht. Dabei wurde ein weiterer Schritt der mikrobiologischen Stickstoffumwandlung entdeckt: Bei der anaeroben Ammoniumoxidation (Anammox) wird Ammonium mit Nitrit direkt zu Stickstoff oxidiert. Seither wurde dieser Prozess, der tatsächlich für 50 % des marinen Stickstoffaustrags verantwortlich ist (Arrigo, 2005), soweit erforscht, dass er mittlerweile zur Behandlung einseitig stickstoffbelasteter Abwässer ( $C:N < 1$ ) eingesetzt werden kann.

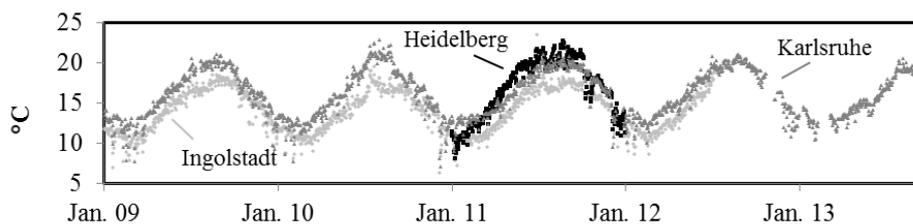
Die im Begriff Anammox enthaltene Beschreibung der Mileubedingungen „anaerob“ bezeichnet die Abwesenheit von gelöstem Sauerstoff. Vor allem im ingenieurtechnischen Begriffsgebrauch wird die Bezeichnung „anoxisch“ verwendet, die dem Vorhandensein des im Nitrat (oder Nitrit) gebundenen – und biologisch verfügbaren – Sauerstoffs Rechnung trägt. In der vorliegenden Dissertation wurde auf die Verwendung der Bezeichnung „anoxisch“ jedoch gänzlich verzichtet. Daher steht im Folgenden „anaerob“ immer für die Abwesenheit von gelöstem Sauerstoff, auch wenn Nitrit oder Nitrat vorhanden sind.

In mittlerweile über 100 großtechnischen Anlagen (Lackner et al., 2014) werden über die Kombination von partieller Nitritation und Anammox (PNA, im deutschen Sprachgebrauch auch Deammonifikation) solche Abwässer behandelt. Dazu zählen v.a. Abwässer aus Vergärungsprozessen, allen voran das aus der Schlammfäulung auf kommunalen Kläranlagen, welches im separaten Teilstrom behandelt wird, bevor es dem Hauptstrom der Kläranlage zugeführt wird. Weitere Abwässer stammen aus Lebensmittelproduktionen wie Schlachthöfen oder Molkereien, sowie Gerbereien und Düngemittelfabriken oder Gülle. Die Behandlung mittels PNA senkt den Belüftungsenergiebedarf im Vergleich zur N/DN dabei um bis zu 60%.

Beim Einsatz in der kommunalen Abwasserbehandlung würde diese Reduktion im Energiebedarf wegen der großen Abwasserströme eine enorme Energieeinsparung bedeuten: Die Belüftung ist der größte Energieverbraucher auf kommunalen Kläranlagen - und diese wiederum machen ca. 20 % des Energieverbrauchs aller Anlagen und Gebäude im öffentlichen Sektor aus (Leutert et al., 2008).

Der Einsatz von PNA würde eine vollständige Neuausrichtung der kommunalen Abwasserbehandlung bedeuten. Momentan handelt es sich bei der Abwasserbehandlung in erster Linie um eine Abwasserreinigung zur Einhaltung von Grenzwerten, die auf den Kenntnissen des vergangenen Jahrhunderts beruht. Heute gewinnen Klimaschutz und Ressourcenschonung zunehmend an Bedeutung, wodurch eine reine Abwasserreinigung nicht mehr zeitgemäß ist. Zukünftig werden auch die gasförmigen Emissionen der Abwasserreinigung beachtet werden und eine Nutzung der Ressourcen im Abwasser in den Vordergrund rücken.

Die Umsetzung von PNA auf kommunalen Kläranlagen wäre ein wichtiger Schritt in diese Richtung. Für eine erfolgreiche Umsetzung von PNA müssen zwei Faktoren sichergestellt werden; die Aufrechterhaltung von stabilen und möglichst hohen Umsatzraten und die weitgehende Unterdrückung störender Mikroorganismen, deren Wachstum die notwendigen Mikroorganismen verdrängt. In dieser Hinsicht sind die Bedingungen im kommunalen Abwasser alles andere als ideal: Anders als bei der Teilstrombehandlung auf kommunalen Kläranlagen wird das behandelte Abwasser direkt in Oberflächengewässer eingeleitet und unterliegt damit strengen Ablaufgrenzwerten. Daher müssen die Stickstoffkonzentrationen im Ablauf der Reaktoren dort sehr gering gehalten werden. Die daraus resultierenden Limitierungen in der Substratversorgung der Mikroorganismen verlangsamen das mikrobiologische Wachstum. Die große Bandbreite an Inhaltsstoffen erschwert zudem die gezielte Kultivierung bestimmter Gruppen von Mikroorganismen. Als größte Limitierung gilt jedoch die Temperatur. Diese ist vergleichsweise niedrig und unterliegt außerdem einem ausgeprägten jahreszeitlichen Gradienten: Von moderaten 20°C im Sommer fällt sie auf 10°C im Winter (siehe Abbildung 1-2).



**Abbildung 1-2 Jahresgang gemessener Temperaturen in Reaktoren zur kommunalen Abwasserbehandlung in Süddeutschland. Daten aus persönliche Kommunikation mit den Betreibern (Heidelberg: M. Oehlke (31.07.2012), Karlsruhe: U. Kohnle, 27.09.2013 und Ingolstadt: K. Thoma (07.2012))**

In den letzten Jahren haben verschiedene Studien gezeigt, dass PNA in technischen Systemen auch unterhalb von 20°C umgesetzt werden kann (de Clippeleir et al., 2013; Hu et al., 2013; Persson et al., 2013; Vázquez-Padín et al., 2011; Winkler et al., 2011). Damit wurde bereits prinzipiell gezeigt, dass der Einsatz von PNA im Hauptstrom möglich ist. Für diese Dissertation wurden die beiden zentralen Fragen zur Realisierung von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen aufgegriffen und untersucht:

1. Wie wirkt sich der jahreszeitliche Temperaturgradient auf die beteiligten Prozesse aus?
2. Wie können bei den gegebenen Rahmenbedingungen der kommunalen Abwasserbehandlung die beteiligten Prozesse gezielt beeinflusst werden?

## 1.1 Naturwissenschaftliche Grundlagen: Autotrophe Stickstoffelimination

### 1.1.1 Bakterielleres Wachstum

Die Ansprüche an Nährstoffe und Milieubedingungen variieren bei verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen. Prinzipiell beziehen chemotrophe Bakterien Energie chemisch aus der Umwandlung von energiereichen Stoffen, indem sie sie als Elektronendonator mit Hilfe eines Elektronenakzeptors wie z.B. Sauerstoff oxidieren. Dieser Energiestoffwechsel wird als Katabolismus bezeichnet und in hydro-, litho- und organotroph eingeteilt, wenn Wasser, anorganisches oder organisches Substrat als Elektronendonator dient. Für den Baustoffwechsel, den sog. Anabolismus, wird Energie verbraucht. Da für den Zellaufbau immer Kohlenstoff (C) benötigt wird, erfolgt eine Unterscheidung nur je nachdem, ob organische oder anorganische C-Quellen genutzt werden als organo- oder autotroph. (Eikmanns and Eikmanns, 2001; Fuchs, 2006; Schink, 2006)

Die spezifische Wachstumsrate von Mikroorganismen hängt prinzipiell von der Konzentration an Elektrodendonator und –akzeptor ab, und steigt bei niedrigen Konzentrationen steil mit der Konzentration an bis sie sich ihrem Maximum annähert. Dies wird durch die Monod-Kinetik beschrieben:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S} \quad \text{Formel 1-1}$$

Dabei ist  $\mu$  die Wachstumsrate ( $d^{-1}$ ) bzw.  $\mu_{max}$  die maximale Wachstumsrate ( $d^{-1}$ ) und  $c_S$  die Substratkonzentration ( $g\ l^{-1}$ ). Die Affinitätskonstante  $K_S$  beschreibt die Substratkonzentration, bei der 50% von  $\mu_{max}$  erreicht werden. Diese Affinitätskonstanten spielen eine wichtige Rolle in Mischkulturen: Bei niedrigen Substratkonzentrationen setzen sich z.B. eher Spezies mit geringen Affinitätskonstanten durch. So kann über die Konzentrationen im Medium auch gezielt selektiert werden kann. Generell gibt es K-Strategen, die bei niedrigen Substratkonzentrationen wachsen können und r-Strategen, die insgesamt schneller wachsen, dafür aber höhere Substratkonzentrationen benötigen. (Schink, 2006; Steinmann-Keller, 2001)

Bakterien registrieren über Rezeptoren Änderungen von Substratverfügbarkeit und Milieubedingungen. Je nach zu messendem Parameter sind diese Rezeptoren auf der Zelloberfläche oder im Zellinneren lokalisiert. Auf Veränderungen hin übertragen sie Signale an Regulatoren, welche entsprechende Enzyme steuern, woraufhin z.B. neue Proteine mit anderen Funktionen, enzymatisch oder strukturell, gebildet werden. Die Dauer der Signalübertragung und die Steuerung der Enzyme verursacht eine Wachstumsverzögerung, die sogenannte lag-Phase. Deren Dauer ist vom Zustand der Kultur und dem Ausmaß der Veränderung der Wachstumsbedingungen abhängig. Zu ausgeprägten lag-Phasen kommt es z.B. nach Substratmangel oder Hemmungen. (Jahn, 2001; Schink, 2006)

Bezüglich des optimalen Temperaturbereichs werden Bakterien in psychrophil (<20°C), mesophil (20-40°C) und thermophil (>40°C) eingeteilt. Unterhalb des jeweiligen Temperaturbereichs findet kein Wachstum statt und oberhalb werden zelluläre Komponenten zerstört, was den Zelltod zur Folge hat. Innerhalb des Temperaturbereichs führt eine Erhöhung der Temperatur zur Beschleunigung der Wachstumsrate (Eikmanns and Eikmanns, 2001; Fuchs, 2006). Da diese Steigerung auf der schnelleren Reaktionsgeschwindigkeit der biochemischen Prozesse beruht, kann sie über van't Hoff-Arrhenius abgeschätzt werden (Metcalf and Eddy, 2003a):

$$\mu_{T_1} = \mu_{T_2} \cdot \theta^{T_1 - T_2} \quad \text{Formel 1-2}$$

Dabei ist  $\mu$  die Wachstumsrate ( $d^{-1}$ ) bzw.  $\mu_T$  die Wachstumsrate bei einer bestimmten Temperatur (z.B.  $\mu_{20^\circ C}$  die Wachstumsrate bei 20°C ( $d^{-1}$ )),  $\theta$  ein dimensionsloser Temperaturkoeffizient und  $T$  die Temperatur (°C). Um bakterielles Wachstum bei verschiedenen Temperaturen zu beschreiben, muss die Monod-Kinetik (Formel 1-1) miteinbezogen werden (Zhu and Chen, 2002):

$$\mu = \mu_{20^\circ C} \cdot \theta^{T-20} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S} \quad \text{Formel 1-3}$$

Der Temperaturkoeffizient  $\theta$  wird in der Regel als konstant angenommen, ändert sich in Wirklichkeit jedoch stark mit der Temperatur (Metcalf and Eddy, 2003a). Als typisch für biologische Systeme gelten Werte für  $\theta$  von 1,02 bis 1,10 (Metcalf and Eddy, 2003b). In der Praxis wird oft nach der van't Hoff'schen Regel, auch Reaktionsgeschwindigkeits-Regel (RGT) ein Wert von 2-4 als typisch für  $\theta_{10}$ , dem Wert bei einer Temperaturreduktion um 10°C, angenommen. Dies entspricht einem Bereich von 1,07-1,14. Für die Auslegung von Kläranlagen wird z.B. die Annahme eines Wert von 3 für  $\theta_{10}$  empfohlen (Gujer, 2008), was einem Wert von 1,12 für  $\theta$  entspricht.

### 1.1.2 Autotrophe Stickstoffelimination

In der Abwasserbehandlung ist die Elimination von Stickstoff eine Überführung von im Wasser gelösten Stickstoffverbindungen in gasförmige Stickstoffverbindungen, idealerweise  $N_2$ . Im Abwasser liegt Stickstoff in seiner reduziertesten Form (Oxidationszahl (OZ) -III), je nach pH-Wert als Ammonium ( $NH_4^+$ ) oder Ammoniak ( $NH_3$ ) vor. Dessen Oxidation zu Nitrit ( $NO_2^-$ , OZ +III) und weiter zu Nitrat ( $NO_3^-$ , OZ +V) dient zur Energiegewinnung für den Anabolismus nitrifizierender Bakterien. Da diesen Bakterien Kohlendioxid als Kohlenstoffquelle für den Katabolismus dient, ist die biologische Stickstoffoxidation immer (chemolitho)autotroph. In der konventionellen Abwasserbehandlung wird Nitrat dann bei der Oxidation von organischem Substrat heterotroph zu Stickstoff ( $N_2$ , OZ 0) reduziert.

Bei Anammox dient Nitrit als Elektronenakzeptor für die direkte Oxidation von Ammonium zu Stickstoff, wodurch Stickstoff rein autotroph aus dem Wasser eliminiert werden kann.

### ***Ammoniumoxidation***

Die bakterielle Oxidation von Ammonium bzw. Ammoniak mit Sauerstoff als Elektronenakzeptor zu Nitrit wird als Ammoniumoxidation bzw. Nitritation bezeichnet. Aufgrund von Untersuchungen zu Enzymkinetik und pH-Optima (Bergeron, 1978; Drozd, 1976; Suzuki et al., 1974; Wyffels et al., 2004) und der Durchlässigkeit der intrazytoplasmatischen Membran für Ammoniak (Kleiner, 1985), gilt heute Ammoniak und nicht Ammonium als Substrat der Nitritation (Kowalchuk & Stephen, 2001). Da bei neutralen pH-Werten überwiegend Ammonium vorliegt, führt die Nitritation in der Wasserphase zu folgender Stöchiometrie:



In der Zelle wird Stickstoff nacheinander in zwei enzymkatalysierten Reaktionen umgewandelt. Die Oxidation von  $NH_3$  zu Hydroxylamin ( $NH_2OH$ ) wird durch das membrangebundene Enzym Ammoniak-Monooxygenase (AMO) katalysiert (Hollocher and Tate, 1981):



Katalysiert durch das periplasmatische Enzym Hydroxylamin-Oxidoreduktase (HAO), assoziieren die beiden Reaktionsprodukte dann ohne Sauerstoffverbrauch weiter zu Salpetriger Säure ( $HNO_2$ ):



Von den dabei entstehenden vier Elektronen werden zwei in der AMO-katalysierten Reaktion (Formel 1-5) verbraucht und die beiden anderen zur Energiegewinnung durch die Reduzierung von Sauerstoff zu Wasser verwendet (Kowalchuk and Stephen, 2001).

Kohlendioxid wird mit Hilfe einer Carboxylase-Oxygenase entsprechend dem Calvin-Zyklus fixiert (Sayavedra-soto and Arp, 2011).

Die freiwerdenden  $H^+$ -Ionen führen zu einer Absenkung des pH-Wertes, was wiederum eine Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes von Ammoniak zu Ammonium bewirkt und damit die Substratverfügbarkeit reduziert. Da ein aktiver Transportmechanismus zur Aufnahme von Ammoniak angenommen wird (Weidinger et al., 2007), ist Nitritation teilweise auch noch im leicht sauren Milieu, wenn fast ausschließlich Ammonium vorliegt, möglich (Boer et al., 1991; Tarre and Green, 2004).

Die verantwortlichen Bakterien werden unter der Bezeichnung Ammonium- bzw. Ammoniak-Oxidierende Bakterien (AOB) zusammengefasst und, basierend auf ihrer Zellmorphologie, in verschiedene Gattungen eingeteilt. Sie zählen zu den gramnegativen  $\beta$ - (*Nitrosomonas* und

*Nitrospira*) bzw.  $\gamma$ - (*Nitrosococcus*) Proteobakterien (Bock and Wagner, 2006). Heute sind 26 Arten in Reinkultur vorhanden (Koops and Pommerening-Röser, 2001), die alle unterschiedliche Substrataffinitäten und Milieuoptyma aufweisen. *Nitrosomonas europaea*, die am eingehendsten untersuchte Spezies, toleriert z.B. sehr hohe Ammonium - und/oder Ammoniakkonzentrationen ( $> 1000 \text{ mg l}^{-1} \text{ N}$ ). *Nitrospira* sind typische K-Strategen, wohingegen *Nitrosomonas* r-Strategen sind (Andrews, 1986).

Der pH-Bereich reicht von 6,5 bis 8,8 (Kowalchuk and Stephen, 2001) und die Temperaturabhängigkeit folgt Arrhenius, wobei niedrigere Temperaturen möglicherweise *Nitrospira* gegenüber *Nitrosomonas europaea* und *Nitrosomonas eutropha* begünstigen (Siripong and Rittmann, 2007; Wells et al., 2009). Genauere Angaben wurden für *Nitrosomonas europaea* formuliert (Hunik et al., 1994), die einen etwas flacheren Anstieg mit der Temperatur ergeben als frühere Angaben zu *Nitrosomonas* generell (Knowles et al., 1965):

$$\mu_{max, N.europaea} = 0,47 \cdot 1,103^{T-15} \quad \text{Formel 1-7}$$

In Abwassersystemen finden sich üblicherweise Spezies der Gattung *Nitrosomonas* (Norton, 2011), wobei auch *Nitrospira* nachgewiesen wurden (Park et al., 2002).

### **Nitritoxidation**

In natürlichen Systemen und der konventionellen Abwasserbehandlung folgt die Oxidation von Nitrit zu Nitrat, die Nitritoxidation bzw. Nitratation, i.d.R. direkt auf die Nitritation, weshalb diese terminologisch meist zur Nitrifikation zusammengefasst werden.

Das dritte Sauerstoffatom im Nitrat stammt aus Wasser (Formel 1-8), wobei wiederum Protonen und Elektronen freierwerden (Aleem et al., 1965).



Diese werden dann unter Sauerstoffverbrauch wieder zu Wasser (Formel 1-9), woraus sich in der Wasserphase die gesamte Stöchiometrie (Formel 1-10) ergibt.



Das verantwortliche Enzym wird bei *Nitrobacter* als Nitrit-Oxidoreduktase (NOR) bzw. bei *Nitrospira*, *Nitrospina* und *Nitrococcus* als Nitrit-Oxidierendes System (NOS) bezeichnet (Spieck and Bock, 2005). Auch bei der Kohlendioxidfixierung gibt es möglicherweise Abweichungen zwischen den einzelnen Gattungen, auch wenn sie wohl meist, katalysiert von einer Carboxylase-Oxygenase, entsprechend dem Calvin-Zyklus erfolgt (Sarkenburg et al., 2011).

Die ebenfalls gramnegativen Nitrit-Oxidierende Bakterien (NOB) sind in vier Gattungen unterteilt: *Nitrobacter* ( $\alpha$ -Proteobakterien), *Nitrococcus* ( $\gamma$ -Proteobakterien), *Nitrospina* (vermutlich  $\delta$ -Proteobakterien) und *Nitrospira* (eigene Linie), die sich alle morphologisch unterscheiden (Sarkenburg et al., 2011; Spieck and Bock, 2005).

Neben den drei Gattungen, die mit Temperaturoptima  $> 30^{\circ}\text{C}$  als mesophil gelten, ist seit kurzem auch die psychrophile *Candidatus Nitrotoga arctica* bekannt. *Nitrotoga* ist auch bei  $4^{\circ}\text{C}$  noch aktiv und wurde im Sediment von Fließ- und Stillgewässer sowie in Abwassersystemen gefunden (Alawi et al., 2009). Auch thermophile Spezies von *Nitrospira* sind bekannt (Daims et al., 2011). Generelle Temperaturabhängigkeiten wurden erstmals für *Nitrobacter* berechnet (Knowles et al., 1965):

$$\mu_{max, Nitrobacter} = 0,78 \cdot 1,06^{T-15} \quad \text{Formel 1-11}$$

Später wurden auch noch spezifische Abhängigkeiten für *Nitrobacter agilis* berechnet (Hunik et al., 1994), die etwas flacher verlaufen.

Die am eingehendsten untersuchten Spezies, *Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrobacter vulgaris* und *Nitrobacter hamburgensis* haben ihr pH-Optimum zwischen 7,5 und 8,0 und tolerieren sehr hohe Substratkonzentrationen ( $> 500 \text{ mg l}^{-1} \text{ N}$ ). Generell haben Bakterien der Gruppe *Nitrospira* eine höhere Substrataffinität (Hunik, 1993) und Sauerstoffaffinität (Downing and Nerenberg, 2008; Schramm et al., 2000), weswegen sie als K-Strategen einzuordnen sind (Schramm et al., 1999). Das macht *Nitrospira* im Gegensatz zu den r-Strategen *Nitrobacter* (Schramm et al., 1999) in Mischsystemen vermutlich konkurrenzfähiger.

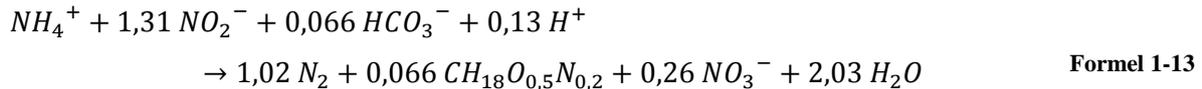
Nachdem lange *Nitrobacter* als die vorherrschende Gattung in Abwassersystemen galt, ist mittlerweile bekannt, dass eigentlich *Nitrospira* zahlenmäßig häufiger vorkommen (Sarkenburg et al., 2011).

### **Anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox)**

Noch vor der Entdeckung des Anammox-Prozesses wurde basierend auf thermodynamischen Berechnungen eine theoretisch mögliche Reaktionsgleichung aufgestellt (Broda, 1977):



Jahre später wurde der Prozess tatsächlich beobachtet und konnte auch auf mikrobiologische Aktivitäten zurückgeführt werden (van de Graaf et al., 1995). Allerdings wurde in weitergehenden Untersuchungen festgestellt, dass Ammonium und Nitrit nicht in einem 1:1-Verhältnis abnehmen und außerdem Nitrat entsteht. Die empirisch gefundene Stöchiometrie des Anammox-Prozesses lautet, inkl. Anabolismus, mit Hydrogenkarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) als Kohlenstoffquelle und  $\text{CH}_{18}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}$  stellvertretend für die Zusammensetzung der Biomasse (Strous et al., 1998):



Nach aktuellem Kenntnisstand verläuft der Katabolismus in mindestens drei Teilreaktionen ab (Jetten et al., 2009), beginnend mit einer membranassoziierten Reduktion:



Dann wird, katalysiert von der Hydrazinhydrolase, Ammonium mit NO als Elektronenakzeptor zu Hydrazin (N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) oxidiert:



N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> wird dann, katalysiert durch die Hydrazinoxidoreductase über Diimin (N<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) weiter zu N<sub>2</sub> oxidiert (Schalk et al., 2000; Strous et al., 2006). Mit den dabei freiwerdenden vier Elektronen wird Nitrit zu NH<sub>2</sub>OH reduziert.



Für den Anabolismus wird dabei CO<sub>2</sub> bzw. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> über den Acetyl-CoA-Weg fixiert, wobei Nitrat entsteht (Strous et al., 2006). Insgesamt muss der katabolische Anammoxprozess fünfzehnmal durchlaufen werden, um ein Molekül Kohlendioxid zu fixieren (Strous et al., 1998). Bei der Oxidation von Nitrit zu Nitrat werden die Elektronen frei, die zur Reduzierung von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> als Kohlenstoffquelle für den Biomasseaufbau gebraucht werden (Van de Graaf et al. 1996). Die Reaktion wird von dem membrangebundenen Enzym Nitritoxidoreduktase katalysiert:



Anammox-Bakterien, oder anaerob ammoniumoxidierende Bakterien (AnAOB) gehören zur Familie der *Planctomycetes*, die unter den gramnegativen Bakterien einen separaten Zweig darstellt.

Es sind fünf Gattungen bekannt, die auch erfolgreich angereichert, allerdings (noch) nicht vollständig isoliert werden konnten und daher die Bezeichnung Candidatus tragen: *Brocadia*, *Kuenenia*, *Anammoxoglobus*, *Jettenia* und *Scalindua* (Kartal et al., 2011). Die Gattung *Scalindua* wurde in den Tiefenzonen und im Sediment von Ozeanen gefunden, während die anderen vier Gattungen alle ursprünglich aus verschiedenen Abwasserbehandlungsanlagen stammen (Jetten et al., 2009). Belebtschlamm enthält i.d.R. zu etwa einem Prozent AnAOB (Kartal et al., 2011).

Der pH-Bereich reicht von 6,7 bis 8,3, mit einem Optimum zwischen 7,5 und 8,0 (Dapena-Mora et al., 2007; Egli, 2003; Strous et al., 1999). Die maximale Umsatzrate wird bei 37°C erreicht, Anammoxaktivität wurde zwischen 10 °C und 43 °C beobachtet (Egli, 2003; Strous et al., 1999).

AnAOB sind in Anwesenheit von geringen Mengen gelöstem Sauerstoff (0,03 mg/l) vollständig, aber reversibel, gehemmt (Strous et al. 1997; Jetten et al. 1998; Egli 2003; Third et al. 2005). Zu viel Nitrit hemmt ihren Metabolismus vollständig, wobei die kritischen Konzentrationen vermutlich von Art zu Art stark variieren und bis zu 400 mg l<sup>-1</sup> betragen können (Dapena-Mora et al., 2007; Egli, 2003; Lotti et al., 2012; Strous et al., 1999).

## 1.2 Verfahrenstechnische Grundlagen: Betriebsstrategien

### 1.2.1 Partielle Nitrifikation und Anammox

Die Kombination aus partieller Nitrifikation und Anammox (PNA), im deutschsprachigen Raum auch Deammonifikation, ist in erster Linie die Kombination eines aeroben und eines anaeroben Prozesses. Um dies zu ermöglichen, werden aerobe und anaerobe Verhältnisse entweder zeitlich oder räumlich getrennt (vgl. Abbildung 1-3).

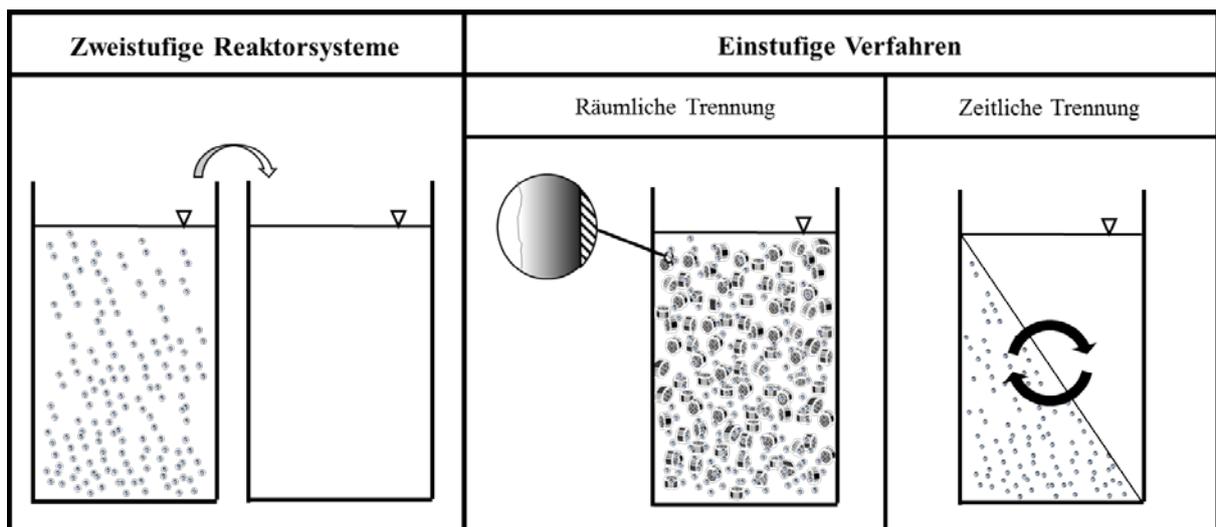


Abbildung 1-3 Schematische Darstellung zwei- und einstufiger Verfahrensvarianten. Einstufige Verfahren zusätzlich mit räumlicher oder zeitlicher Trennung der aeroben und anaeroben Verhältnisse.

Eine räumliche Trennung durch einen aeroben und einen anaeroben Reaktor ist naheliegend und die ersten Anammox-Anlagen wurden auch zweistufig gebaut (van der Star et al., 2007). Dabei wird in einem ersten aeroben Reaktor ca. 50% des Ammoniums zu Nitrit oxidiert. In einem zweiten anaeroben Reaktor werden das restliche Ammonium und das gebildete Nitrit über Anammox zu Stickstoff umgewandelt.

Die Trennung von aeroben und anaeroben Bedingungen kann auch auf einer anderen Skala erfolgen (vgl. Abbildung 1-3): Da die Versorgung von Sauerstoff im Biofilm durch Diffusion und Zehrung begrenzt ist, herrschen in den tieferen Schichten des Biofilms anaerobe Verhältnisse. So kann Anammox trotz hoher Sauerstoffkonzentration in der Wasserphase in den tieferen Schichten eines

Biofilms z.B. auf Aufwuchsträgern stattfinden (Rosenwinkel and Cornelius, 2005; Szatkowska et al., 2007). Auch in anderen Biofilmsystemen, wie z.B. mit granulierter Biomasse wird dieser Effekt genutzt (van der Star et al., 2007; Vlaeminck et al., 2008). Sogar in Biomassen, die als suspendiert klassifiziert werden, wurde dieser Effekt beobachtet, da zu keiner Zeit Nitrit gemessen wurde nachdem eine Umstellung auf kontinuierliche Belüftung erfolgte (Joss et al., 2009).

Eine zeitliche Trennung kann erfolgen, indem Belüftungs- und Rührphasen hintereinander durchlaufen werden. Dabei soll Nitrit in der Belüftungsphase produziert und in der Rührphase verbraucht werden, was im Betrieb auch beobachtet werden kann (J. Hennerkes, Ruhrverband, persönliche Kommunikation, 8.4.2013). Die Länge von Belüftungs- und Rührphasen kann entweder zeitlich begrenzt sein oder z.B. über pH-Wert (Wett et al., 2007) oder Redoxpotential (Lackner and Horn, 2012) reguliert werden.

### 1.2.2 Nitratation

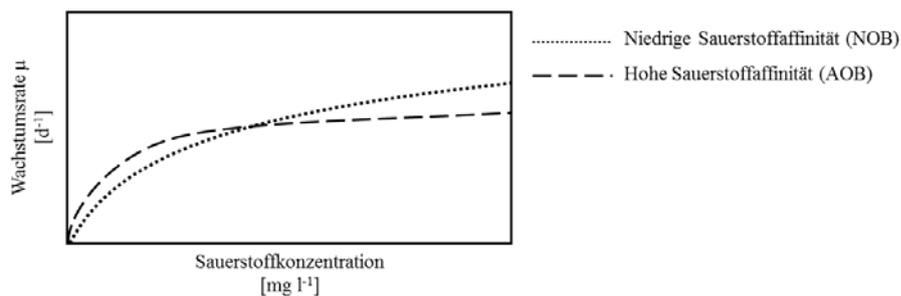
Da die Grundlage für die Kombination von Nitratation und Anammox immer die Bereitstellung von Ammonium und Nitrit ist, muss die Oxidation von Nitrit, und damit der Stoffwechsel von NOB, unbedingt vermieden werden.

Ein Vergleich der empirisch ermittelten Temperaturabhängigkeiten (Formel 1-7 und Formel 1-11) lässt annehmen, dass NOB bei niedrigeren Temperaturen schneller wachsen als AOB, da ihre Temperaturabhängigkeitskurven flacher verlaufen. Brockmann (2006) hat die in verschiedenen Studien gemessenen Temperaturabhängigkeiten für AOB und NOB verglichen und konnte zeigen, dass die Temperatur oberhalb der AOB schneller wachsen als NOB von 17°C (Hunik et al., 1994) bis 28°C (Knowles et al., 1965; Wett and Rauch, 2003) variiert. Basierend auf diesen unterschiedlich stark ausgeprägten Temperaturabhängigkeiten von AOB und NOB wird generell davon ausgegangen, dass sich die Hemmung von NOB mit sinkender Temperaturen immer schwieriger gestaltet.

Es gibt verschiedene Ansätze zur Hemmung von NOB, die in der autotrophen Stickstoffelimination angewandt werden – mit wechselndem Erfolg. Für eine fundierte Strategie zur dauerhaften Unterdrückung von NOB müssen die Langzeitwirkung, bzw. das Adaptionsverhalten berücksichtigt werden. Zum Einsatz einer gezielten spezifischen Hemmung muss die Wirkung auf die jeweilig vorhandenen Spezies an NOB, aber auch auf AOB und AnAOB bekannt sein.

In der Abwasserbehandlung, insbesondere der kommunalen Abwasserbehandlung, kann eine Hemmung von NOB nur über verfahrenstechnische Eingriffe erfolgen, da eine Zudosierung von Hemmstoffen wegen ihrer generellen Giftigkeit und/oder wegen der damit verbundenen Kosten ausgeschlossen ist. Daher kommen generell zwei Ansätze zur gezielten Unterdrückung von NOB in Frage: Variationen in der Belüftung und (leichte) Variationen des pH-Wertes.

Betreffend der Belüftung herrscht die Annahme, dass AOB sauerstoffaffiner sind als NOB (Blackburne et al., 2008a; Knowles et al., 1965; Wett and Rauch, 2003), also bereits bei niedrigeren Sauerstoffkonzentrationen höhere Umsatzraten erreichen (vgl. Abbildung 1-4). Da sie nachweislich bei dauerhaft niedrigen Sauerstoffkonzentrationen weiterhin Ammonium umsetzen können (Goreau et al., 1980; Kester et al., 1997; Park and Noguera, 2004), wäre eine Ausselektion von NOB möglich – sofern diese sich nicht adaptieren, bzw. sich nicht sauerstoffaffinere NOB-Arten durchsetzen. Weiterhin wurde als mögliche Unterdrückungsstrategie eine ausgeprägte lag-Phase von NOB nach dem Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen postuliert (Turk, 1987), nachdem ein „Abbruch der Nitrifikation bei dem Zwischenprodukt Nitrit“ beobachtet (Alleman, 1984) und auch ausgenutzt (Turk and Mavinic, 1986) wurde. Ein Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen kann technisch durch intermittierende Belüftung realisiert werden, wobei auch schon mehrfach negative Effekte auf NOB beobachtet wurden (Katsogiannis et al., 2003; Villaverde et al., 2000; Yoo et al., 1999).



**Abbildung 1-4 Graphische Darstellung unterschiedlicher Sauerstoffaffinitäten.**

Anthonisen et al. (1976) hat pH-abhängige Hemmungen von sowohl AOB als auch NOB festgestellt und  $\text{NH}_3$  als Ursache für die Hemmung bei hohen pH-Werten angeführt. Demnach werden NOB bei sehr niedrigen Konzentrationen gehemmt, während auf AOB ihr eigentliches Substrat erst in deutlich höheren Konzentrationen hemmend wirkt. Von einer solchen spezifischen NOB-Hemmung durch  $\text{NH}_3$  wurde zwar wiederholt berichtet (Turk and Mavinic, 1989; Villaverde et al., 2000), aber auch von hohen Toleranzen (Simm, 2006) und Akklimationisierung von NOB an hohe  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen (Kim et al., 2006; Turk and Mavinic, 1989; Wong-Chong and Loehr, 1978).

### 1.2.3 Großtechnische Anwendung von PNA

*Die Recherche zu den in diesem Kapitel vorgestellten großtechnischen PNA-Anlagen war Grundlage für einen Artikel, der unter dem Titel ‚Full-scale Partial Nitrification/Anammox Experiences - an Application Survey‘ in Water Research veröffentlicht wurde und zusätzliche Informationen zur Betriebsstabilität enthält (Lackner et al., 2014)*

Wie in Kapitel 1.2.1 angedeutet, wurden die ersten großtechnischen PNA-Anlagen zweistufig gestaltet, mit einer räumlichen Trennung von Nitrifikation und Anammox. Im letzten Jahrzehnt hat zunehmende Betriebserfahrung mit PNA dazu geführt, dass heute vor allem einstufige Systeme existieren. Diese werden vor allem in Moving Bed Biofilm Reactors (MBBR) mit auf Aufwuchsträgern wachsenden Biofilmen (Rosenwinkel and Cornelius, 2005), als Internal Circulation (IC) Reaktoren mit granulierter Biomasse (Abma et al., 2010; van der Star et al., 2007) und als Sequencing Batch Reactors (SBR) mit suspendierter Biomasse (Joss et al., 2009; Wett, 2007) betrieben. Es gibt auch einzelne biofilmbewachsene Scheibentauchkörper (Hippen and Rosenwinkel, 1997) und Reaktoren mit getrennter Separation und Rückführung von suspendierter Biomasse (Desloover et al., 2011).

In rund 75% der großtechnischen PNA-Anlagen wird Schlammzentrat aus der Klärschlammwässerung kommunaler Kläranlagen im sogenannten Teilstrom behandelt (Lackner et al., 2014). Diese Namensgebung rührt daher, dass Schlammzentrat im Normalfall direkt in der Kläranlage behandelt, „in den Hauptstrom zurückgeführt“ wird. Dort verschiebt es das Verhältnis von Stickstoff zu Kohlenstoff (C:N-Verhältnis), da der verhältnismäßig geringe Volumenstrom eine hohe Stickstofffracht und kaum Kohlenstoff einbringt. Daher ist auf vielen Kläranlagen eine Seitenstrom-Behandlung vorteilhaft, um den Bedarf an Belüftungsenergie und externen Kohlenstoffquellen (für die Denitrifikation) zu senken. In den restlichen 25% der großtechnischen PNA-Anlagen werden industrielle Abwässer mit ebenfalls niedrigem C:N-Verhältnis behandelt, beispielsweise aus Milchprodukten- oder fleischverarbeitendem Gewerbe, aus Düngemittelproduktion sowie Gülle und Deponiesickerwässer. Meist liegt das C:N-Verhältnis bei  $< 2$  und die Stickstoffkonzentrationen betragen grob  $500-1500 \text{ mgNH}_4^+-\text{N l}^{-1}$  (Beier et al., 2008; Lackner et al., 2014; Metzner et al., 2008; Sander et al., 2010). Davon bleiben im Ablauf der PNA-Anlagen oft nur noch  $< 100 \text{ mgNH}_4^+-\text{N l}^{-1}$  (Lackner et al., 2014). Da immer auch Kohlenstoff vorhanden ist, wird ein Teil des durch Anammox oder Nitrifikation entstehenden Nitrats denitrifiziert, weswegen sehr gute Stickstoffeliminationsleistungen von teils  $> 90\%$ , z.B. in Zürich oder Heidelberg (Lackner et al., 2014), erzielt werden. Über die Kombination von Nitrifikation (Formel 1-4) und Anammox (Formel 1-13) lässt sich im idealen PNA-System eine Stickstoffelimination von max. 89% erzielen – und das nur bei vollständiger Ammoniumumwandlung.

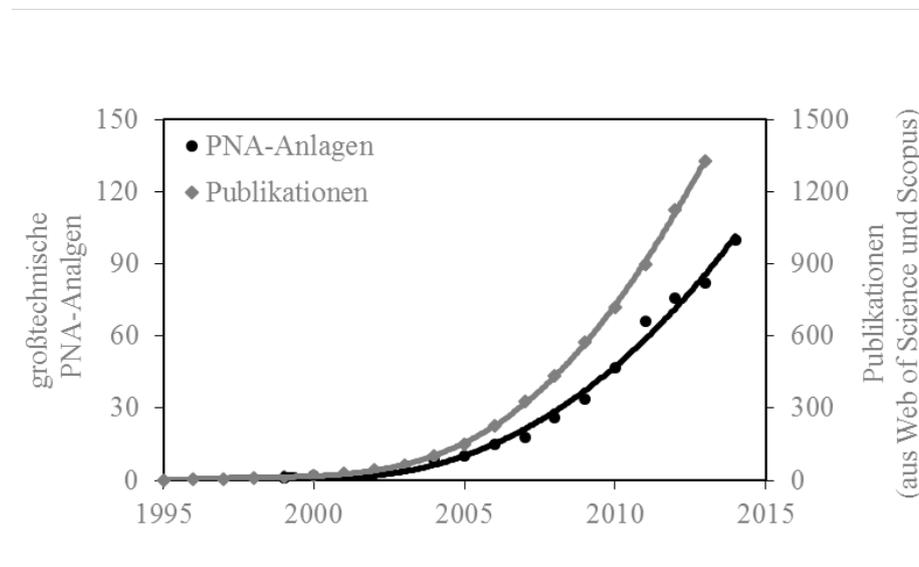
Ein zahlenmäßiger Vergleich der verschiedenen Systeme zeigt, dass mehr als die Hälfte der großtechnischen PNA-Anlagen SBR sind, während IC-Reaktoren noch etwa 20% und MBBR immerhin 10% ausmachen (Lackner et al., 2014).

Bei den SBR werden wiederum die meisten mit dem in Strass (Österreich) entwickelten DEMON<sup>®</sup>-Verfahren betrieben. Kern dieses patentierten Verfahrens ist der in Kapitel 1.2.2 erwähnte Hydrozyklon (Wett and Nyhuis, 2010) und eine pH-basierte Regelung (Wett, 2006), die ursprünglich zur Regelung der Nitrifikation von Schlammzentrat entwickelt worden war (Wett et al., 1998). Dabei wird Nitrifikation und Anammox in multiplen zeitlich begrenzten Phasen getrennt, wobei innerhalb der belüfteten Phase die Belüftung auf meist  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$  gelösten Sauerstoff geregelt wird und über den pH-Wert abgebrochen werden kann. Die Biomasse wird im System gehalten, indem nach Ablauf des meist 6-12 Stunden dauernden sogenannten SBR-Zyklus die Durchmischung gestoppt wird, so dass die Biomasse an den Boden des Reaktors sedimentiert und darauffolgend das klare Wasser oben abgezogen werden kann, bevor im nächsten SBR-Zyklus frisches, zu reinigendes Abwasser zuläuft. Im DEMON<sup>®</sup>-Verfahren werden Umsatzraten von  $0,5-0,6 \text{ kgNH}_4^+ \text{N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  erzielt (Lackner et al., 2014). In dem in Zürich (Schweiz) entwickelten SBR-Verfahren wird der Prozess über die Ammoniumkonzentration, direkt mittels ionenselektiver Elektroden oder indirekt über die Leitfähigkeit gemessen, geregelt (Joss et al., 2011, 2009). In diesem Verfahren werden niedrige Sauerstoffkonzentrationen ( $<0,1 \text{ mg l}^{-1}$ ) bei ausreichenden Ammoniumkonzentrationen angestrebt, um durch die Sauerstoffzehrung der Nitrifikation simultan Anammox zu ermöglichen. Erzielt werden so Umsatzraten von etwa  $0,4 \text{ kgNH}_4^+ \text{N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (Lackner et al., 2014).

Die IC-Reaktoren mit der granulierten Biomasse wurden aus dem ersten großtechnischen Anammox-Reaktor in Rotterdam (Niederlande) entwickelt, der zunächst im zweistufigen SHARON/ANAMMOX<sup>®</sup>-System einem Nitrifikations-Reaktor nachgeschaltet war (van der Star et al., 2007). Nachdem dieser allein  $>90\%$  der Stickstofffracht bewältigte (Zumbrägel et al., 2006), werden Paques' ANAMMOX<sup>®</sup>-Reaktoren inzwischen als einstufige IC-Reaktoren gebaut (Kormelinck, 2012). In diesen Reaktoren wird die Sauerstoffkonzentration mit zumeist  $1 \text{ mg l}^{-1}$  deutlich höher als in den SBR-Verfahren mit suspendierter Biomasse eingestellt. Da die granulierten Biomasse auch bei den höheren Sauerstoffkonzentrationen einen anaeroben Kern und damit die Grundlage für Anammox bietet, sind die Umsatzraten in diesen Reaktoren mit  $>1 \text{ kgNH}_4^+ \text{N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  deutlich höher als in den SBR-Systemen (Lackner et al., 2014). Die Biomasse wird über 3-Phasen-Abscheider im System gehalten, weshalb die Reaktoren kontinuierlich betrieben werden. Im Labormaßstab wird die granulierten Biomasse jedoch in SBR kultiviert (M. van Loosdrecht, TU Delft, persönliche Kommunikation während der IWA-Konferenz „Biofilm Reactors“, 2013).

Unter den ersten großtechnischen PNA-Anlagen war auch ein MBBR mit Aufwuchsträgern von AnoxKaldnes (K1) in Hattingen (Deutschland). Das dort entwickelte DeAmmon<sup>®</sup>-Verfahren (Rosenwinkel and Cornelius, 2005; Szatkowska et al., 2007) wurde auch in einer weiteren großtechnischen Anlage umgesetzt (Ling, 2009). Veolia betreibt inzwischen in Malmö (Schweden) eine sogenannte Biofarm zur Anzucht von bewachsenen AnoxKaldnes-Aufwuchsträgern. Diese werden als Inokulum für neue Installationen von MBBR mit dem ANITAMox<sup>™</sup>-Verfahren gezüchtet

(Christensson et al., 2013). Da die Biomasse als Biofilm auf den Aufwuchsträgern fixiert ist, geschieht der Biomassenrückhalt über Siebe im Ablauf und die Reaktoren werden kontinuierlich betrieben. Die Sauerstoffkonzentration liegt in etwa bei  $1,5 \text{ mg l}^{-1}$ , was aber durch online-Messungen von Ammonium im frischen Abwasser und Ammonium und Nitrat im gereinigten Abwasser geregelt wird (Lackner et al., 2014). Die so erzielten Umsatzraten liegen ebenfalls  $>1 \text{ kgNH}_4^+ \text{N m}^{-3} \text{d}^{-1}$ .



**Abbildung 1-5** Kumulative Entwicklung von großtechnischen PNA-Anlagen (2014 beinhaltet im Bau befindliche / geplante Anlagen, Kenntnisstand Dezember 2013) und wissenschaftlichen Publikationen zu Anammox (aus Web of Science und Scopus, abgerufen am 24.10.2013) aus Lackner et al. (2014)

Abbildung 1-5 zeigt, dass schon kurz nach der Entdeckung von Anammox und den entsprechenden Publikationen die ersten PNA-Anlagen gebaut worden waren (Anlagen, in denen Anammox zufällig entdeckt wurde, sind nicht gezählt). Der stetige Neubau von PNA-Anlagen hat deren Anzahl 2014 auf über 100 gebracht, was ein guter Ausgangspunkt für den nächsten Schritt ist: Die Implementation von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen.

### 1.3 Fragestellung der Dissertation

Ob bei  $10^\circ\text{C}$  und Stickstoffkonzentrationen im Reaktor von  $< 10 \text{ mg l}^{-1} \text{NH}_4^+ \text{-N}$  bzw.  $< 13 \text{ mg l}^{-1} \text{N}$  (Grenzwerte im Ablauf kommunaler Kläranlage mit  $> 100.000$  Einwohnergleichwerten)<sup>1</sup> noch ausreichende Nitrations- und vor allem Anammoxraten erzielt werden können, ist unbekannt. Auch ist unklar, ob sich die Nitrations- und vor allem Anammoxraten bei diesen niedrigen Temperaturen erfolgreich unterdrücken lässt.

Im letzten Jahr wurde von PNA bei immer niedrigeren Temperaturen berichtet, zuletzt bei  $15^\circ\text{C}$  (de Clippeleir et al., 2013) und  $12^\circ\text{C}$  (Hu et al., 2013). Allerdings sind die Umsatzraten bei diesen Temperaturen noch gering. Wissenschaftlich fundierte und vor allem zuverlässige Strategien zur

Unterdrückung von NOB, die auch bei Idealbedingungen noch ausstehen, wurden in diesem Zusammenhang bisher noch gar nicht untersucht.

Die durchgeführte Dissertation im Rahmen eines DBU-Stipendiums befasst sich mit der praktischen Umsetzung der PNA und Strategien zur Unterdrückung von NOB bei den Bedingungen der kommunalen Abwasserbehandlung. Somit werden die beiden zentralen Fragestellungen zu PNA auf kommunalen Kläranlagen behandelt:

1. Wie wirkt sich der jahreszeitliche Temperaturgradient auf die beteiligten Prozesse aus?

Hier wird beschrieben, wie sich Laborreaktoren bei einem simulierten Temperaturgradient von 20°C im Sommer zu 10°C im Winter verhalten. Um die existierenden Prozessvariationen zu berücksichtigen, wird unterschieden zwischen Laborreaktoren mit bewachsenen Aufwuchsträgern und mit suspendierter Biomasse.

Für die weitergehende Beurteilung verschiedener Biomassen werden zweierlei Aufwuchsträger mit jeweils unterschiedlicher Geometrie und die suspendierte Biomasse in zwei Ausprägungen hinsichtlich der Größenverteilung eingesetzt.

2. Wie können bei den gegebenen Rahmenbedingungen der kommunalen Abwasserbehandlung die beteiligten Prozesse gezielt beeinflusst werden?

Hier wird gezeigt, wie sich kurzzeitige Änderungen von Sauerstoffkonzentration und pH-Wert auf die einzelnen Prozesse auswirken. Aus wirtschaftlicher und ökologischer Sicht sind dies bei den Randbedingungen kommunaler Abwasserbehandlung die einzigen Stellschrauben, über die gezielt in den Prozess eingegriffen werden kann.

## 2 Material und Methodik

### 2.1 Laborreaktoren

In Laborreaktoren wurden die Auswirkungen des jahreszeitlichen Temperaturgradienten untersucht und die Betriebsstrategie intermittierende Belüftung getestet. Dabei wurde die Abbauleistung über ionenchromatographische Bestimmung (Metrohm 790) der Stickstoffkonzentrationen in Zu- und Ablauf verfolgt und die Aktivität von AOB, NOB und AnAOB regelmäßig in manometrischen Batchversuchen gemessen. Die Zusammensetzung des synthetischen Abwassers ist in Anhang A.1.1 aufgelistet.

Das synthetische Abwasser wurde kontinuierlich an einer UV-Bestrahlungseinheit vorbeigepumpt, um bakterielles Wachstum im Zulauftank zu minimieren. Die Messtechnik sowie die einzelnen Aggregate sind in Anhang A.3 aufgelistet.

#### 2.1.1 Steuerung

Die insgesamt sechs Bioreaktoren wurden zentral über eine speicherprogrammierbare Steuerung (SPS), Typ Wago 750-841, geschaltet. Die Steuerung basierte auf einer grenzwertabhängigen und/oder zeitgesteuerten I/O-Schaltung. Pro Bioreaktor standen jeweils 12 analoge Eingänge zur Verarbeitung von Spannungssignalen (4...20 mA) zur Verfügung und mit 8 digitalen Ausgängen (Relais) konnten Schuko-Steckdosen (230 V) geschaltet werden.

Jeder Reaktor konnte wahlweise kontinuierlich als MBBR oder mit zeitlichen Sequenzen als SBR betrieben werden. Beim MBBR-Betrieb ließ sich jedes Ausgangsrelais entweder dauerhaft ein, dauerhaft aus oder auf Automatikbetrieb stellen. Im Automatikbetrieb wurden zur Schaltung der Ausgangsrelais verknüpfte Eingangssignale abgefragt und mit hinterlegten Grenzwerten verglichen (vgl. Abbildung 2-1).

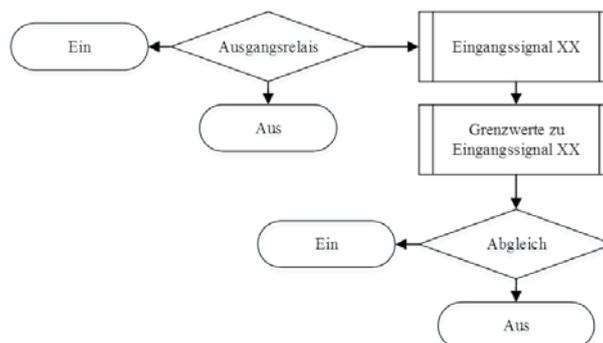
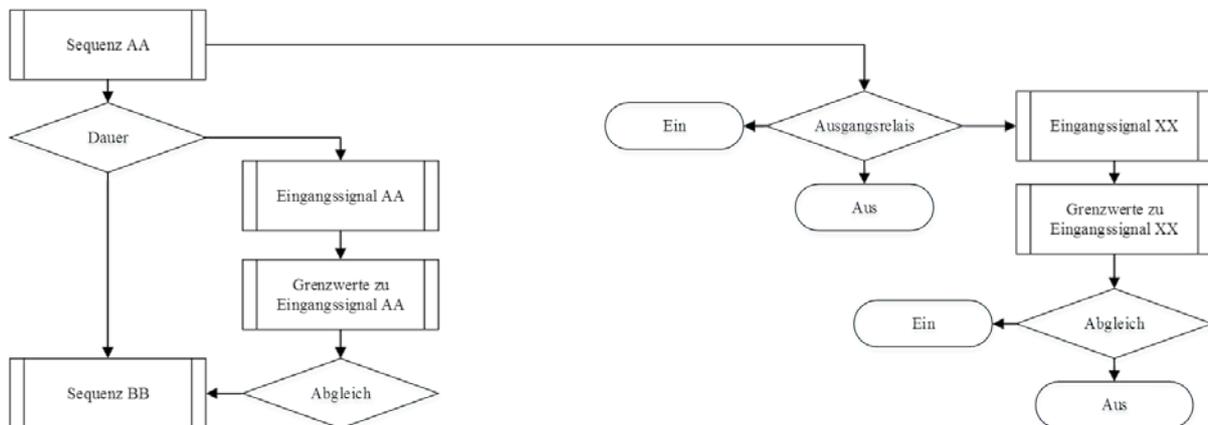


Abbildung 2-1 Schaltung Ausgangsrelais (I/O) im Betrieb als MBBR

Im SBR-Betrieb war dies genauso möglich, allerdings konnten in einzelnen Sequenzen Ausgangsrelais deaktiviert werden (vgl. Abbildung 2-2). Die max. sechs Sequenzen wurden jeweils nacheinander durchlaufen, was Schaltungen in einer zeitlichen Reihenfolge ermöglicht. Die jeweilige Dauer einer Sequenz ließ sich zeitlich über Mindest- und Maximaldauer und zusätzlich durch Abgleich mit einem verknüpften Eingangssignal und hinterlegtem Grenzwert begrenzen. Nach Ablauf der letzten Sequenz ist das Programm automatisch zurück zur ersten Sequenz gesprungen. Die Sequenzen 3 und 4 ließen sich in einer Schleife beliebig oft wiederholen, bevor zu Sequenz 5 gesprungen wurde.



**Abbildung 2-2 Sequenzablauf und Schaltung Ausgangsrelais im Sequenzbetrieb**

Ein Leitsystem (Citect, Schneider Electric) visualisierte die SPS am PC und ermöglichte die manuelle Verknüpfung der Ausgangsrelais mit Eingangssignalen und die Eingabe der Grenzwerte. Außerdem wurden laufend die aktuellen Werte der Eingangssignale gespeichert und direkt als Trendanalyse visualisiert.

### 2.1.2 Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR)

Im MBBR wachsen Biofilme auf Aufwuchsträgern, welche sich einfach über ihre Größe im Reaktor zurückhalten lassen. Daher war bei diesen Reaktoren keine aktive Separation der Biomasse notwendig und sie wurden kontinuierlich betrieben. Über eine grenzwertgesteuerte Schaltung der einzelnen Pumpen wurde der pH zwischen 7,3 und 7,8 und die Ammoniumkonzentration  $<10 \text{ mg l}^{-1}$  gehalten. Die Ventile wurden über Sauerstoffgrenzwerte gesteuert und i.d.R.  $< 0,5 \text{ mg l}^{-1}$  gehalten (nähere Angaben in Kapitel 3.1.2)

Um den Biofilm auf den Aufwuchsträgern keiner großen mechanischen Belastung auszusetzen wurden die Laborreaktoren im MBBR-Betrieb nicht gerührt, sondern über eine starke grobblasige

Begasung umgewälzt. Um die Konzentration an gelöstem Sauerstoff niedrig halten zu können, erfolgte diese Begasung nicht über Druckluft, sondern über eine Gasrezirkulation: Gas wurde aus dem oberen Teil des geschlossenen Laborreaktors abgesaugt und mit Druck am Boden wieder eingeblasen (siehe Abbildung 2-3). Die Belüftung erfolgte analog dem SBR. Um die Sauerstoffkonzentrationen gezielt senken zu können, z.B. nach Öffnen des Reaktors, waren die MBBR zusätzlich an eine Stickstoffversorgung angeschlossen, die analog der Druckluft regelbar war.

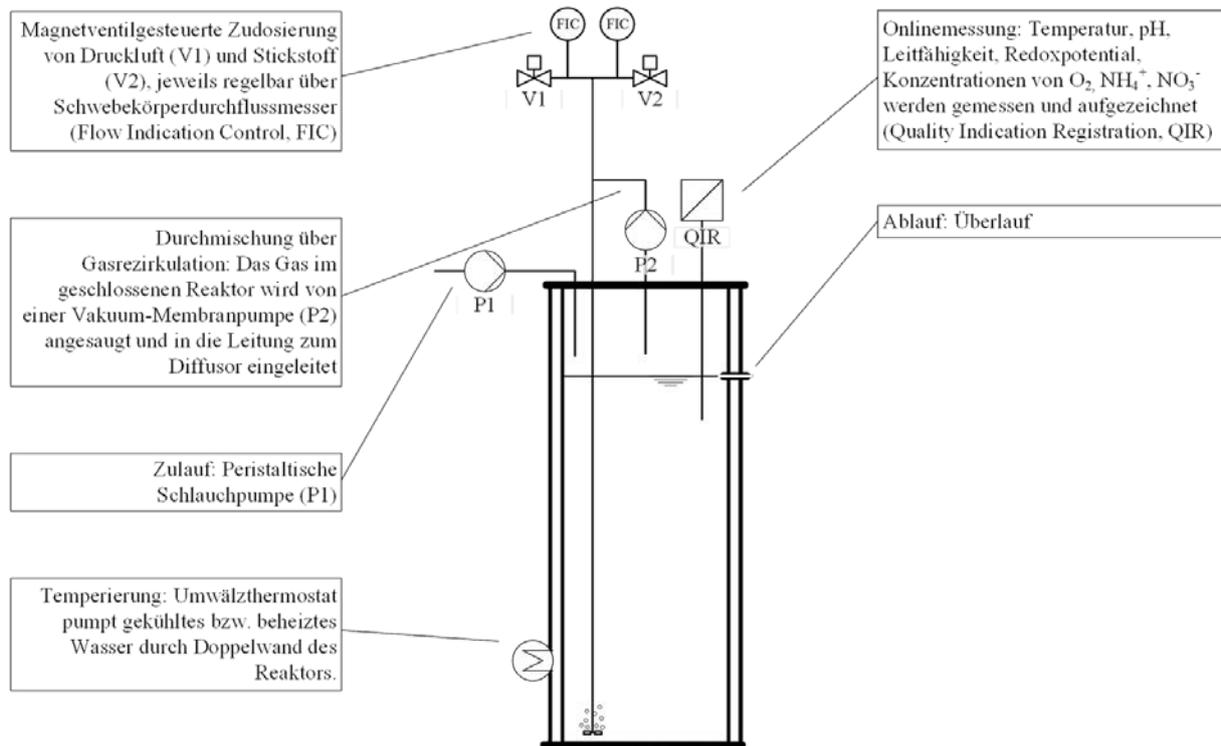


Abbildung 2-3 Schematischer Aufbau eines Labor-MBBR

### 2.1.3 Sequencing Batch Reactor (SBR)

Der Betrieb eines SBR zeichnet sich durch einen zeitlichen Ablauf ab, der zyklisch wiederholt wird. Dieser sog. SBR-Zyklus beginnt mit dem Befüllen (Zulauf), mit dem das Reaktionsvolumen erreicht wird. In der nachfolgenden Reaktionsphase wird das Reaktionsvolumen durchmischt und ggf. zeitweise belüftet. Am Ende des Zyklus wird nach einer Stillstands-Phase zum Sedimentieren der Biomasse ein bestimmtes Austauschvolumen abgezogen. Dazu war die Hälfte der Laborreaktoren mit einer Ablaufpumpe und einem hydrostatischen Füllstandsensoren, der ein gleichbleibendes Austauschvolumen gewährleistete, ausgestattet. Die Schaltung der einzelnen Pumpen und Ventile war damit sowohl zeitlich als auch über Grenzwerte gesteuert. Die Zu- und Ablaufpumpe waren über Grenzwerte des Füllstands gesteuert, um ein gleichbleibendes Reaktionsvolumen zu gewährleisten

(Eingangssignal XX in Abbildung 2-2). Zusätzlich wurde der Zeitraum für die Schaltung der Zulaufpumpe über die Ammoniumkonzentration begrenzt (Eingangssignal AA in Abbildung 2-2). Analog zu den MBBR wurde der pH zwischen 7.3 und 7.8 gehalten und die jeweiligen Sauerstoffkonzentrationen sind in Kapitel 3.1.2 zu finden.

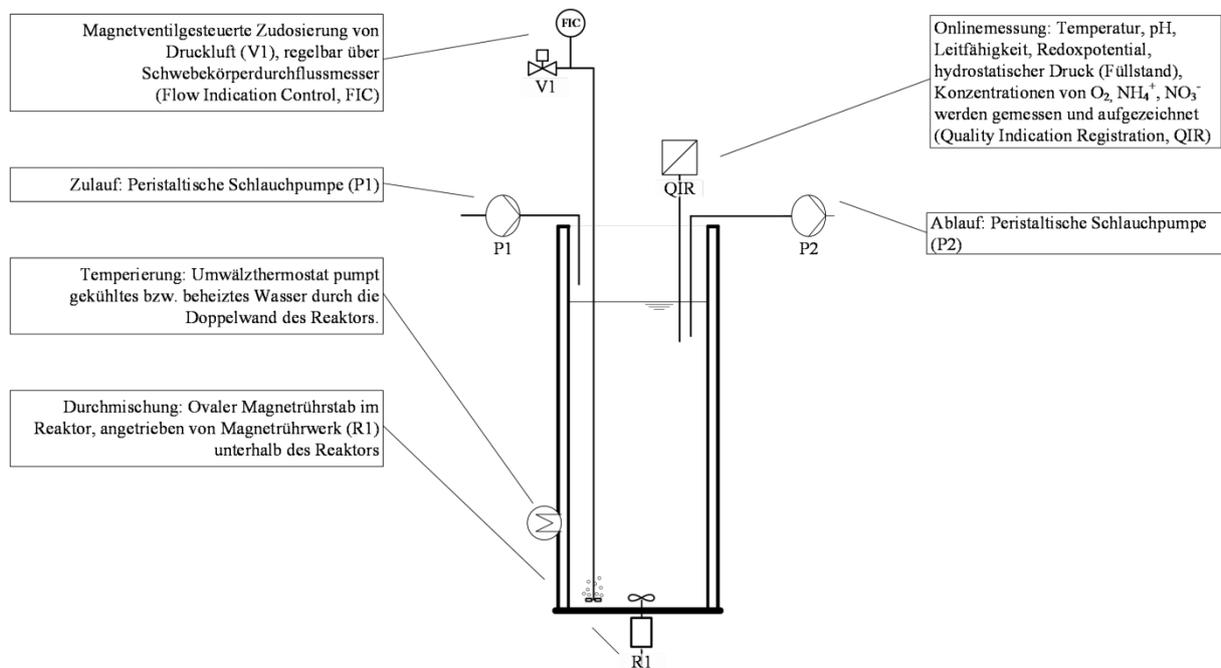


Abbildung 2-4 Schematischer Aufbau eines Labor-SBR mit Magnetrührwerk

Der schematische Aufbau in Abbildung 2-4 gibt einen detaillierten Überblick über den Aufbau eines SBR. Die Durchmischung wurde über ein Magnetrührwerk gewährleistet und die feinblasige Belüftung wurde über ein Magnetventil gesteuert, wobei der Luftvolumenstrom zusätzlich über einen Schwebekörperdurchflussmesser manuell geregelt werden konnte.

Da sich das Magnetrührwerk im Laufe der Untersuchungen wegen der hohen mechanischen Beanspruchung als ungeeignet erwies, wurde es nach Abschluss der ersten Versuchsreihe durch ein Überkopfrührwerk ersetzt. Zusätzlich wurden dann auch die Labor-SBR an eine Stickstoffversorgung angeschlossen (Abbildung 2-5).

Zur Kultivierung von granulierter Biomasse war ein Labor-SBR anstelle mit einem Rührwerk mit einer Gasrezirkulation analog den Labor-MBBR (vgl. Abbildung 2-3) ausgestattet, um die mechanische Beanspruchung der Biomasse zu minimieren. Dieser Labor-SBR war ebenfalls an eine Stickstoffversorgung angeschlossen.

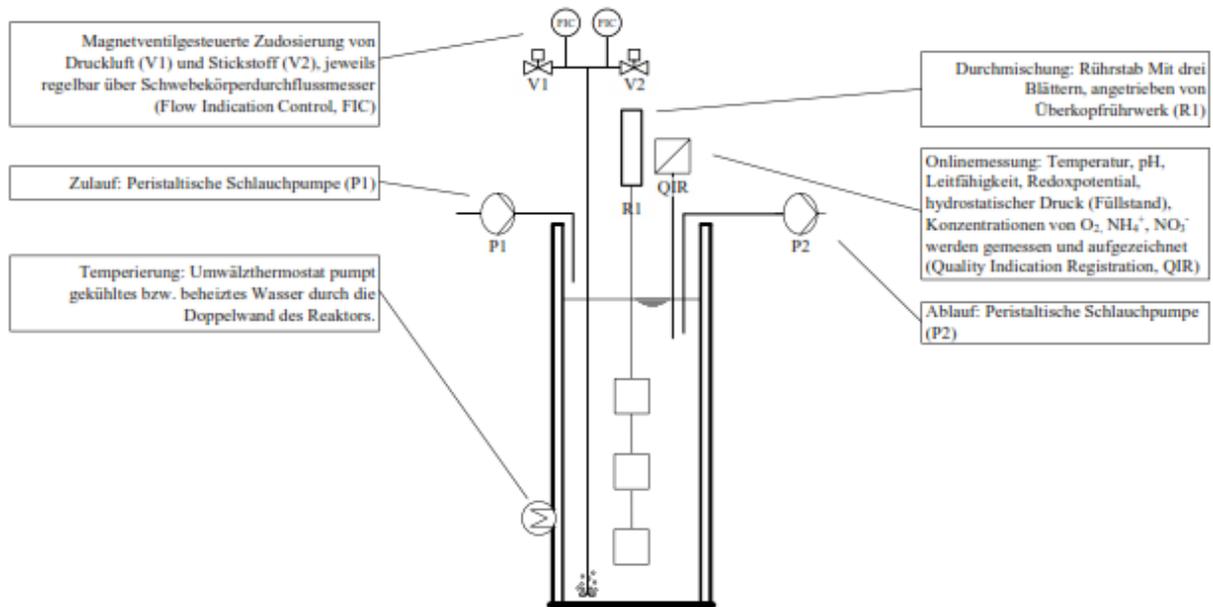


Abbildung 2-5 Schematischer Aufbau eines Labor-SBR mit Überkopfrührwerk und Stickstoffversorgung

#### 2.1.4 Sauerstoffeintrag

Der Sauerstoffeintrag in die Laborreaktoren wurde für die einzelnen Rührwerke bzw. die Umwälzung bei verschiedenen Temperaturen mit Leitungswasser bestimmt. Dazu wurde zunächst Stickstoff in die temperierten Reaktoren eingeblasen bis kein Sauerstoff mehr messbar war. Nach Stopp der Stickstoffzufuhr wurde bei eingeschalteter Durchmischung der Anstieg der Sauerstoffkonzentration aufgezeichnet. Unter der Annahme, dass im Leitungswasser keinerlei sauerstoffzehrende Reaktionen ablaufen, kann der Verlauf der Sauerstoffkonzentration folgendermaßen beschrieben werden:

$$\frac{dc_{O_2}}{dt} = k_L a \cdot (c_{O_2}^* - c_{O_2})$$

Formel 2-1

Dabei ist  $c_{O_2}$  die Sauerstoffkonzentration ( $\text{mg l}^{-1}$ ) bzw.  $c_{O_2}^*$  die Sättigungskonzentration bei der jeweiligen Temperatur ( $\text{mg l}^{-1}$ ),  $t$  die Zeit (h) und  $k_L a$  der volumenbezogene Sauerstoffübergangskoeffizient ( $\text{h}^{-1}$ ). Der spezifische Sauerstoffeintrag in die Laborreaktoren ( $\text{mg h}^{-1}$ ) errechnet sich dann direkt aus  $k_L a$  und dem Reaktorvolumen und der jeweiligen Sättigungskonzentration.

In der folgenden Tabelle 2-1 sind die Werte für den Sauerstoffeintrag bei 10°C in die mit Leitungswasser gefüllten Laborreaktoren angegeben.

**Tabelle 2-1 Sauerstoffeintrag in die Laborreaktoren bei 10°C. Die Drehzahlen geben die Werte im Laborreaktorbetrieb wieder, die zur vollständigen Durchmischung der Biomasse notwendig war**

	Sauerstoffeintrag
<b>Umwälzung durch Gasrezirkulation</b>	976 mg h <sup>-1</sup>
<b>Durchmischung mittels Magnetrührfisch (200 min<sup>-1</sup>)</b>	115 mg h <sup>-1</sup>
<b>Durchmischung mittels Rührblatt (100 min<sup>-1</sup>)</b>	94 mg h <sup>-1</sup>
<b>Undurchmischter Zustand</b>	12 mg h <sup>-1</sup>

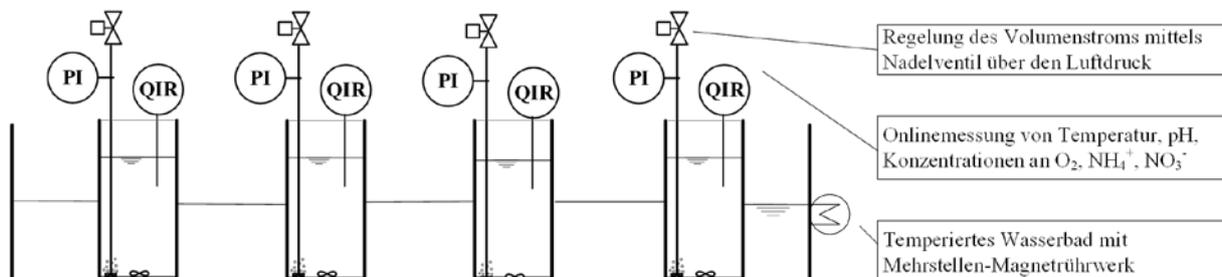
## 2.2 Messung der mikrobiologischen Umsatzleistung

Die Kinetik biochemischer Prozesse lässt sich am einfachsten über die Messung der Edukt- und/oder Produktkonzentrationen während eines Batchversuches bestimmen. Da im vorliegenden Fall sowohl der Abbau der Edukte als auch die Entstehung der Produkte analytisch verfolgt werden kann, liefern Batchversuche sehr akkurate Aussagen zur Prozesskinetik.

### 2.2.1 Batchversuche mit direkter Messung

Zur Untersuchung der Auswirkungen verschiedener Belüftungsstrategien wurden Batchversuche mit direkter Messung der Edukt- und Produktkonzentrationen durchgeführt.

Die Lag-Phase von AOB und NOB, bzw. Einflussmöglichkeiten auf deren Dauer wurde in belüfteten Batchversuchen untersucht (Kapitel 4.1). Im Batchversuch wurde der gewaschenen Biomasse zunächst ausreichend Substrat vorgelegt und diese gleichmäßig belüftet um eine hohe Aktivität der Biomasse zu gewährleisten. Nach mindestens 120 min wurde die Belüftung unterschiedlich lange unterbrochen, um dann die Lag-Phase nach der Belüftungspause zu untersuchen. Der Versuchsaufbau (vgl. Abbildung 2-6) bestand aus vier offenen Glasgefäßen (Reaktionsvolumen 0,8 l), die einzeln mit regelbaren Druckluftströmen begast und im Wasserbad temperiert und gerührt wurden.



**Abbildung 2-6 Versuchsaufbau Batchversuche mit direkter Messung**

Die Kinetik der Nitritation bzw. der Nitratation wurde über eine online-Messung der Ammonium- und Nitratkonzentrationen mittels ionenselektiver Elektroden (ISE) verfolgt. Zusätzlich wurden nach den Belüftungspausen in kurzen Abständen (1-2 min) Proben gezogen, zur Abtrennung der Biomasse sofort membranfiltriert (0,45 µm) und anschließend ionenchromatographisch (Metrohm 790) auf Ammonium, Nitrit und Nitrat analysiert.

Diese Batchversuche wurden mit Substratkonzentrationen von 50 mg l<sup>-1</sup> N durchgeführt. Die vollständige Zusammensetzung des Mediums ist unter Anhang A.1.2 in den Tabellen A-5 bis A-8 aufgeführt.

### **2.2.2 Batchversuche mit indirekter Messung: Manometrische Respirometrie**

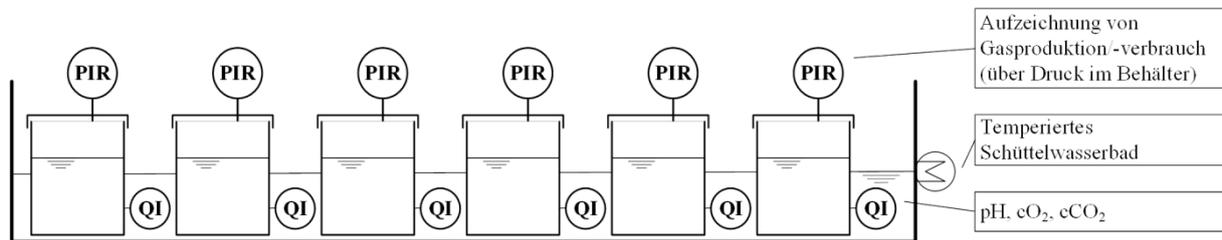
In biochemischen Batchversuchen bezeichnet Respirometrie die Messung der metabolischen Aktivität durch die Aufzeichnung von Atmung oder Gasproduktion. Der Sauerstoffverbrauch bei aeroben Prozessen ist relativ zum Substratabbau über die Stöchiometrie gegeben. So wird z.B. bei der Ammoniumoxidation immer 3,43 g O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N verbraucht (vgl. Formel 1-4). Bei der Nitritoxidation werden nur noch 1,14 g O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N verbraucht (vgl. Formel 1-13). Analog ist bei anaeroben Prozessen die Stickstoffproduktion relativ zum Substratabbau. Laut der Anammoxstöchiometrie (Formel 1-13) wird 1,02 g N<sub>2</sub> pro oxidiertem 1 g NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N frei.

Bei den hier beschriebenen Versuchen wurden Sauerstoffverbrauch und Stickstoffproduktion über die Druckänderungen im Gasraum eines geschlossenen Reaktionsgefäßes gemessen, was für gleiche Versuchsrahmenbedingungen bei anaeroben und aeroben Versuchen sorgte. Diese sog. manometrische Respirometrie wurde in erster Line zum Verfolgen der zeitlichen Änderungen der Aktivität in den Laborreaktoren eingesetzt (Kapitel 3). Weiter kam sie bei der Versuchsreihe zu den Änderungen des pH-Werts (Kapitel 4.2) zum Einsatz.

Zur Bestimmung der Anammoxrate wurde im geschlossenen Behälter bei anaeroben Bedingungen nach Substratzugabe die Druckzunahme, bedingt durch Stickstoffproduktion, aufgezeichnet. Analog dazu wurden Nitritations- und Nitrationsraten bestimmt, indem bei aeroben Bedingungen die durch Sauerstoffzehrung bedingte Druckabnahme aufgezeichnet wurde.

Der Versuchsaufbau (vgl. Abbildung 2-7) bestand aus sechs druckfest (getestet bis 500 hPa) verschlossenen Gläsern (Weck) mit 0,2 l Reaktions- und 0,1 l Gasvolumen, deren große Öffnung auch Batchversuche mit Aufwuchsträgern ermöglichten. Die Durchmischung und Temperierung erfolgte im Schüttelwasserbad, in welchem über eine horizontale Schüttelbewegung (130 min<sup>-1</sup>) ein ausreichender Austausch von Flüssig- und Gasphase gewährleistet wurde. Kohlendioxid wurde mit Natriumhydroxid (NaOH) in einem Köcher im Deckel gebunden, um zusätzliche Druckänderungen, z.B. durch biochemischen (autotroph) oder physikochemischen (Kalk-Kohlensäure-Gleichgewicht) Kohlendioxidverbrauch, zu verhindern.

Die Druckmessung und -aufzeichnung erfolgte über Manometer im Deckel (WTW OxiTop® Control N). Über optische Sensorspots (presens) an der Innenwand der Gläser konnten die Milieubedingungen (pH, Konzentration an Sauerstoff und Kohlendioxid) jederzeit überprüft werden.

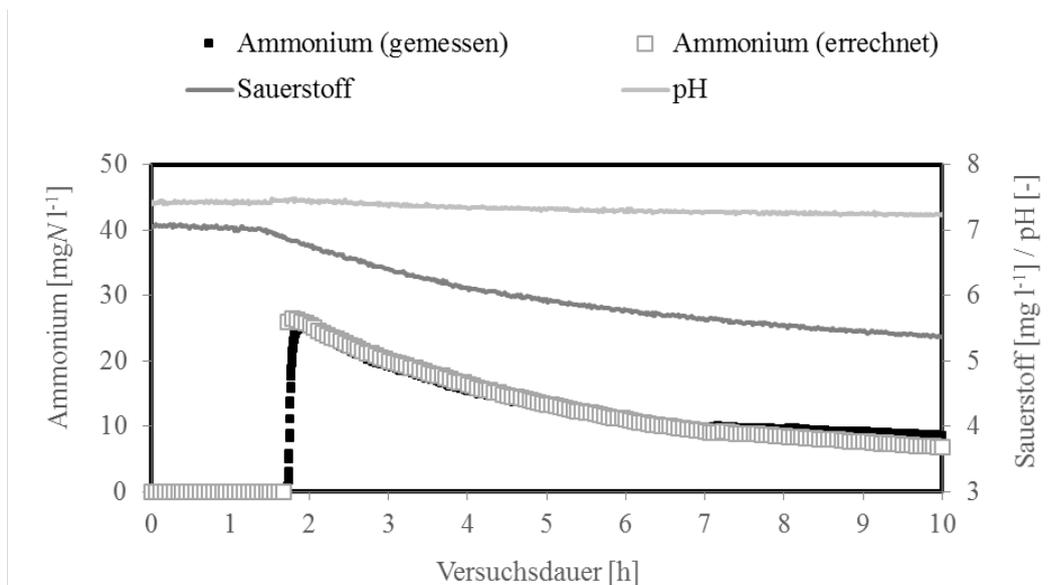


**Abbildung 2-7 Versuchsaufbau manometrische Respirometrie**

Die Experimente wurden bei  $5 \text{ mgN l}^{-1}$  bzw.  $10 \text{ mgN l}^{-1}$  durchgeführt, alle Substratzusammensetzungen sind im Anhang aufgeführt (Tabellen A - 1-8).

Da die Druckänderungen im Reaktionsgefäß nur gering sind, wurde das Gas vereinfacht als inkompressibel angenommen und die Berechnung über das ideale Gasgesetz durchgeführt (vgl. Formeln A - 3-5). Über die Druckdifferenz ergibt sich damit direkt die umgesetzte Molmenge an Sauerstoff bzw. Stickstoff. So entsprechen z.B.  $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ N}$ , die bei  $30^\circ\text{C}$  umgesetzt wurden, bei der Nitrifikation  $27 \text{ hPa}$ , bei der Nitratation  $9 \text{ hPa}$  und bei Anammox  $18 \text{ hPa}$ .

Manometrische Batchversuche werden standardmäßig zur Messung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB) nach DIN EN 1899-2 und zur Messung der Gasproduktion beim anaeroben Abbau organischer Verbindungen (Süßmuth et al., 1999) angewandt. Die Anwendung zur Bestimmung der Anammox-Umsatzraten ist bekannt (Lotti et al., 2012; Scaglione et al., 2009), allerdings nicht zur Bestimmung von Nitrifikations-Umsatzraten. Daher wurde die Anwendung der Messmethode im Rahmen dieser Promotion in mehreren Versuchsreihen validiert. Bei vollständigem Substratumsatz stimmen Druckdifferenz und zugegebene Substratmenge in Relation zueinander sehr gut überein: Bei allen überprüften Batchversuchen ( $> 100$ ) war die Abweichung  $\leq 10\%$ . Abbildung 2-8 zeigt den Verlauf eines Validierungsversuches, der in einer Dreihalsflasche (Schott) durchgeführt wurde, um zusätzlich mittels ionenselektiver Elektroden die Ammoniumkonzentration aufzuzeichnen. Zur Verdeutlichung wurde für die Darstellung der Verlauf der Druckänderungen direkt in die Änderung der Ammoniumkonzentration umgerechnet.



**Abbildung 2-8** Verlauf der Ammoniumkonzentration während eines Ammoniumoxidationsversuches. Dargestellt sind neben der mittels ionenselektiver Elektrode gemessenen Ammoniumkonzentration und der aus den Druckänderungen errechneten Ammoniumkonzentration auch pH-Wert und Sauerstoffkonzentration, jeweils mit optischen Sensorspots gemessen.

Im Rahmen der Validierung konnte auch gezeigt werden, dass bei einer horizontalen Schüttelbewegung mit 130 rpm der Stoffübergang von Sauerstoff aus der Luft ins Medium nicht limitierend ist: Im Bereich der untersuchten Biomassekonzentrationen ( $< 2 \text{ g l}^{-1} \text{ TS}$ ) nahm die Rate der Druckabnahme im Versuch mit der Biomassekonzentration ab. Mit Hilfe von optischen Sensorspots (presens) im Gasraum der Versuchsgläser konnte gezeigt werden, dass kein Kohlendioxid die Messung verfälschte. Der Anteil von Kohlendioxid im Gas war zu keinem Zeitpunkt messbar (Bestimmungsgrenze 1% Sättigung).

### 2.3 Charakterisierung der Biomasse

In der Abwassertechnik ist die Trockenmasse (TS) und deren organischer Anteil (oTS) der Standardparameter zur mengenmäßigen Bestimmung der Biomasse. Sie wurden nach DIN EN 12879 bestimmt. Da der TS-Gehalt der gängigste Parameter zur Beurteilung des Biomassengehalts ist, sind in dieser Dissertation alle biomassenspezifischen Angaben auf den TS bezogen. Diese wurden aber auf der Basis weniger TS-Messungen berechnet, da in den Laborreaktoren die Entnahme von Biomasse bzw. Aufwuchsträgern wegen des kleinen Reaktionsvolumens einen deutlichen Eingriff darstellt und daher nur begrenzt möglich war.

Um den Verlauf des Biomassengehalts über den Versuchszeitraum verfolgen zu können, wurden andere Möglichkeiten der Dichte- und Volumenbestimmung herangezogen. Als zerstörungsfreie Quantifizierungsmethoden, die auf trägerfixierte Biofilme und suspendierte Biomasse gleichermaßen

angewandt werden können, wurden die Bestimmung des Nassgewichtes und des Volumens der Biomasse gewählt.

Das Nassgewicht der suspendierten Biomasse wurde in Pyknometern (10 ml, Blaubrand, DIN ISO 35079) bei 20°C mit einer Analysenwaage (bis 210 g, Sartorius) bestimmt, während für die Aufwuchsträger eigens angefertigter Spezialpyknometer benutzt wurden. Da die Spezialpyknometer über eine große Öffnung (für die Träger) verfügen müssen und dementsprechend groß sind, wurden sie bei 20°C mit einer Präzisionswaage (bis 620 g, Sartorius) gewogen.

Das Volumen von Biofilmen kann über eine Verdünnungsreihe mit Dextranblau, welches nicht an Biomasse bindet, bestimmt werden (Beun et al., 2002). Zur Anwendung auf suspendierte Biomasse muss die Biomasse mittels Membranfiltern (0,2 µm) abgetrennt werden, um eine Verfälschung der photometrischen Bestimmung durch Partikel zu vermeiden.

Zusätzlich wurde die Verteilung der Partikelgröße und -form der suspendierten Biomasse mittels dynamischer Bildanalyse nach ISO 13322-2 (Camsizer XT, Retsch) gemessen.

### 3 Einfluss niedriger Temperaturen auf PNA in verschiedenen Systemen

Wie einleitend gezeigt, ändert sich die Temperatur des kommunalen Abwassers im Jahresverlauf kontinuierlich (vgl. Abbildung 1-2, S. 5). Im gemäßigten Klima bewegt sie sich zwischen grob 10-15°C und 20-25°C. Anders als alle bisher publizierten Forschungsergebnisse zur Verwirklichung von PNA bei niedrigen Temperaturen, zuletzt 15°C (de Clippeleir et al., 2013; Persson et al., 2013) und 12°C (Hu et al., 2013), bei denen die Temperatur vorsichtig schrittweise reduziert wurde, wurde hier gezielt der Temperaturgradient Sommer-Winter nachgestellt.

Gegenstand dieser Versuchsreihe waren vier Laborreaktoren (siehe Kapitel 2.1), welche als unterschiedliche Reaktorsysteme betrieben wurden. Die Fracht und damit die hydraulische Belastung wurde in allen vier Reaktoren über die Ammoniumkonzentration im Ablauf geregelt, die – entsprechend der „Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer“ (AbwV, 1997) – unterhalb 10 mgN l<sup>-1</sup> lagen. Da die Ammoniumkonzentration im synthetischen Abwasser 50 mgN l<sup>-1</sup> betrug, lag die Ammoniumelimination immer >80%. Um dies zu erreichen, wurde die hydraulische Verweilzeit variiert. Der Jahresverlauf wurde simuliert indem die Temperatur über einen Zeitraum von 20 Wochen von 20°C auf 10°C abgesenkt wurde. Zur besseren Beurteilung der Auswirkungen dieses Temperaturgradienten umschließt der Versuchszeitraum jedoch zusätzlich noch mehrere Wochen bei 20°C vor dem Temperaturgradienten und mehrere Wochen bei 10°C im Anschluss daran. Zur Beurteilung bleibender Auswirkungen des Temperaturgradienten wurde nach der eigentlichen Versuchsreihe die Temperatur in den Laborreaktoren wieder auf 20°C angehoben und der Versuchszeitraum um mehrere Wochen bei wiederum 20°C ergänzt (Tabelle 3-1).

**Tabelle 3-1** Temperaturregime in den Laborreaktoren

	20°C	20°C → 10°C	10°C	10°C → 20°C	20°C
<b>Zeitraum Woche</b>	1 - 6	7 - 26	27 - 35	36 - 41	42 - 47
<b>Dauer (Wochen)</b>	6	20	9	6	6
<b>Behandelt in Kapitel</b>	3.3	3.2	3.4	-	3.3

Die Auswirkungen des Temperaturgradienten wurden direkt über den Ammoniumabbau, sowie die Nitrit- und Nitratproduktion in den Laborreaktoren (in-situ) verfolgt. Zudem wurde in regelmäßigen Abständen Biomasse aus den Laborreaktoren entnommen und die aktuellen Anammox-, Ammoniumoxidations- und Nitritoxidationsraten mit Hilfe manometrischer Respirometrie (ex-situ) verfolgt.

In den Kapiteln 3.2 (behandelt den Temperaturgradienten 20°C→10°C), 3.3 (behandelt den Betrieb bei 20°C) und 3.4 (behandelt den Betrieb bei 10°C) werden jeweils die in-situ Reaktordaten mit den ex-situ Umsatzraten in Kontext gesetzt. In Kapitel 3.5 wird die Temperaturabhängigkeit der ex-situ gemessenen Umsatzraten gesondert betrachtet und Kapitel 3.6 gibt ein zusammenfassendes Fazit der

gesamten Versuchsreihe. Zunächst werden jedoch die Reaktorsysteme und die Versuchsbedingungen genauer vorgestellt.

### 3.1 Untersuchte Reaktorsysteme

Die zwei verschiedenen Reaktorsysteme mit insgesamt vier verschiedenen Biomassen waren gezielt ausgewählt worden, um einerseits möglichst gegensätzliche Systeme zu vergleichen und andererseits die gängigsten Reaktorsysteme zu repräsentieren. Gewählt wurden ein SBR mit suspendierter Biomasse, das häufigste PNA-Reaktorsystem (vgl. Kapitel 1.2.3, S. 15) und ein SBR mit granulierter Biomasse, um das zweithäufigste PNA-Reaktorsystem, die IC-Reaktoren zu repräsentieren. Wie in Kapitel 1.2.3 erwähnt, wird granuliert Biomasse im Labormaßstab traditionell in SBR kultiviert. Weiter wurden MBBR gewählt, um das dritthäufigste PNA-Reaktorsystem zu repräsentieren. Um den Vergleich der Beschaffenheit zwischen „feiner“ suspendierter Biomasse und „grober“ granulierter Biomasse in den SBR parallel mit Biofilmen wiederzugeben, wurden zwei MBBR betrieben. Ein MBBR enthielt 2 mm starke Aufwuchsträger vom Typ BiofilmChipM™ (AnoxKaldnes, Schweden) und der andere MBBR enthielt 10 mm starke Aufwuchsträger vom Typ K3 (AnoxKaldnes, Schweden) die Biofilmwachstum von deutlich größerer Dicke erlaubten.

Auf Aufwuchsträgern (oder anderem Substratum) ist die spezifische Oberfläche des Biofilms, also die Oberfläche bezogen auf das Volumen, einfach abschätzbar. I.d.R wird dazu schlicht die spezifische Oberfläche der Aufwuchsträger herangezogen. Die spezifische Biofilmoberfläche von granulierter Biomasse hängt von der Anzahl der Partikel der Biomasse und ihrer Partikelgrößenverteilung ab, die zudem nur über verschiedene Äquivalenzdurchmesser angegeben werden kann. Generell wird für granuliert Biomasse von einer spezifischen Biomassenoberfläche von etwa  $3000 \text{ m}^2\text{m}^{-3}$  ausgegangen (Zumbrägel et al., 2006), was deutlich höher ist als diejenige der meisten kommerziellen Aufwuchsträger. Dies ist jedoch nur ein Anhaltspunkt und die spezifische Oberfläche von suspendierter Biomasse ist noch größer und noch schlechter abschätzbar. Daher wird vor dem Hintergrund, dass es sich hier um eine Vergleichsstudie handelt, auf die Flächenbelastung als Parameter gänzlich verzichtet. Der Einheitlichkeit halber sind alle spezifischen Biomassenbelastungen bzw. -abbauleistungen auf die Trockensubstanz bezogen angegeben.

#### 3.1.1 Ursprung und Charakteristika der Biomassen

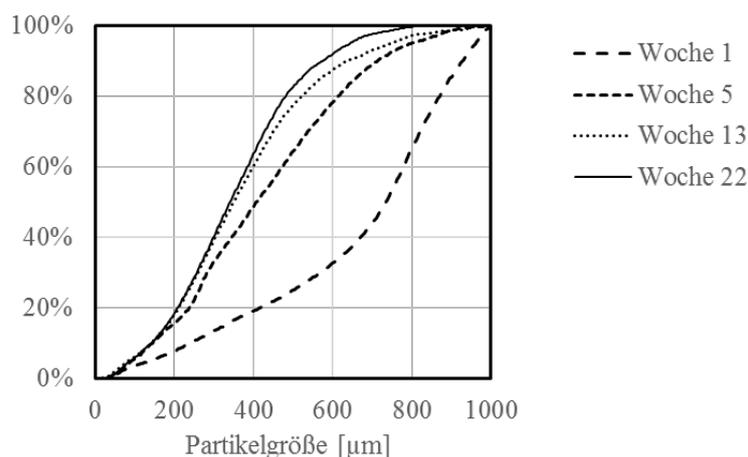
Ein SBR enthielt suspendierte Biomasse, die einem DEMON®-Reaktor aus Heidelberg entstammte, einem großtechnischen PNA-SBR zur Behandlung von Schlammzentrat, der seit Jahren sehr stabil lief und sehr gute Abbauleistungen aufwies (vgl. Kapitel 1.2.3, S. 15). Der andere SBR enthielt granuliert Biomasse, teils aus einem Granula-Reaktor in Rotterdam, der ersten großtechnischen PNA-Anlage

(vgl. Kapitel 1.2.3, S. 15) und teils die grobe Siebfraction ( $> 1 \text{ mm}$ ) aus dem DEMON<sup>®</sup>-Reaktor in Heidelberg. In Tabelle 3-2 ist die Größenverteilung der beiden Biomassen gegenübergestellt. Beide waren vor dem Versuchszeitraum über 6 Monate an den Laborreaktorbetrieb akklimatisiert worden.

**Tabelle 3-2 Partikelgrößenverteilung der suspendierten und granulierten Biomasse und deren Biomassekonzentration während des Versuchszeitraums. Gegeben ist der Mittelwert (aus 5 Messungen während des 6-monatigen Versuchszeitraums) von  $d_{\text{Ferret}}$ , dem maximalen Abstand zweier Pixel auf der Projektionsfläche der Partikel.**

	$X_{10}$	$X_{50}$	$X_{90}$	TS im Laborreaktor
<b>DEMON<sup>®</sup> Heidelberg</b>	286 $\mu\text{m}$	453 $\mu\text{m}$	712 $\mu\text{m}$	-
<b>Suspendierte Biomasse</b>	152 $\mu\text{m}$	364 $\mu\text{m}$	636 $\mu\text{m}$	$0,8 \pm 0,5 \text{ g l}^{-1}$
<b>Granulierte Biomasse</b>	1024 $\mu\text{m}$	1386 $\mu\text{m}$	2069 $\mu\text{m}$	$2,0 \pm 0,5 \text{ g l}^{-1}$

Die in Tabelle 3-2 aufgeführten Partikelgrößen waren in der granulierten Biomasse sehr konstant. Da der SBR mit suspendierte Biomasse von einem Magnetrührer durchmischt wurde, kam es hier zu einer starken mechanischen Beanspruchung, die die Biomasse über einen Zeitraum von 5 Monaten letztendlich zermahlen hat (siehe Abbildung 3-1). Gegen Ende des Versuchszeitraums wurde in dem Versuch, die Aktivität zu steigern, zweimal frische Biomasse aus dem DEMON<sup>®</sup>-Reaktor aus Heidelberg zugegeben. Da sich diese Zugaben nicht in den Partikelgrößenanalysen gezeigt haben, war die zugegebene Biomasse sehr schnell ebenfalls zermahlen (zum Vergleich enthält Tabelle 3-2 auch die Partikelgrößenverteilung der Original- Biomasse). Das Zermahlen von Biomasse führte zu einem erhöhten Feinanteil und damit erhöhtem Austrag an Biomasse. Daraufhin wurde nach dem Versuchszeitraum der Magnetrührer durch ein Überkopfrührwerk ersetzt.



**Abbildung 3-1 Änderung der Partikelgrößenverteilung im SBR mit Magnetrührer (suspendierte Biomasse) über einen Zeitraum von 22 Wochen**

Über den mittleren  $d_{\text{area}}$ , den Durchmesser der projektionsflächengleichen Kugel, ergäbe sich eine theoretische spezifische Oberfläche von gut  $5000 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$  für die granuliert und  $20000 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$  für die suspendierte Biomasse. Mit dem mittleren Volumen der Biomasse ergäbe sich eine Oberfläche im Reaktor von etwa  $250\text{-}350 \text{ m}^2$  für die granuliert und von etwa  $300\text{-}1000 \text{ m}^2$  für die suspendierte Biomasse. Dies sind, wie oben erwähnt, nur grobe Richtwerte die nicht in den Vergleich miteinbezogen werden.

Die beiden MBRR unterschieden sich hinsichtlich der verwendeten Aufwuchsträger, deren Charakteristik in Tabelle 3-3 gegenübergestellt wird. Zum Einsatz kamen zum einen die 2 mm starken BiofilmChip™ M und zum anderen die 10 mm starken K3, beide von AnoxKaldnes (Lund, Schweden). Nachfolgend werden diese als 2mm-Aufwuchsträger (BiofilmChip™ M) und 10mm-Aufwuchsträger (K3) bezeichnet. Alle Aufwuchsträger stammten aus AnoxKaldnes' Biofarm in Malmö (vgl. Kapitel 1.2.3, S. 15) und waren daher bereits zu 100% bewachsen. Vor Start des Versuchszeitraums waren sie über 6 Monate an den Laborreaktorbetrieb akklimatisiert worden. Der Füllgrad betrug jeweils 30%, die Sauerstoffkonzentration in beiden MBRR lag während der gesamten Versuchsreihe bei  $0,1\text{-}0,3 \text{ mg l}^{-1}$ .

**Tabelle 3-3 Charakteristika der verwendeten Aufwuchsträger und Kenndaten zum Reaktorinhalt**

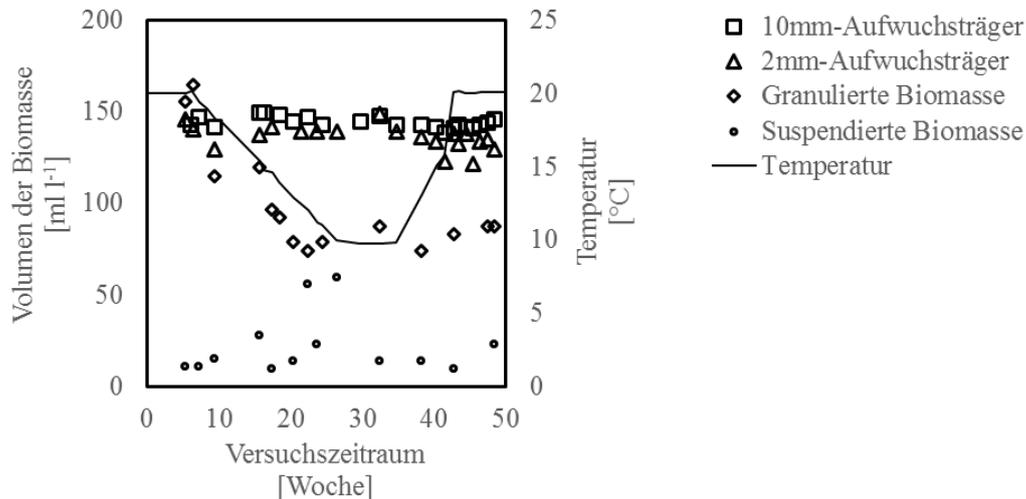
	Charakteristika			Reaktorkenndaten		
	Abmessungen	Spez. Oberfläche	Anzahl	Füllgrad	Oberfläche	TS
<b>BiofilmChip™ M</b>	d=47 x 2,1 mm	$1200 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$	480	30 %	$3,6 \text{ m}^2$	$5,1 \text{ g l}^{-1}$
<b>K3</b>	d=25 x 10 mm	$500 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$	348	30 %	$1,5 \text{ m}^2$	$9,4 \text{ g l}^{-1}$

Molekularbiologische Untersuchungen (nicht Bestandteil dieser Promotion) zeigten, dass in allen vier untersuchten Biomassen jeweils die gleichen Spezies dominierten. Die Biomassen kamen zwar aus verschiedenen Ländern, entstammten jedoch Reaktorsystemen, die alle Faulschlammzentrat bei Temperaturen  $> 30^\circ\text{C}$  behandelten. Zudem waren sie vor Beginn des Versuchszeitraumes alle gleichermaßen an die Laborbedingungen adaptiert worden. Dazu waren die Laborreaktoren mit höher konzentriertem synthetischem Abwasser zunächst für 25 Wochen bei  $30^\circ\text{C}$  und für weitere 10 Wochen bei  $20^\circ\text{C}$  betrieben worden. Vorherrschende AnAOB waren *Candidatus Brocadia* sp. 40, AOB *Nitrosomonas europaea* und *Nitrosomonas* sp. JL21 und NOB *Candidatus Nitrospira defluvii*.

### 3.1.2 Versuchsbedingungen in den Laborreaktoren

Wie eingangs erwähnt, umfasst der hier beschriebene Versuchszeitraum den Betrieb der Laborreaktoren während des langsamen Temperaturgradienten von  $20^\circ\text{C}$  auf  $10^\circ\text{C}$  über einen Zeitraum von 20 Wochen, was für deutsche Kläranlagen als typisch angenommen werden kann.

Vervollständigend wurden auch die letzten Wochen Laborreaktorbetrieb bei 20°C und die folgenden Wochen bei 10°C beschrieben. Zu Beginn des Versuchszeitraums waren alle vier Laborreaktoren bereits für zunächst 23 Wochen bei 30°C und für weitere 10 Wochen bei 20°C an die Laborbedingungen akklimatisiert worden; allerdings bei höheren Substratkonzentrationen.



**Abbildung 3-2** Volumen der Biomasse und der Biofilme (gemessen jeweils über die Dextranblaumethode) und mittlere Temperatur in den Laborreaktoren über den Versuchszeitraum

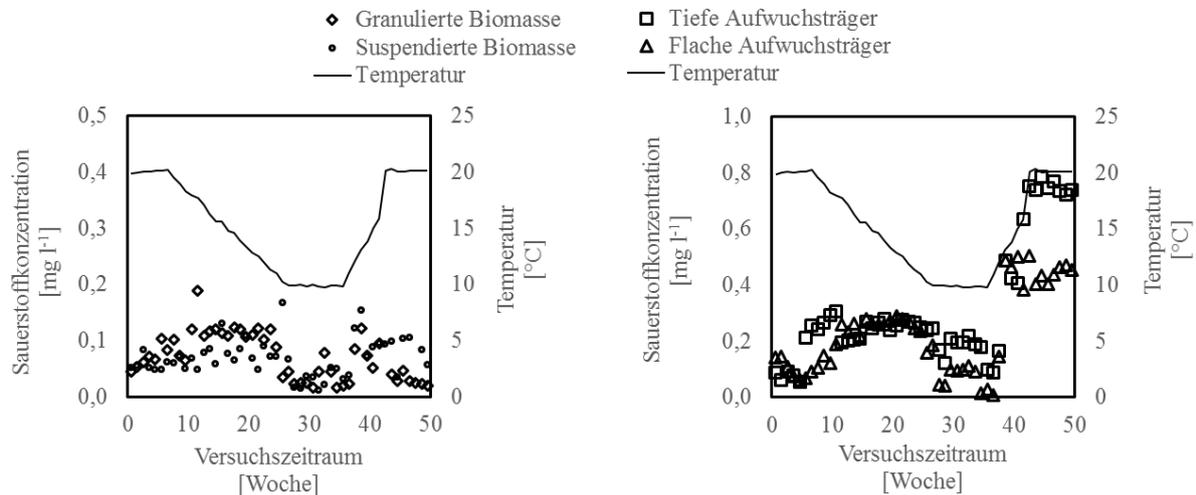
Da bei der Bestimmung des TS-Gehalts die Biomasse zerstört wird, wurde der TS-Gehalt der Laborreaktoren wegen ihres geringen Reaktionsvolumens nur selten bestimmt. Daher war der TS-Gehalt, auch wenn er in den folgenden Kapiteln als Berechnungsgrundlage für Biomassenspezifische Umsatzraten dient, nicht geeignet um den Verlauf des Biomassengehalts in den Laborreaktoren darzustellen. In Abbildung 3-2 ist daher das Volumen der Biomasse (gemessen über die Dextranblaumethode, vgl. Kapitel 2.3, S. 27), als Indikator für die Menge an Biomasse in den einzelnen Laborreaktoren, über den Versuchszeitraum dargestellt.

Während das Volumen der Biofilme auf den Aufwuchsträgern konstant war, nahm das der granulierten Biomasse über den Versuchszeitraum deutlich ab. Die Änderung des Volumens der granulierten Biomasse von  $150 \text{ ml l}^{-1}$  auf  $70 \text{ ml l}^{-1}$  entsprach einer Änderung des Trockensubstanzgehaltes von  $2,6 \text{ g l}^{-1}$  auf  $1,3 \text{ g l}^{-1}$ . Dabei handelt es sich jeweils um eine Halbierung der Menge, was auch belegt, dass die Volumenmessung über die Dextranblaumethode den Biomassengehalt sehr gut wiedergibt.

Die Abnahme selbst zeigt dass die Biomasse deutlich langsamer nachwuchs als sie mit dem Ablauf ausgetragen wurde; im SBR-Betrieb war also kein vollständiger Biomassenrückhalt möglich.

## Ergebnisse und Diskussion

Das Volumen der suspendierten Biomasse war insgesamt am niedrigsten. Es unterlag Schwankungen, die durch die oben beschriebenen Biomassenzugaben bedingt waren, welche den Austrag aber nur kurzzeitig ausgleichen konnten.



**Abbildung 3-3 Sauerstoffkonzentration und mittlere Temperatur in den Labor-SBR (links) und den Labor-MBBR (rechts) über den Versuchszeitraum**

Die Sauerstoffkonzentration in den einzelnen Laborreaktoren war während des Temperaturgradienten in allen vier Laborreaktoren höher als zu Beginn und Ende des Versuchszeitraums (Abbildung 3-3). Die niedrige Sauerstoffkonzentration zu Beginn war dadurch bedingt, dass noch vor Beginn des Versuchszeitraumes versucht worden war, die Nitratproduktion durch Absenken der Sauerstoffkonzentration zu reduzieren. Da diese Maßnahme nicht zum gewünschten Erfolg führte, wurde die Sauerstoffkonzentration um Woche 10 wieder angehoben. Am Ende des Versuchszeitraums wurde die Sauerstoffkonzentration gesenkt, um der zunehmenden Akkumulation von Nitrit im Ablauf der Laborreaktoren (vgl. Kapitel 3.2.1, S. 35) entgegenzuwirken.

In den beiden Labor-MBBR lag die mittlere Sauerstoffkonzentration während des Temperaturgradienten bei etwa  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$ . Im Labor-SBR mit granulierter Biomasse lag sie noch bei  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$  und im Labor-SBR mit suspendierter Biomasse bei  $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ . Bei den Labor-SBR lagen die Tagesmittelwerte auch wegen des SBR-Betriebs, also aufgrund der unbelüfteten Phasen, niedriger. Für den Zeitraum des Temperaturgradienten beliefen sich die Sauerstoffkonzentrationen während der belüfteten Phasen auf etwa  $0,2 \text{ mg l}^{-1}$  im Labor-SBR mit granulierter Biomasse und  $0,1 \text{ mg l}^{-1}$  im Labor-SBR mit suspendierter Biomasse.

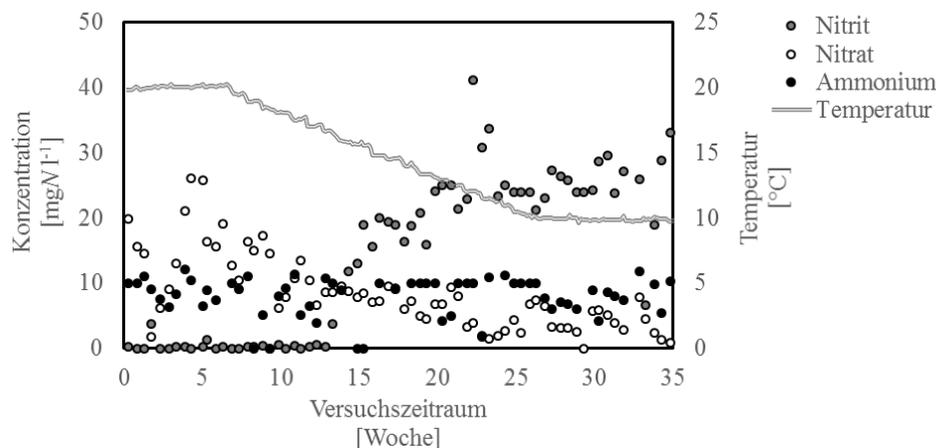
## 3.2 Auswirkungen des Temperaturgradienten Sommer-Winter

Teile der in diesem Kapitel vorgestellten Ergebnisse (bezüglich den 10mm-Aufwuchsträgern) wurden unter dem Titel ‚Low Temperature Partial Nitrification/Anammox in a Moving Bed Biofilm Reactor treating low strength Wastewater‘ in *Environmental Science & Technology* veröffentlicht (Gilbert et al., 2014b)

Der Einfluss des jahreszeitlichen Temperaturgradienten von 20°C im Sommer zu 10°C im Winter wurde in allen vier Reaktorsystemen parallel simuliert. In den folgenden Kapiteln werden zunächst die Auswirkungen des Temperaturgradienten (Kapitel 3.2.1) auf die einzelnen Reaktorsysteme vorgestellt und die Umsatzleistung der Laborreaktoren (Kapitel 3.2.2) sowie die ex-situ gemessenen Umsatzraten der einzelnen Prozesse (Kapitel 3.2.3) vorgestellt (vgl. auch Tabelle 3-1 zur Übersicht über das Temperaturregime in den Laborreaktoren). Eine vergleichende Bewertung und Diskussion erfolgt in Kapitel 3.2.4.

### 3.2.1 Konzentrationsprofile in den Laborreaktoren

Das Verhalten der einzelnen Reaktorsysteme während der sinkenden Temperatur ist hier anhand der Konzentrationen im Ablauf des jeweiligen Laborreaktors dargestellt. Wegen der Regulierung der hydraulischen Verweilzeit zur Anpassung der Ammoniumkonzentration im Ablauf war die Ammoniumkonzentration recht stabil im Bereich von 10 mg l<sup>-1</sup>. Auf die Umsatzraten der Reaktorsysteme in den darauffolgenden Kapiteln eingegangen.



**Abbildung 3-4** Konzentrationen im Ablauf des Labor-SBR mit suspendierter Biomasse während des Temperaturgradienten

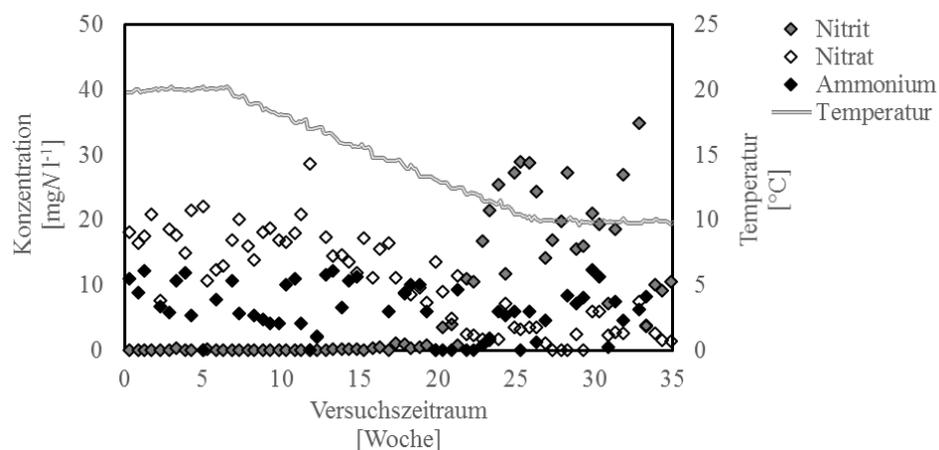
Die in Abbildung 3-4 dargestellten Konzentrationsverläufe zeigen, dass unterhalb von etwa 15°C (in Woche 13) Nitrit im Ablauf des Laborreaktors mit suspendierter Biomasse akkumulierte. Bei höheren Temperaturen war kein Nitrit nachweisbar gewesen. Gleichzeitig lagen die Nitratkonzentrationen grob bei 20 mg N l<sup>-1</sup>, was bei 50 mg N l<sup>-1</sup> Ammonium im Zulauf und etwa 10 mg N l<sup>-1</sup> Ammonium im Ablauf etwa 50 % des umgesetzten Ammoniums entsprach. Damit lag dieser Wert deutlich höher als die 11%

## Ergebnisse und Diskussion

Nitrat, die bei der Umsetzung der idealen PNA-Stöchiometrie (56 % via Nitritation für das stöchiometrische Verhältnis 1 : 1,3 für Ammonium : Nitrit bei Anammox) entstehen würden. Dennoch wurden bei den vergleichsweise niedrigen Temperaturen von 15-20°C immerhin mindestens 50 % des Ammoniums nicht bis zum Nitrat oxidiert, sondern vollständig aus der flüssigen Phase eliminiert. Gerade wegen des bereits erwähnten Zermahlens der Biomasse (vgl. S. 31/31) konnte eine heterotrophe Denitrifikation nicht ganz ausgeschlossen werden. Ihr Anteil an der Stickstoffelimination wurde jedoch im Vergleich zu Anammox als gering eingestuft.

Während der Temperaturabsenkung von 15°C auf 14°C, was einem Zeitraum von 2 Wochen entsprach, stieg die Nitritkonzentration im Ablauf auf 20 mgN l<sup>-1</sup> an. Zeitgleich ging die Nitratkonzentration auf deutlich unter 10 mgN l<sup>-1</sup> zurück. Damit war quasi die gesamte Nitritoxidation im Laborreaktor unterbunden worden; die Nitratproduktion war durch Nitritproduktion ersetzt worden. Bei 10°C machte die Nitritproduktion mit etwa 30 mgN l<sup>-1</sup> über 70 % des Ammoniumabbaus aus.

Bei einer Gesamtbetrachtung des Verlaufs der Nitratkonzentration in Abbildung 3-4 scheint es, als zeichnete sich ein Rückgang der Nitratproduktion ab, bevor Nitrit im Ablauf des Laborreaktors nachgewiesen werden konnte.

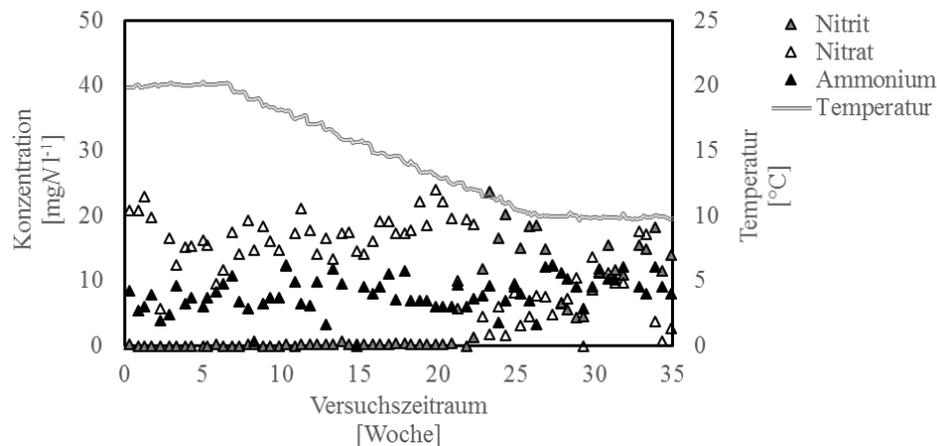


**Abbildung 3-5 Konzentrationen im Ablauf des Labor-SBR mit granulierter Biomasse während des Temperaturgradienten**

Die Konzentrationsverläufe in Abbildung 3-5 zeigen ein ähnliches Bild für die granulierte Biomasse, wie es bei der suspendierten Biomasse beobachtet worden war: Die mit rund 20 mgN l<sup>-1</sup> ebenfalls beträchtliche Nitratproduktion war zunächst stabil. Mit fallender Temperatur war dann ein Rückgang der Nitratkonzentrationen zu beobachten, der auch im zeitlichen Verlauf mit demjenigen bei der suspendierten Biomasse übereinstimmte. Die Akkumulation von Nitrit begann hier allerdings deutlich später. Erst bei etwa 12°C (Woche 20) wurde Nitrit im Ablauf des Laborreaktors mit granulierter Biomasse nachgewiesen. Die Nitritproduktion machte dann mit etwa 30 mgN l<sup>-1</sup> auch hier über 70 % des Ammoniumabbaues aus.

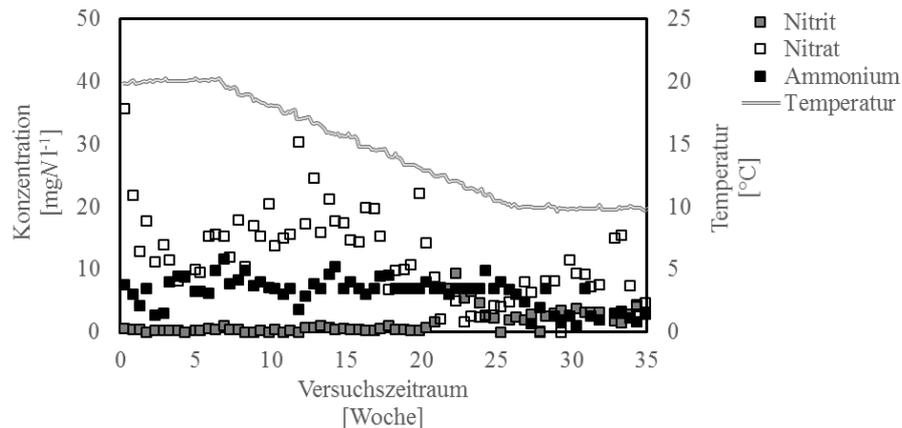
## Ergebnisse und Diskussion

Dass sich in beiden SBR-Systemen eine rückläufige Nitratkonzentration abzeichnete noch bevor Nitrit nachgewiesen werden konnte, weist auf eine rückläufige Nitritoxidation hin. Da anteilig immer weniger Nitrat entstand, wurde vermutlich zunehmend Nitrit via Anammox verbraucht. Die später einsetzende Nitritakkumulation zeigte den Zeitpunkt an, ab welchem Anammox das verfügbare (zusätzliche) Nitrit nicht mehr bewältigen konnte. Dies lag vermutlich sowohl an der zunehmenden Nitritverfügbarkeit durch die temperaturbedingt rückläufige Nitritoxidation als auch an einer temperaturbedingt rückläufigen Anammoxaktivität.



**Abbildung 3-6** Konzentrationen im Ablauf des Labor-MBBR mit 2mm-Aufwuchsträgern während des Temperaturgradienten

Das zeitliche Konzentrationsprofil für den Laborreaktor mit 2mm-Aufwuchsträgern (Abbildung 3-6) sah etwas anders aus. Die Nitratkonzentration im Ablauf betrug ebenfalls fast 20 mgN l<sup>-1</sup>, war allerdings stabil während der ersten 20 Wochen. Danach - bei 12°C - kam es zeitgleich zu einem drastischen Abfall der Nitrat- und Anstieg der Nitritkonzentrationen. Die Nitritproduktion betrug jedoch nur kurzzeitig 20 mgN l<sup>-1</sup>, machte hier also weniger als 50 % des umgesetzten Ammoniums aus.



**Abbildung 3-7 Konzentrationen im Ablauf des Labor-MBBR mit 10mm-Aufwuchsträgern während des Temperaturgradienten**

Abbildung 3-7 zeigt die Konzentrationsverläufe für den Laborreaktor mit den 10mm-Aufwuchsträgern. Die Nitratkonzentration blieb oberhalb von 12°C stabil, ähnlich dem Laborreaktor mit den 2mm-Aufwuchsträgern. Unterhalb von 12°C ließ sich auch bei den 10mm-Aufwuchsträgern plötzlich Nitrit im Ablauf nachweisen, was sich zeitlich mit dem Rückgang der Nitratkonzentration deckte. Allerdings stieg hier die Nitritkonzentration nur auf etwa  $10 \text{ mgN l}^{-1}$  an, was 25 % des umgesetzten Ammoniums ausmachte. Auch ging die Nitritkonzentration im weiteren Reaktorbetrieb wieder zurück, obwohl die Temperatur weiter auf 10°C gesenkt wurde. Bei 10°C wurde dann zwar wiederholt Nitrit im Ablauf nachgewiesen, allerdings immer  $< 5 \text{ mgN l}^{-1}$ . Zeitgleich wurden weniger als 25 % des umgesetzten Ammoniums als Nitrat wiedergefunden.

Diese Akkumulation von Nitrit wurde in allen Reaktorsystemen beobachtet und scheint daher charakteristisch für die Versuchsbedingungen. Nitrit akkumulierte unterhalb von Temperaturen um die 12°C – mit Ausnahme des Systems mit suspendierter Biomasse bei der es bereits bei 15°C begann.

Der Punkt, ab dem Nitrit nachweisbar wird, zeigt an, dass das verfügbare Nitrit nicht mehr bewältigt werden kann. Dass er bei der suspendierten Biomasse viel eher auftrat, deutet darauf hin, dass die Anammoxkapazität hier deutlich geringer war als in den anderen Biomassen. Da die Bioaggregate in der suspendierten Biomasse sehr kleine Durchmesser ( $X_{90}$  nur 30 % der granulierten Biomasse, vgl. Tabelle 3-2) hatten, war hier der Anteil an anaerobem Volumen in der gesamten Biomasse deutlich niedriger als in der größeren granulierten Biomasse und den Biofilmen auf den Aufwuchsträgern.

Die Nitratproduktion war in den MBBR-Systemen, also mit den Aufwuchsträgern, sehr viel stabiler als in den SBR-Systemen. Das deutet darauf hin, dass die Erneuerungsraten in den SBR-Systemen, in welchen sehr viel höhere Scherbeanspruchung herrscht, höher waren. In den Biofilmen auf den

Aufwuchsträgern waren die NOB besser geschützt und wurden trotz nachlassender Aktivität bei sinkenden Temperaturen nicht ausgeschwemmt.

### 3.2.2 Umsatzleistung der Laborreaktoren

Die Umsatzleistung der einzelnen Laborreaktoren während des Temperaturgradienten ist in Abbildung 3-8 direkt als Funktion der Temperatur in den Laborreaktoren aufgetragen. Daraus geht hervor, dass der Ammoniumabbau mit sinkender Temperatur deutlich zurückging.

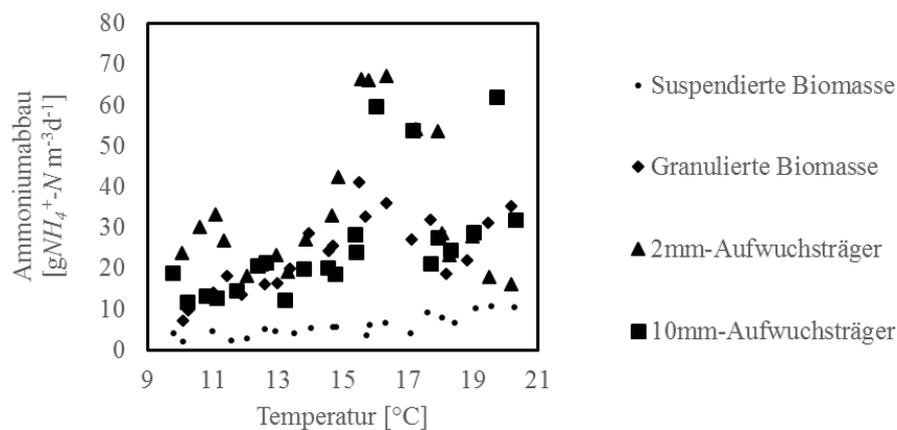
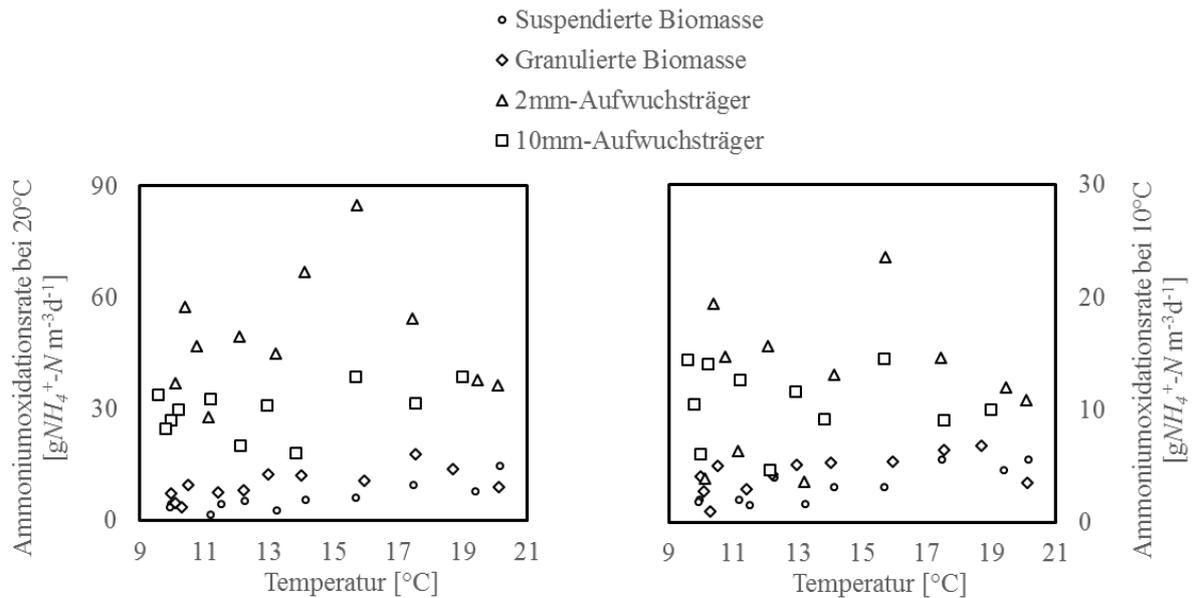


Abbildung 3-8 In-situ Ammoniumabbau in den vier untersuchten Reaktorsystemen als Funktion der Temperatur im Laborreaktor

### 3.2.3 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse

In regelmäßigen Aktivitätsmessungen, für welche Biomasse aus den Laborreaktoren entnommen wurde, wurden unter definierten Bedingungen die spezifischen Umsatzraten für Ammoniumoxidation, Anammox und Nitritoxidation einzeln gemessen.

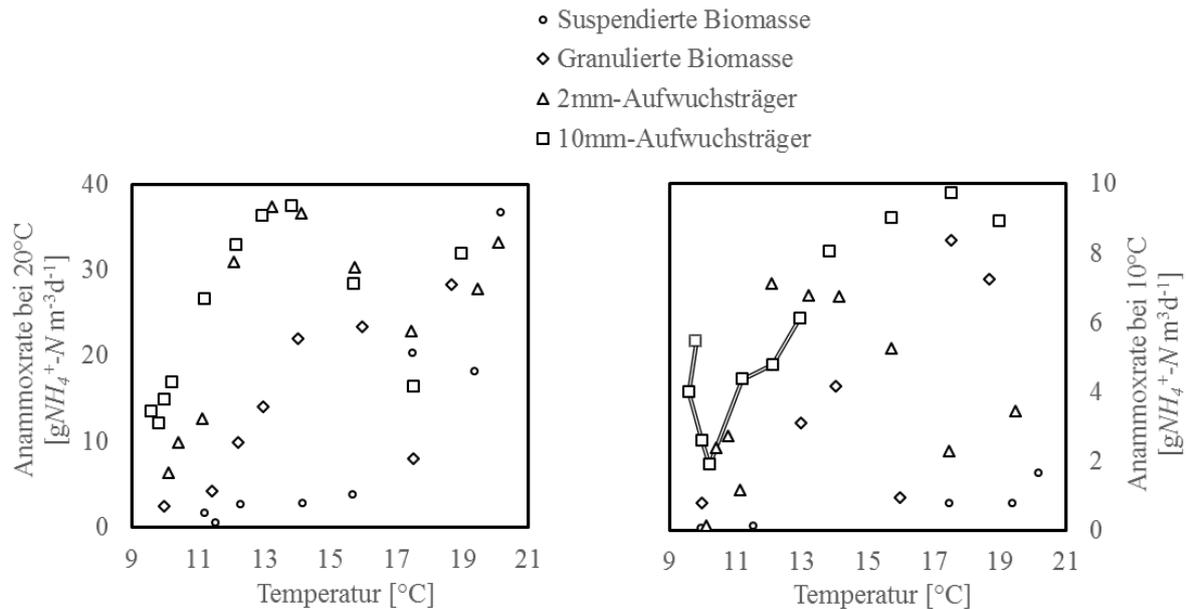
Im Folgenden sind die Ergebnisse dieser Aktivitätsmessungen über der Temperatur im Laborreaktor zum Zeitpunkt der Aktivitätsmessung aufgetragen. Dargestellt sind immer die Ergebnisse sowohl von den Aktivitätsmessungen, welche bei 20°C durchgeführt wurden als auch von denen, welche bei 10°C durchgeführt wurden. Die gemessenen Raten sind jeweils auf das Reaktorvolumen bezogen.



**Abbildung 3-9 Ex-situ Ammoniumoxidationsraten, die mit Biomasse aus den Laborreaktoren bei 20°C (links) und bei 10°C (rechts) gemessen wurden, aufgetragen über der Temperatur im Laborreaktor zum Zeitpunkt der Messung**

Die ex-situ Ammoniumoxidationsraten, gemessen bei 20°C (Abbildung 3-9 links), waren in etwa doppelt so hoch wie diejenigen, die bei 10°C gemessen wurden (Abbildung 3-9 rechts). Dies geht aus der unterschiedlichen Skalierung der beiden Diagramme deutlich hervor. Die Änderung der in-situ Reaktortemperatur, die auf den jeweiligen X-Achsen dargestellt ist, hatte jedoch keine Auswirkung auf die ex-situ Ammoniumoxidationsraten. Sie waren bei allen untersuchten Biomassen konstant, d.h. bei 10°C in-situ Reaktortemperatur nicht niedriger als bei 20°C Reaktortemperatur. Bei den 2mm-Aufwuchsträgern gab es deutliche Schwankungen, aber es zeigte sich kein Trend in Abhängigkeit des Temperaturgradienten. Gleiches gilt für die bei 10°C gemessenen ex-situ Raten und auch für die 10mm-Aufwuchsträger. Bei der suspendierten und der granulierten Biomasse waren die gemessenen Raten oberhalb von 12-13°C Reaktortemperatur etwas höher als unterhalb, aber nur in geringem Ausmaß.

Dies deckt sich mit der Beobachtung, dass der in-situ Ammoniumabbau in den Laborreaktoren nur mit der Temperatur abnahm. Es kam zu keinem Zeitpunkt bzw. bei keiner Temperatur zu einer drastischen Änderung der ex-situ Ammoniumabbauraten – und zwar weder des Gesamtumsatzes in den Laborreaktoren noch der spezifischen Umsatzraten in den Aktivitätsmessungen. Die Ammoniumoxidation folgt also im Temperaturbereich zwischen 10°C und 20°C einer deutlichen Temperaturabhängigkeit. Weitere Beeinträchtigungen der AOB wie Auswaschen oder Inaktivierung waren nicht zu erkennen.



**Abbildung 3-10** Ex-situ Anammoxraten, die mit Biomasse aus den Laborreaktoren bei 20°C (links) und bei 10°C (rechts) gemessen wurden, aufgetragen über der Temperatur im Laborreaktor zum Zeitpunkt der Messung

Die in Abbildung 3-10 über der Reaktortemperatur aufgetragenen ex-situ Anammoxraten lagen deutlich niedriger als die ex-situ Ammoniumoxidationsraten in Abbildung 3-9. Auch waren die bei 20°C gemessenen ex-situ Anammoxraten (links) teilweise deutlich mehr als doppelt so hoch wie die bei 10°C gemessenen (rechts), wie aus den Skalierungen der Diagramme hervorgeht.

Zudem zeigten die ex-situ Anammoxraten eine eindeutige Änderung in Abhängigkeit des Temperaturgradienten. Dies wurde besonders bei den Messungen bei 20°C sehr deutlich. Unterhalb von 13°C gingen sie bei den beiden Aufwuchsträgern und bei der granulierten Biomasse deutlich zurück. Bei der suspensierten Biomasse begann dieser Rückgang bei deutlich höheren Temperaturen, was sehr gut mit den in Kapitel 3.2.1 vorgestellten in-situ Konzentrationsprofilen in den jeweiligen Laborreaktoren korreliert.

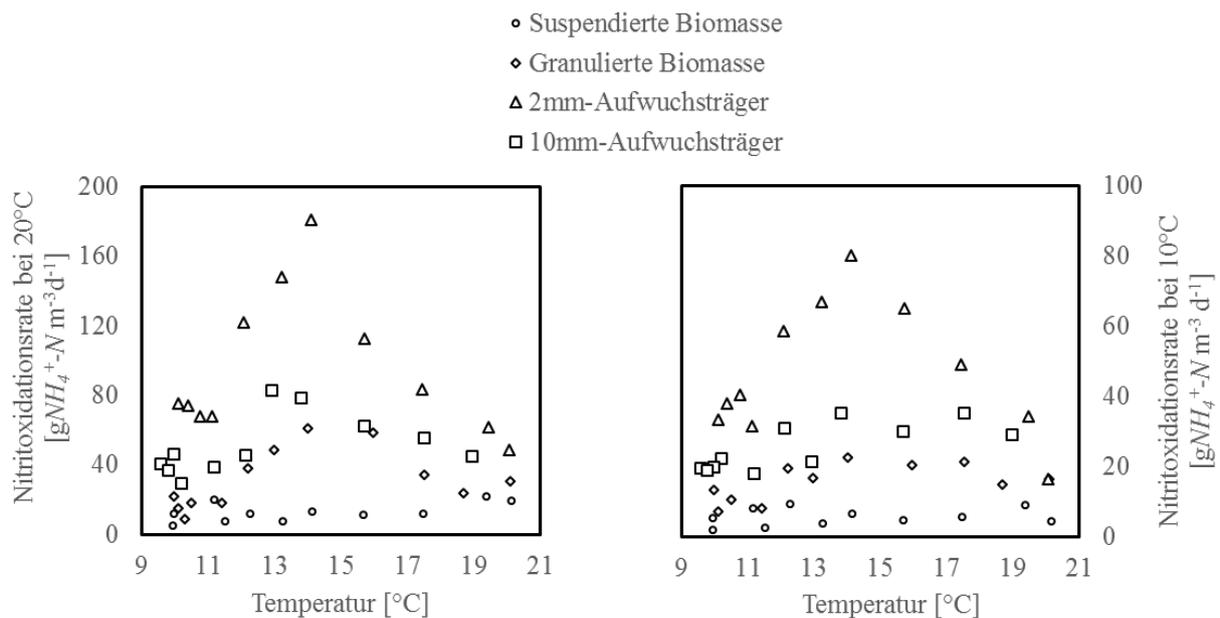
Bei den bei 10°C gemessenen ex-situ Anammoxraten (rechts) ist dieser Verlauf weniger deutlich. Allerdings waren die Raten bei 10°C Messtemperatur sehr niedrig und gerade bei der suspensierten Biomasse konnte in den meisten Messungen kaum Anammoxaktivität gemessen werden.

Ein anderer Trend zeigte sich jedoch bei den 10°C-Messungen, der bei den 20°C-Messungen nicht auftrat. Die ex-situ Anammoxraten der 10mm-Aufwuchsträger stiegen bei 10°C Reaktortemperatur an und erreichten wieder etwa 60 % der höchsten bei 10°C Messtemperatur gemessenen Raten (siehe verbundene Markierungen in Abbildung 3-10 rechts). Zum Vergleich lag das Minimum der ex-situ Raten bei 10°C Messtemperatur, gemessen während 11°C im Reaktor, bei nur 20 % des Maximums bei 10°C Messtemperatur. Dieser Anstieg wurde bei 20°C Messtemperatur nicht beobachtet. Er

## Ergebnisse und Diskussion

bestätigte jedoch die Beobachtungen im Laborreaktor (vgl. Abbildung 3-7). Die Nitritakkumulation erreichte dort ihr Maximum als die Reaktortemperatur bei 11,5°C lag und war bei niedrigeren Temperaturen wieder rückläufig.

Dieser Anstieg der ex-situ Anammoxraten bei 10°C Messtemperatur während diejenigen bei 20°C Messtemperatur weiter rückläufig waren deutet auf eine Anpassung des Metabolismus der AnAOB hin. Molekularbiologische Messungen (Next Generation Sequencing, nicht Bestandteil dieser Promotion) zeigten, dass keine Änderung in der AnAOB Population stattfand, d.h. es wurde immer nur eine Spezies gefunden, die auch keinen mengenmäßigen Änderungen unterlag. Damit hat die eine Spezies AnAOB ihren Metabolismus an die niedrigen Temperaturen anpassen können, was sich daran zeigte, dass nur die bei 10°C gemessenen Anammoxraten anstiegen. Zudem wurde dies nur bei den 10mm-Aufwuchsträgern beobachtet und ist daher wahrscheinlich auf die hohe Biofilmdicke zurückzuführen. In den anderen drei Biomassen waren wegen der geringeren Biofilmdicke bzw. Partikelgröße die Bedingungen für Anammox möglicherweise nicht ausreichend anaerob, als dass sich dieser Effekt hätte zeigen können.



**Abbildung 3-11 Ex-situ Nitritoxidationsraten, die mit Biomasse aus den Laborreaktoren bei 20°C (links) und bei 10°C (rechts) gemessen wurden, aufgetragen über der Temperatur im Laborreaktor zum Zeitpunkt der Messung**

Die bei 20°C Messtemperatur gemessenen ex-situ Nitritoxidationsraten in Abbildung 3-11 links lagen wiederum etwa doppelt so hoch wie die bei 10°C gemessenen (rechts). Sie zeigten, außer bei der suspendierten Biomasse, alle ein Maximum. Bei der granulierten Biomasse lag das Maximum zwischen 14°C und 16°C, bei den 2mm-Aufwuchsträgern lag es bei 14°C und bei den 10mm-

Aufwuchsträgern bei 13-14°C. Die bei 10°C Messtemperatur gemessenen ex-situ Nitritoxiderationsraten in Abbildung 3-11 links bestätigen dies, allerdings weniger ausgeprägt.

Damit verschob sich das Maximum der Nitritoxiderationsraten von der granulierten Biomasse über die 2mm-Aufwuchsträger zu den 10mm-Aufwuchsträgern, also mit zunehmender Biofilmdicke, hin zu niedrigeren Reaktortemperaturen. Dies bestätigt die Vermutung, dass NOB in den SBR-Systemen mit höherer Scherbeanspruchung leichter ausselektiert werden, bzw. sich bei nachlassender Aktivität im Biofilm länger halten.

### **3.2.4 Fazit: Auswirkungen des Temperaturgradienten Sommer-Winter**

In diesem Zwischenfazit wird zusammenfassend der Zeitraum der Temperaturreduktion von 20°C auf 10°C diskutiert. In den nachfolgenden Kapiteln werden die Zeiträume des Reaktorbetriebs bei konstant 20°C (Kapitel 3.3) und konstant 10°C (Kapitel 3.4) vorgestellt. Am Ende folgt in Kapitel 3.6 eine abschließende Zusammenfassung des gesamten Reaktorbetriebs.

Der Temperaturgradient in den Laborreaktoren hatte einen deutlichen Effekt auf die beteiligten Prozesse. Nicht nur die Umsatzleistung und die Effizienz der Reaktorsysteme selbst ließen nach. Teilweise verschob sich die Temperaturabhängigkeit der einzelnen Prozesse. Vor allem bei Anammox und der Nitritoxidation traten Einbrüche auf, die über die Temperaturabhängigkeit der Prozesse hinausging: Die immer weiter reduzierte Temperatur beeinflusste die einzelnen Prozesse soweit, dass sich die Änderungen auch in den ex-situ Aktivitätsmessungen signifikant widerspiegelten.

Die Umsatzraten nahmen, wie es zu erwarten war, mit sinkender Temperatur ab. Dies ist in erster Linie auf die Temperaturabhängigkeit der Ammoniumoxidation zurückzuführen, die zumindest in PNA-Systemen bei Temperaturen von  $\geq 30^\circ\text{C}$  als geschwindigkeitslimitierend gilt. Die Ammoniumoxidation selbst wurde als einziger Prozess nicht über ihre Temperaturabhängigkeit hinaus durch die sinkende Temperatur beeinträchtigt.

Demnach war das Toleranzfenster der AOB gegenüber Temperatur entweder größer oder insgesamt bei niedrigeren Temperaturen angesiedelt als das der NOB, die ja durch die sinkende Temperatur stark beeinträchtigt wurden. In einer anderen Vergleichsstudie wurde auch für AOB ein etwas niedrigeres Temperaturoptima als NOB (Grunditz and Dalhammar, 2001) nachgewiesen – auch wenn AOB sonst eher eine steilere Temperaturabhängigkeit (Hunik, 1993; Knowles et al., 1965) attestiert wird als NOB. Allerdings wurden diese Aussagen auf Grundlage eines Vergleichs von *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* erhoben und in allen hier vorherrschenden Systemen wurden nur *Nitrospira* gefunden. Aber auch die hier beschriebenen Aktivitätsmessungen zeigten eigentlich für die Ammoniumoxidation eine stärkere Temperaturabhängigkeit an als für die Nitritoxidation (vgl. Kapitel 3.5, S. 57).

Zudem waren die AOB vor allem resistenter gegenüber der dauerhaften Temperaturabsenkung als die NOB. Blackburne et al. (2007a) konnten bereits zeigen, dass NOB durch Temperaturänderungen deutlich gehemmt wurden, wenn diese dauerhaft waren – während die gleichen Temperaturänderungen in kurzzeitigeren Versuchen keinen Effekt hatten.

Die langsam sinkende Temperatur führte weiter in allen untersuchten Systemen zu einer ausgeprägten Nitritakkumulation. Das zeigt, dass zumindest bei den niedrigen Temperaturen nicht die Produktion von Nitrit, also die Ammoniumoxidation, sondern der Verbrauch von Nitrit der limitierende Schritt ist. Die Nitritakkumulation im niedrigen Temperaturbereich ist, wie auch die Bedeutung des gelösten Sauerstoffs, nachfolgend für sich diskutiert.

### ***Nitritakkumulation bei niedrigen Temperaturen***

Die angesprochene Nitritakkumulation wurde in allen Laborreaktoren beobachtet, auch wenn sie im SBR mit suspendierter Biomasse bereits bei deutlich höheren Temperaturen begann und bei dem MBBR mit den 10mm-Aufwuchsträgern geringer ausfiel. Auch in anderen Forschungsarbeiten zu PNA im Hauptstrom wurde im gleichen Temperaturbereich eine Akkumulation von Nitrit beobachtet. So akkumulierte z.B. nach einer abrupten Temperaturabsenkung von 12°C auf 9°C bei suspendierter Biomasse Nitrit (Hu et al., 2013). Im Biofilm basierten SBR (Dosta et al., 2008) sowie in einem Scheibentauchkörper mit maximaler Biofilmdicke von 3 mm (de Clippeleir et al., 2013) akkumulierte Nitrit bereits bei 15°C sowie in einem MBBR mit anderen, ebenfalls 10 mm starken Aufwuchsträgern (K1 von AnoxKaldnes) bei 10-16°C (Persson et al., 2013). Allerdings entstammen diese Daten keinem direkten Vergleich und erstere Arbeit beschreibt eine Anammox-angereicherte Kultur unter sehr definierten Bedingungen, während in letzteren Arbeiten kommunales Abwasser vorbehandelt und verdünnt bzw. industrielles Abwasser direkt verwendet wurde. Dennoch bestätigen die dort gemachten Beobachtungen, dass bei PNA-Systemen eine Nitritakkumulation unterhalb von Temperaturen im Bereich von 10-15°C zu erwarten ist.

Da die Nitritakkumulation in allen vier untersuchten Laborreaktoren sowohl mit einer Reduktion der Anammox- als auch der Nitritoxidationsraten korrelierte, ist ihre Ursache nicht eindeutig zuzuweisen. Da, mit Ausnahme der suspendierten Biomasse, die Nitritoxidationsraten jeweils bei ca. 2°C oberhalb dem Start der Nitritakkumulation einen Peak hatten, ist die nachlassende Nitritoxidation sehr wahrscheinlich der primäre Auslöser gewesen. Dies deckt sich mit der wiederholt auch in anderen Reaktorsystemen zur Nitrifikation beobachteten Nitritakkumulation bei niedrigen Temperaturen (Kim et al., 2006; Malhi and McGill, 1982; Randall and Buth, 1984; Wortman and Wheaton, 1991). In Detailstudien wurde gezeigt, dass die unterhalb von 12-14°C nachlassende Nitritoxidation die Ursache dafür ist (Randall and Buth, 1984). Da dies genau der Temperaturbereich ist, in welchem es in allen hier beschriebenen PNA-Systemen zu einer Nitritakkumulation kam, kann davon ausgegangen werden, dass diese hier ebenfalls durch die abrupt nachlassende Nitritoxidation hervorgerufen wurde.

Die ex-situ Aktivitätsmessungen zeigten passend zu dieser Theorie einen sehr rapiden Abfall der Nitritoxidationsraten an, nachdem der oben erwähnte Peak unterschritten war. Offensichtlich war eine für NOB kritische Temperatur unterschritten worden. Nachdem während höherer in-situ Temperaturen bei den ex-situ Messungen bei 10°C durchaus Nitritoxidation gemessen wurde, scheinen NOB kurzzeitig niedrigere Temperaturen zu tolerieren. Nachdem jedoch die in-situ Temperatur unter diese kritische Temperatur von 12-14°C fiel, stellten die NOB ihren Stoffwechsel ein, was an dem rapiden Abfall der ex-situ Nitritoxidationsraten zu sehen ist und eben zu der Nitritakkumulation in den Laborreaktoren führte.

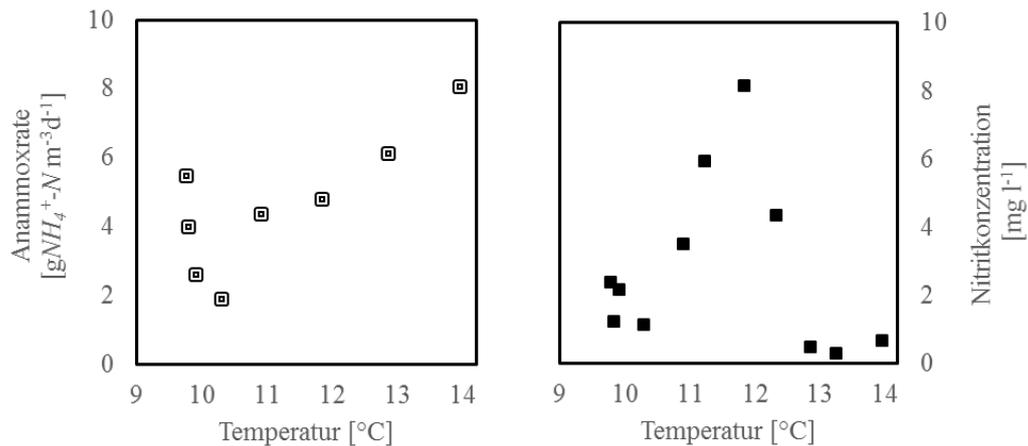
Die Anammoxraten waren in diesem Temperaturbereich bereits rückläufig. Darüber hinaus leiden AnAOB bekanntlich unter erhöhten Nitritkonzentrationen (Dapena-Mora et al., 2007; Egli, 2003; Lotti et al., 2012; Scaglione et al., 2012; Strous et al., 1999), wodurch diese plötzlich erhöhte Nitritverfügbarkeit zu einer zusätzlichen Hemmung des Anammoxprozesses führte. Für einen reinen Anammoxreaktor bei 10°C wurde eine Reduktion der Anammoxaktivität um rund 75% in Folge einer Nitritakkumulation berichtet (Lotti et al., 2014). Daher muss für eine stabile Implementierung von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen, diese Nitritakkumulation unbedingt vermieden werden. Einen Teil könnten denitrifizierende Bakterien dazu beitragen, die bei der Behandlung von realem, kohlenstoffhaltigem Abwasser ebenfalls auftreten werden und die die Nitritakkumulation abpuffern können (Willers et al., 1993). Aber um die Nitritakkumulation aktiv zu reduzieren, müssen NOB schon bei höheren Temperaturen sicher unterdrückt werden können. Da jedoch sogar in einem PNA-Laborreaktor, in welchem keine NOB gefunden wurden, bei diesen Temperaturen eine Nitritakkumulation beobachtet wurde (Hu et al., 2013) kann diese selbst bei niedrigerer NOB-Aktivität nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Zudem wurde von Nitritakkumulation bei gleichzeitig zunehmender NOB-Aktivität berichtet (de Clippeleir et al., 2013). Daher muss außerdem die Anammoxkapazität der Biomasse maximiert werden, um diese Nitritakkumulation abzufangen und natürlich um die gesamte Umsatzleistung zu erhöhen. Denn Anammox war der limitierende Schritt, schließlich wurde Nitrit auch bei niedrigeren Temperaturen noch zuverlässig produziert.

Dass niedrige Temperaturen NOB stärker einschränken als AOB, ist bereits vor einigen Jahren vermutet worden (Kim et al., 2006). Dies steht im Widerspruch zur generellen Annahme, dass niedrige Temperaturen AOB stärker einschränken als NOB. Diese Annahme basiert auf Wachstumskinetiken von *Nitrobacter* und *Nitrosomonas* (Hunik et al., 1994; Knowles et al., 1965; Quinlan, 1980). Sie hat sich gehalten - obwohl seit Jahren bekannt ist, dass nicht *Nitrobacter*, sondern *Nitrospira* die in vielen Abwassersystemen vorherrschenden NOB sind (Sarkenburg et al., 2011). Das ist umso bemerkenswerter, da seit vielen Jahren in verschiedenen Nitrifikationssystemen von Nitritakkumulation bei niedrigen Temperaturen berichtet wird (Kim et al., 2006; Malhi and McGill, 1982; Randall and Buth, 1984; Wortman and Wheaton, 1991).

Der Vergleich der Laborreaktoren untereinander zeigte, dass die Nitritakkumulation umso früher begann und umso stärker ausgeprägt war, je kleiner die Aggregate waren. Dies deutet darauf hin, dass ein größerer Anteil an konstant anaeroben (Kern-)Schichten positiv ist, weil das den Anammoxprozess begünstigt. Dies deckt sich mit dem Vergleich der bisher publizierten Ergebnisse anderer Forschungsgruppen: Nitritakkumulation tritt bei vergleichbar niedrigen Temperaturen ein, wenn die Biomasse eine hohe Anammoxkapazität aufweist. Bei den hier untersuchten Systemen trat die Nitritakkumulation im MBBR mit den 2mm-Aufwuchsträgern bei der gleichen Temperatur und in gleichem Ausmaß auf wie im SBR mit granulierter Biomasse. Ein Vergleich der Abmessungen dieses Aufwuchsträgers und der Partikelgrößenverteilung dieser Biomasse legt nahe, dass dies auf eine sehr ähnliche Verteilung von aeroben zu anaerobem Anteil der Biomasse im Aggregat zurückzuführen ist. Im MBBR mit den 10mm-Aufwuchsträgern, die einen deutlich größeren anaeroben Anteil boten, akkumulierte Nitrit erst bei niedrigeren Temperaturen und in viel geringerem Ausmaß.

Die ex-situ Messungen zeigten außerdem, dass sich im Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern Anammox an die niedrigen Temperaturen adaptieren konnte. Die bei 10°C gemessenen Anammoxraten stiegen an, nachdem die in-situ Temperatur unter 11°C sank. Gleichzeitig ging die Nitritkonzentration im Laborreaktor zurück (Abbildung 3-12). Eine solche Adaption wurde bislang in keiner anderen Studie beobachtet und auch die anderen drei Laborreaktoren zeigten ein anderes Verhalten. Im anderen MBBR, mit dem Biofilm auf den 2mm-Aufwuchsträgern, ging zwar unterhalb von 11°C die Nitritproduktion ebenfalls leicht zurück (vgl. Abbildung 3-6), aber es wurde kein Anstieg der Anammoxraten beobachtet (vgl. Abbildung 3-10). Im SBR mit suspendierter Biomasse war ebenfalls ein Rückgang der Nitritproduktion zu beobachten, der jedoch auf wieder ansteigende Nitritoxidation zurückzuführen war.

Der deutlichste Unterschied zwischen dem Biofilm, in welchem sich Anammox an niedrige Temperaturen adaptieren konnte, und den anderen untersuchten Biomassen, ist die Biofilmdicke. Da die Sauerstoffzehrung zu diesem Zeitpunkt in allen vier Laborreaktoren sehr gering war, lag die Sauerstoffkonzentration auf einem ähnlichen Niveau (Tagesmittelwerte von 0,1 – 0,2 mg l<sup>-1</sup>), was den obligat anaeroben Anammoxbakterien geschadet hat. Damit bot nur das Innere des dicken Biofilms auf den 10mm-Aufwuchsträgern ein anaerobes Milieu als Voraussetzung für Anammox.



**Abbildung 3-12 Vergleich von ex-situ Anammoxrate bei 10°C Messtemperatur (links) und in-situ Nitritkonzentration (rechts) im in-situ Temperaturbereich <14°C mit den 10mm-Aufwuchsträgern.**

Der Rückgang der Nitratproduktion, der in allen Laborreaktoren beobachtet wurde, war in den SBR irreversibel; auch nachdem die Temperatur wieder bei 20°C war, wurde quasi kein Nitrat mehr produziert (Tabelle 3-4). Dies bedeutet, dass die NOB sich nicht von dem Temperaturschock erholen konnten. In den MBBR dagegen war die anteilige Nitratproduktion nach dem Temperaturgradienten sogar leicht höher als zuvor (Tabelle 3-5). Aus diesem Unterschied lässt sich schließen, dass die inaktiven NOB aus den SBR ausgeschwemmt wurden, während die im Biofilm fixierte NOB in den MBBR bei höheren Temperaturen ihre Aktivität wieder aufnahmen.

Dass sich NOB in den SBR während der ansteigenden Temperatur nicht wieder durchsetzen konnten, liegt auch an der Umsetzung einer Belüftungsstrategie zur gezielten Unterdrückung von NOB in diesen Reaktoren. Die Erkenntnisse, auf denen diese Belüftungsstrategie beruht, sind in Kapitel 4.1 beschrieben.

### ***Bedeutung des gelösten Sauerstoffs***

Die oben erwähnte Belüftungsstrategie konnte noch nicht während der hier beschriebenen Versuchsreihe zum Temperaturgradienten umgesetzt werden, da die Versuchsreihe zu eben dieser Belüftungsstrategie zeitgleich durchgeführt wurde. Außerdem war die Bauweise des Labor-SBR (vgl. Kapitel 2.1.1), der zunächst mit einem Magnetrührer durchmischt worden war nicht optimal. Mit dem kleinen Rührstab (20x40 mm, oval) war eine hohe Drehzahl ( $200 \text{ min}^{-1}$ ) notwendig um die Biomasse zu bewegen, was wiederum für einen hohen Sauerstoffeintrag über die Wasseroberfläche führte. Durch den Wechsel zu einem Überkopfrührwerk mit drei Rührblättern (50x50 mm) konnte die Biomasse auch mit einer niedrigeren Drehzahl ( $100 \text{ min}^{-1}$ ) durchmischt werden. Dies senkte die Sauerstoffeintragsrate bei 10°C um rund 20 % (vgl. Tabelle 2-1). Zusätzlich wurde der Labor-SBR dann auch an die Stickstoffversorgung angeschlossen (vgl. Abbildung 2-5), wodurch sich die

Sauerstoffkonzentration auch gezielt senken ließ. Die Stickstoffversorgung war auch in dem anderen Labor-SBR sowie die beiden Labor-MBBR, die alle drei über eine Gaszirkulation durchmischt wurden, notwendig um die Sauerstoffkonzentration bei den niedrigen Temperaturen niedrig zu halten.

Insgesamt stellte die erhöhte Sauerstofflöslichkeit bei den niedrigen Temperaturen in Verbindung mit der wegen dem langsameren Metabolismus der Bakterien reduzierten Sauerstoffzehrung ein Problem während der Versuchsreihe dar. Bei den Ammoniumabbauraten von  $< 20 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  bei  $10^\circ\text{C}$ , betrug die Sauerstoffzehrung  $< 8 \text{ mg h}^{-1}$ , was deutlich unter der Sauerstoffeintragsrate in die Laborreaktoren lag (vgl. Tabelle 2-1). Im Vergleich zum durchmischten Zustand lag damit die Sauerstoffzehrung bei etwa einem Zehntel des Sauerstoffeintrags im gerührten System und etwa einem Hundertstel des Sauerstoffeintrags im gaszirkulierten System. Bei den hier beschriebenen Systemen wurde dem - mit Ausnahme des gerührten SBR - durch konzentrationsreguliertes Ausstrippen des Sauerstoffs durch Einblasen von Stickstoff entgegengewirkt.

Dieses Problem ist auch anderen Forschungsgruppen, die sich mit PNA bei niedrigen Temperaturen befassen, bekannt (B. Wett, B. Stinson, S. Murphy, pers. Kommunikation während der WEF/IWA-Konferenz „Nutrient Removal and Recovery“ 2013). Möglicherweise tritt dieses Problem im Pilotmaßstab weniger auf, da das Verhältnis von Luftvolumenstrom zum Reaktorvolumen feiner justiert werden kann. Auch die heterotrophe Aktivität, die beim Betrieb mit realem Abwasser zu erwarten ist, könnte helfen die Sauerstoffkonzentration zu senken.

Dennoch hebt dieser Punkt die Eignung von MBBR für PNA bei niedrigen Temperaturen hervor, da in tiefen Schichten des Biofilms auch bei erhöhten Sauerstoffkonzentrationen dauerhaft anaerobes Milieu gewährleistet wird, was Anammox erst möglich macht.

### 3.3 Umsatzleistung bei 20°C (Sommer)

In diesem Kapitel wird die Umsatzleistung der verschiedenen Reaktorsysteme bei 20°C beurteilt. Dazu werden in-situ Umsatzleistungen der Laborreaktoren und Ergebnisse ex-situ Aktivitätsmessungen verglichen. Zudem sind jeweils Kenndaten eines Zeitraums bei 20°C vor und nach dem Durchlaufen des im vorherigen Kapitel 3.2 beschriebenen Temperaturgradienten gegenübergestellt, um Langzeitwirkungen dieses Temperaturgradienten beurteilen zu können. Eine Übersicht zum zeitlichen Ablauf der Temperaturänderungen ist in Tabelle 3-1 zu finden.

#### 3.3.1 Umsatzleistung der Laborreaktoren

In den folgenden Tabellen sind die Reaktorkenndaten bei 20°C zusammengefasst, wobei jeweils ein Zeitraum vor dem Temperaturgradienten und ein Zeitraum nach dem Temperaturgradienten gegenübergestellt sind. Die Daten vom Betrieb bei 20°C nach dem Temperaturgradienten lagen außerhalb des hier beschriebenen Versuchszeitraums. Sie wurden nur zur Beurteilung der Auswirkungen des Temperaturgradienten in diese Gegenüberstellung mitaufgenommen.

**Tabelle 3-4 In-situ Reaktordaten bei 20°C vor dem Temperaturgradienten und 15 Wochen danach (jeweils Mittelwerte über 4 Wochen) für die suspendierte und die granuliert Biomasse**

		Suspendierte Biomasse		Granulierte Biomasse	
		20°C (Beginn)	20°C (Ende)	20°C (Beginn)	20°C (Ende)
<b>Ammoniumabbau</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	$6 \pm 2$	$6 \pm 2$	$19 \pm 5$	$8 \pm 1$
	$gN kg^{-1} TS d^{-1}$	$5 \pm 1$	$6 \pm 1$	$7 \pm 2$	$4 \pm 1$
<b>Nitritproduktion</b>	%	$1 \pm 1$	$33 \pm 17$	NN	$33 \pm 9$
<b>Nitratproduktion</b>	%	$39 \pm 9$	$2 \pm 1$	$33 \pm 12$	$3 \pm 1$

**Tabelle 3-5 In-situ Reaktordaten bei 20°C vor dem Temperaturgradienten (Mittelwerte über 4 Wochen) und 15 Wochen danach (Mittelwert über 4 Wochen) für die beiden Aufwuchsträger**

		2mm-Aufwuchsträger		10mm-Aufwuchsträger	
		20°C (Beginn*)	20°C (Ende)	20°C (Beginn*)	20°C (Ende)
<b>Ammoniumabbau</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	$24 \pm 9$	$29 \pm 2$	$39 \pm 19$	$61 \pm 20$
	$gN kg^{-1} TS d^{-1}$	$5 \pm 2$	$6 \pm 0,4$	$3 \pm 2$	$7 \pm 2$
<b>Nitritproduktion</b>	%	NN	$34 \pm 11$	NN	$17 \pm 9$
<b>Nitratproduktion</b>	%	$21 \pm 10$	$35 \pm 12$	$25 \pm 8$	$30 \pm 12$

\* für die Mittelwertbildung wurden nicht die letzten vier Wochen vor dem Temperaturgradienten gewählt, da während dieser Zeit die Sauerstoffkonzentration nicht repräsentativ war.

Hinsichtlich der Umsatzkapazität reagierten die einzelnen Systeme sehr unterschiedlich auf den durchlaufenen Jahreszyklus. Der Ammoniumabbau der suspendierten Biomasse bei 20°C war nach Durchlaufen des Temperaturgradienten noch auf dem gleichen Niveau wie davor (Tabelle 3-4). Das war auch der Fall bei den 2mm-Aufwuchsträgern (Tabelle 3-5). Bei den 10mm-Aufwuchsträger war der Ammoniumabbau nach dem Durchlaufen des Temperaturgradienten sogar gesteigert (Tabelle 3-5). Bei der granulierten Biomasse dagegen lag der Ammoniumabbau danach niedriger als davor (Tabelle 3-4). Da hier, anders als bei den drei andere Biomassen, die Biomassenkonzentration im Laborreaktor während des Temperaturgradienten abgenommen hatte (vgl. Abbildung 3-2, S. 33), war der Unterschied bei den biomassenspezifischen Raten geringer als bei den volumenbezogenen Raten.

In allen Reaktorsystemen war nach dem Durchlaufen des Temperaturgradienten Nitrit im Ablauf messbar, was vorher nicht der Fall gewesen war. Dabei verblieben bei der suspendierten und der granulierten Biomasse (Tabelle 3-4) sowie den 2mm-Aufwuchsträger (Tabelle 3-5) etwas mehr als 30 % des umgesetzten Ammoniums als Nitrit übrig. Bei den 10mm-Aufwuchsträgern war es nur etwa halb so viel.

Bei der suspendierten und der granulierten Biomasse lag die Nitratproduktion vor dem Durchlaufen des Temperaturgradienten bei etwas mehr als 30 % und war danach vernachlässigbar. Hier war die Nitratproduktion durch eine Nitritproduktion ersetzt worden. Bei beiden Aufwuchsträgern lag die Nitratproduktion nach dem Durchlaufen des Temperaturgradienten etwas höher als davor. In der zusätzlichen Nitritproduktion und der gesteigerten Nitratproduktion war auch die höhere Umsatzleistung bei den 10mm-Aufwuchsträgern begründet.

### **3.3.2 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse**

Die einzelnen ex-situ Umsatzraten bei 20°C für Anammox, Ammoniumoxidation und Nitritoxidation sind in Tabelle 3-6 für die suspendierte und die granulierten Biomasse und in Tabelle 3-7 für die beiden Aufwuchsträger aufgelistet. Hier sind nur Mittelwerte aus dem Zeitraum vor dem Durchlaufen des Temperaturgradienten gegeben, da während dem Zeitraum bei 20°C danach nur einmalig Aktivitätsmessungen durchgeführt wurden. Mit der suspendierten Biomasse war diese Aktivitätsmessung nicht durchgeführt worden.

**Tabelle 3-6 Ex-situ Umsatzraten, gemessen bei 20°C während der Phase mit in-situ 20°C in den Laborreaktoren vor dem Temperaturgradienten (Mittelwerte über 6 Wochen) und 25 Wochen danach (Einzelmessung) für die suspendierte und die granulierten Biomasse**

		Suspendierte Biomasse		Granulierte Biomasse	
		20°C (Beginn)	20°C (Ende)	20°C (Beginn)	20°C (Ende)
<b>Anammox</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	19 ± 3	n.v.	22 ± 4	1
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	14 ± 2	n.v.	11 ± 1	0,3
<b>Ammoniumoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	6 ± 3	n.v.	9 ± 2	4
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	5 ± 2	n.v.	5 ± 2	2
<b>Nitritoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	27 ± 16	n.v.	38 ± 10	3
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	20 ± 12	n.v.	21 ± 8	2

Bei der granulierten Biomasse lagen die ex-situ gemessenen Anammox- und Nitritoxidationsraten Umsatzraten nach Durchlaufen des Temperaturgradienten deutlich niedriger als vorher. Dies erklärt den Wechsel von einer Nitratproduktion im Laborreaktor zu einer Nitritproduktion (vgl. Tabelle 3-4). Die Ammoniumoxidationsraten lagen nach Durchlaufen des Temperaturgradienten nur geringfügig niedriger als davor, was sich mit der Beobachtung deckt, dass die Ammoniumoxidation zwar temperaturabhängig ist, die verantwortlichen AOB aber, zumindest zwischen 10°C und 20°C durch Temperaturänderungen nicht nachhaltig beeinflusst wurden. Dies galt nicht für Anammox und die Nitritoxidation, deren Umsatzraten im niedrigen Temperaturbereich stark zurückgegangen waren.

**Tabelle 3-7 Ex-situ Umsatzraten, gemessen bei 20°C während der Phase mit in-situ 20°C in den Laborreaktoren vor dem Temperaturgradienten (Mittelwerte über 6 Wochen) und 25 Wochen danach (Einzelmessung) für die beiden Aufwuchsträger**

		2mm-Aufwuchsträger		10mm-Aufwuchsträger	
		20°C (Beginn)	20°C (Ende)	20°C (Beginn)	20°C (Ende)
<b>Anammox</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	43 ± 5	10	39 ± 12	15
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	7 ± 1	2	4 ± 1	2
<b>Ammoniumoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	25 ± 8	71	15 ± 2	52
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	5 ± 2	14	2 ± 0,2	6
<b>Nitritoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	73 ± 17	76	52 ± 15	42
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	14 ± 3	15	4 ± 3	5

Auch bei den Aufwuchsträgern lagen die Anammoxraten nach Durchlaufen des Temperaturgradienten deutlich niedriger als davor. Bei den Nitritoxidationsraten war dies allerdings nicht der Fall. Diese lagen auf gleichen Niveau bzw. bei den 10mm-Aufwuchsträgern sogar etwas niedriger als vorher, was mit der kaum reduzierten Nitratproduktion in den Laborreaktoren korreliert (vgl. Tabelle 3-5). Die Ammoniumoxidationsraten lagen bei beiden Aufwuchsträgern nach Durchlaufen des

Temperaturgradienten sogar deutlich höher als davor, was allerdings nur bei den 10mm-Aufwuchsträgern zu deutlich höherer Umsatzleistung im Laborreaktor geführt hat (vgl. Tabelle 3-5).

### 3.3.3 Fazit: Umsatzleistung bei 20°C (Sommer)

Vor dem Durchlaufen des Temperaturgradienten zeigten alle Laborreaktoren vergleichbare biomassenspezifische Ammoniumabbauraten von etwa  $5 \text{ gN kg}^{-1}\text{TSd}^{-1}$ . Da die Biomassenkonzentration in den Laborreaktoren unterschiedlich war, wichen die volumetrischen Umsatzraten voneinander ab. Der TS stieg von suspendierter zu granulierter Biomasse zu 2mm-Aufwuchsträgern zu 10mm-Aufwuchsträgern an, jeweils etwa mit Faktor 2. Die Unterschiede der volumetrischen Umsatzraten wichen davon ab. Zwischen suspendierter und granulierter Biomasse lag etwa Faktor 3, zwischen granulierter Biomasse und 2mm-Aufwuchsträgern gab es gar keinen Unterschied und zwischen 2mm- und 10mm-Aufwuchsträgern lag etwa Faktor 2. Das zeigt, dass nicht nur die Biomassenkonzentration ausschlaggebend für die unterschiedliche Umsatzleistung der verschiedenen Systeme war. Trotz unterschiedlich hoher Biomassenkonzentration setzen die Laborreaktoren mit der granulierten Biomassen und den 2mm-Aufwuchsträgern gleich viel um. Und größentechnisch können die Granula mit 1-2 mm Durchmesser und die 2mm-Aufwuchsträger als vergleichbar bezeichnet werden. Allerdings boten die kugeligen Granula eine ganz andere Phasengrenzfläche als der Biofilm, der geschützt an den inneren Wänden des Aufwuchsträger-Gitters wuchs. Die Gasrezirkulation führte zu einer viel schnelleren Bewegung der kleinen Granula als der großen, flachen Aufwuchsträger, was deren Diffusionsgrenzschicht verkleinerte. Zudem unterlagen die Granula viel mehr Abrasion als der im Plastikgitter geschützte Biofilm, was die Erneuerungsrate der Biomasse erhöhte. Dagegen lagen die Umsatzraten der hinsichtlich der Scherbeanspruchung vergleichbaren, aber geringer konzentrierten, suspendierten Biomasse noch niedriger als allein über den niedrigeren TS zu erwarten gewesen wäre.

Der Vergleich der ex-situ Umsatzraten zeigt, dass die granuliert und die suspendierte Biomasse die gleiche biomassenspezifische Ammoniumoxidaions- und Nitritoxidaionskapazität aufwiesen. Eigentlich wäre in der suspendierten Biomasse wegen der besseren Sauerstoffverfügbarkeit die höhere aerobe Kapazität zu erwarten gewesen. Im weiteren Vergleich mit den 2mm-Aufwuchsträgern zeigte sich, dass deren Ammoniumoxidaionskapazität im gleichen Größenbereich lag. Die geschützte Phasengrenzfläche des Biofilms auf den Aufwuchsträgern schien also hierfür nicht von Nachteil. Die Nitritoxidaionskapazität der 2mm-Aufwuchsträger lag allerdings niedriger als die der suspendierten oder der granulierten Biomasse, also schien der Sauerstoffkonkurrenzeffekt im Biofilm auf den Aufwuchsträgern doch ausgeprägter gewesen zu sein als in den beiden anderen Biomassen.

Auf der anderen Seite war aber auch die Anammoxkapazität der 2mm-Aufwuchsträger niedriger als die der suspendierten oder der granulierten Biomasse, zumindest biomassenspezifisch. Insgesamt

deutet dies dann darauf hin, dass die suspendierte und die granuliert Biomasse mehr aktive Biomasse enthielt als die Biofilme auf den Aufwuchsträgern. Der weitere Vergleich mit den 10mm-Aufwuchsträgern bekräftigt dies: Alle biomassenspezifischen Umsatzraten lagen in dem sehr viel dickeren Biofilm deutlich niedriger als in den anderen Biomassen, was auf einen erhöhten Anteil an inaktiver Biomasse deutete, vermutlich im anaeroben Inneren des Biofilms.

Nach dem Durchlaufen des Temperaturgradienten veränderte sich dieses Bild jedoch. Nur im Laborreaktor mit den 10mm-Aufwuchsträgern war die Umsatzleistung angestiegen und die anteilige Nitritproduktion war am geringsten von allen vier Laborreaktoren. Ein Blick auf die volumenbezogenen ex-situ Umsatzraten zeigt, dass die Anammoxkapazität in den 10mm-Aufwuchsträgern am wenigsten gelitten hat. Dies ließe sich mit einem größeren Anteil an anaeroben Volumen im dicken Biofilm erklären. In Kapitel 3.2.3 ist die durch den Temperaturgradient bedingte Änderung der ex-situ Umsatzraten ausführlich vorgestellt worden.

Verglichen mit PNA-Systemen bei höheren Temperaturen und Stickstoffkonzentrationen, wo mit suspendierter Biomasse Ammoniumumsätze von etwa  $0,5 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$  erreicht werden und mit Biofilmsystemen von etwa  $1 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (Lackner et al., 2014), waren die hier gemessenen Umsatzleistungen sehr niedrig. Für die Bedingungen waren sie allerdings realistisch, da in einer anderen Studie bei  $20^\circ\text{C}$  und mit vergleichbarem synthetischem Abwasser Stickstofffrachten von ca.  $35 \text{ g m}^{-3}\text{d}^{-1}$  bewältigt wurden. Bei vergleichbaren Temperaturen und höheren Stickstoffkonzentrationen wurden allerdings sehr viel höhere Umsatzraten veröffentlicht, z.B.  $900 \text{ g m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (Winkler et al., 2011) oder sogar  $>2 \text{ kg m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (Ma et al., 2013). Daher besteht evtl. noch Potential zur Leistungssteigerung, jedoch muss im Moment damit gerechnet werden, dass die Umsatzleistungen von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen auch im Sommer unter  $100 \text{ g m}^{-3}\text{d}^{-1}$  liegen werden und die Reaktoren entsprechend ausgelegt werden müssen.

### 3.4 Umsatzleistung bei 10°C (Winter)

In diesem Kapitel wird der Betrieb der Laborreaktoren bei 10°C gesondert betrachtet (vgl. Tabelle 3-1 für das Temperaturregime in den Laborreaktoren über den gesamten Versuchszeitraum).

#### 3.4.1 Umsatzleistung der Laborreaktoren

Nachdem die Temperatur in den Laborreaktoren auf 10°C herabgesenkt worden war, wurden sie über einen Zeitraum von 10 Wochen bei 10°C betrieben. In Tabelle 3-8 sind die Reaktordaten über diesen Zeitraum zusammengefasst. Auch hier sorgten die niedrigen Biomassekonzentrationen in den Laborreaktoren mit granulierter und suspendierter Biomasse für einen vergleichsweise hohen biomassespezifischen Ammoniumabbau, obwohl der volumenbezogene Ammoniumabbau eher niedrig war.

Tabelle 3-8 In-situ Reaktordaten bei 10°C (jeweils Mittelwerte über 10 Wochen)

		Suspendierte Biomasse	Granulierte Biomasse	2mm- Aufwuchsträger	10mm- Aufwuchsträger
<b>Ammoniumabbau</b>	$gN\ m^{-3}\ d^{-1}$	$6 \pm 3$	$6 \pm 2$	$16 \pm 4$	$13 \pm 2$
	$gN\ kg^{-1}TS\ d^{-1}$	$10 \pm 7$	$4 \pm 1$	$3 \pm 1$	$1 \pm 0,3$
<b>Nitritproduktion</b>	%	$61 \pm 7$	$46 \pm 14$	$28 \pm 9$	$4 \pm 2$
<b>Nitratproduktion</b>	%	$5 \pm 3$	$5 \pm 3$	$14 \pm 6$	$11 \pm 6$

Nur der Labor-MBBR mit den 10mm-Aufwuchsträgern zeigte eine gute Effizienz bei 10°C; abzüglich der Nitrit- und Nitratproduktion wurden noch ca. 85 % des Ammoniums vollständig entfernt. Die Umsatzraten lagen höher als bei den beiden Labor-SBR, jedoch etwas niedriger als bei dem Labor-MBBR mit den 2mm-Aufwuchsträgern. Dieser wiederum produzierte deutlich mehr Nitrit, was die Effizienz auf ca. 55 % reduzierte. Die beiden Labor-SBR setzten gleich wenig Ammonium um, was auf die geringen Biomassenkonzentrationen zu diesem Zeitpunkt zurückzuführen ist (vgl. Abbildung 3-2). Der biomassenspezifische Ammoniumabbau lag in der gleichen Größenordnung wie derjenige des Biofilms auf den 2mm-Aufwuchsträgern. Allerdings wurde in den Labor-SBR noch mehr Nitrit produziert, was die Stickstoffeliminationsleistung der granulierten Biomasse auf ca. 40 % und diejenige der suspendierten Biomasse auf ca. 30 % reduzierte.

#### 3.4.2 Spezifische Umsatzraten der einzelnen Prozesse

Der Vergleich der mittleren ex-situ 10°C-Anammoxraten während des Zeitraums mit in-situ 10°C (Tabelle 3-9) zeigt, dass der Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern volumenbezogen die höchste Anammoxkapazität aufwies, was teils auf die höhere Biomassenkonzentration (vgl. Tabelle 3-3)

zurückzuführen ist. Unter Einbezug der maximalen ex-situ 10°C-Anammoxraten (in Klammern angegeben in Tabelle 3-9) wird deutlich, dass der Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern weniger spezifische Anammoxkapazität eingebüßt hatte.

Bei dem Biofilm auf 2mm-Aufwuchsträgern waren höhere maximale ex-situ 10°C-Anammoxraten gemessen worden (während in-situ 20°C). Die granulierten Biomasse wies ähnliche maximale ex-situ 10°C-Anammoxraten auf wie die Biofilme auf den Aufwuchsträgern; bei in-situ 10°C konnte jedoch keine ex-situ 10°C-Anammoxaktivität mehr gemessen werden. Die suspendierte Biomasse wies die insgesamt höchsten biomassespezifischen Anammoxraten auf, zeigte aber bei in-situ 10°C nur nach Biomassenzugabe ex-situ 10°C-Anammoxaktivität. Damit konnte nur in den Biofilmen auf Aufwuchsträgern bei 10°C Reaktortemperatur noch nachhaltig Anammoxaktivität nachgewiesen werden.

**Tabelle 3-9 Ex-situ Umsatzraten, gemessen bei 10°C während der Phase mit in-situ 10°C in den Laborreaktoren (jeweils Mittelwerte über 10 Wochen) mit Angabe der maximalen Umsatzraten bei 10°C (über den gesamten Untersuchungszeitraum) in Klammern**

		Suspendierte Biomasse	Granulierte Biomasse	2mm-Aufwuchsträger	10mm-Aufwuchsträger
<b>Anammox</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	2 ± 1 (3)	0,8* (8)	1,3 ± 1 (21)	5 ± 1 (18)
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	5 ± 4 (8)	0,4* (3)	0,3 ± 0,2 (4)	0,5 ± 0,1 (2)
<b>Ammoniumoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	2 ± 0,2 (6)	2 ± 1 (7)	15 ± 6 (24)	10 ± 3 (29)
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	4 ± 1 (19)	1 ± 0,7 (3)	3 ± 1 (5)	1 ± 0,3 (3)
<b>Nitritoxidation</b>	$gN m^{-3} d^{-1}$	3 ± 0,4 (20)	8 ± 3 (35)	27 ± 8 (80)	19 ± 2 (35)
	$gN kg^{-1}TS d^{-1}$	7 ± 4 (40)	5 ± 1 (21)	5 ± 2 (16)	2 ± 0,2 (4)

\* nur bei einer Messung Anammoxaktivität bei 10°C nachweisbar

Die Ammoniumoxidationsraten bei 10°C Messtemperatur waren ebenfalls im Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern am höchsten. Biomassenspezifisch betrachtet verschob sich diese wieder wegen der unterschiedlichen Biomassenkonzentrationen in den Laborreaktoren. Und auch hier lagen die während in-situ 10°C gemessenen Raten deutlich unter den maximalen Raten – bei allen untersuchten Biomassen.

Bei den Nitritoxidationsraten bei 10°C Messtemperatur unterschieden sich wieder der Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern von den anderen Biomassen: Bei letzteren lagen die während 10°C Reaktortemperatur gemessenen Raten ebenfalls deutlich unter den maximalen Raten, wohingegen diese Diskrepanz beim Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern viel geringer ausfiel. Dies liegt daran, dass in den Biofilmen auf den Aufwuchsträgern die Nitritoxidationskapazität besser erhalten blieb als in der granulierten und der suspendierten Biomasse. Bei dem Biofilm auf den 2mm-Aufwuchsträgern ist die Diskrepanz zwischen maximaler Rate und Rate während 10°C Reaktortemperatur nur deshalb

so hoch, weil dort die Nitritoxidationskapazität während des Temperaturgradienten zunächst stark anstieg (vgl. Abbildung 3-11) und daher die maximale Rate während in-situ 15°C gemessen wurde. Bei den anderen Biomassen wurden die maximalen Raten im Zeitraum von 20°C Reaktortemperatur gemessen.

### 3.4.3 Fazit: Umsatzleistung bei 10°C (Winter)

Der jeweils maximale bei 10°C gemessene Ammoniumabbau betrug in beiden Labor-SBR  $9 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (suspendierte und granuliert Biomasse), in den Labor-MBBR  $27 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (2mm-Aufwuchsträger) bzw.  $16 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (10mm-Aufwuchsträger). Diese Werte sind niedrig, übersteigen allerdings die bisher einzigen Literaturwerte für PNA bei solch niedrigen Temperaturen, die bei 12°C gerade einmal  $3 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  betragen (Hu et al., 2013). In reinen Anammoxsystemen wurden mit granulierter Biomasse Anammoxraten von  $9 \text{ gNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (Dosta et al., 2008) bzw.  $0,13 \text{ kgNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (Lotti et al., 2014) und mit suspendierter Biomasse von ebenfalls  $0,01 \text{ kgNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (Hendrickx et al., 2014) gemessen. Damit waren die hier gemessenen Anammoxraten typisch für suspendierte und granuliert Biomasse, was die höheren Anammoxraten des Biofilms auf den 10mm-Aufwuchsträgern noch weiter hervorhebt. Mit einem Biofilmsystem (Scheibentauchkörper) wurden bei 14°C immerhin Anammoxraten von  $> 0,2 \text{ kgNH}_4^+ \text{-N m}^{-3} \text{d}^{-1}$  (de Clippeleir et al., 2013) gemessen.

Biomassenspezifisch fiel die Umsatzleistung der Laborreaktoren jedoch mit der „Dicke“ der Biomasse ab: Die suspendierte Biomasse zeigte die höchsten biomassenspezifische Umsatzleistung und die 10mm-Aufwuchsträger die niedrigste. Damit waren die hohen Umsatzleistungen der beiden MBBR nur durch die höhere Biomassenkonzentration bedingt.

Die bessere Effizienz des Laborreaktors mit den 10mm-Aufwuchsträgern, bedingt durch eine geringere Nitritproduktion als in den anderen Laborreaktoren, war jedoch klar durch die höhere Anammoxkapazität bedingt. Biomassenspezifisch lagen zwar die Anammoxraten der suspendierten Biomasse noch höher als die der 10mm-Aufwuchsträger, was jedoch in erster Linie an der Verrechnung mit der sehr geringen Biomassenkonzentrationen lag. Volumetrisch lagen die Anammoxraten der 10mm-Aufwuchsträger am höchsten, was auch die geringe Nitritproduktion im Laborreaktor widerspiegelte.

### 3.5 Temperaturabhängigkeit der beteiligten Prozesse

Mit dem vorangegangenen Kapitel 3.4 wurde die Betrachtung der Umsatzleistungen der Laborreaktoren bei verschiedenen Temperaturen (bzw. während unterschiedlicher Zeiträume) abgeschlossen. In diesem Kapitel wird nun noch auf die Temperaturabhängigkeit der einzelnen Prozesse während der ex-situ Aktivitätsmessungen eingegangen. Allerdings werden diese Temperaturabhängigkeiten während zwei verschiedenen Zeiträumen des Reaktorbetriebs verglichen, um Adaptionerscheinungen durch Reaktorbetrieb bei 20°C bzw. 10°C beurteilen zu können.

Seit den ersten Messungen (Knowles et al., 1965) und Berechnungen (Quinlan, 1980) der Temperaturabhängigkeit der Nitrifikation wird diese mit Hilfe der Arrhenius-Gleichung beschrieben. Daher wurde in der Literatur wiederholt der Temperaturkoeffizient  $\theta$  zur Evaluierung des Einfluss der Temperatur herangezogen (Antoniou et al., 1990). Generell werden dabei für den Temperaturkoeffizienten  $\theta$  Werte im Bereich von etwa von 1,02 bis 1,10 (Metcalf and Eddy, 2003b) erwartet. was oft als konstant angenommen wird, sich jedoch stark mit der Temperatur ändert (Metcalf and Eddy, 2003a). Errechnet wird der Temperaturkoeffizient  $\theta$  über Formel 1-2 aus dem Verhältnis zweier Umsatzraten bei verschiedenen Temperaturen. In Tabelle 3-10 ist dieser Temperaturkoeffizient  $\theta$  für die vier untersuchten Biomassen nach Adaption an 20°C bzw. 10°C aufgelistet.

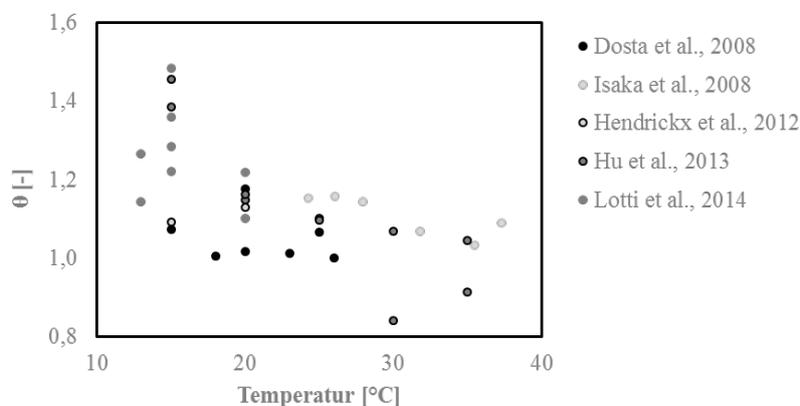
Die Werte lagen im erwarteten Bereich bzw. leicht darüber, was eine starke Temperaturabhängigkeit anzeigt. Generell lagen bei Anammox und der Ammoniumoxidation die Werte für  $\theta$  deutlich höher als bei der Nitritoxidation. Zudem waren bei diesen beiden Prozessen nach der Adaption an 10°C die Werte für  $\theta$  deutlich niedriger als nach der Adaption an 20°C. Bei der Nitritoxidation dagegen nahmen sie auch nach Adaption an 10°C ähnliche Werte an wie nach Adaption an 20°C.

**Tabelle 3-10 Temperaturkoeffizient  $\theta$  nach 10 Wochen Adaption an 20°C und 10°C.**

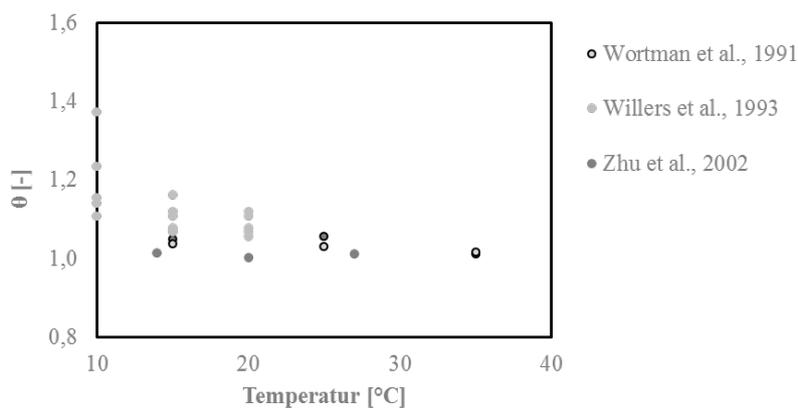
	Anammox		Ammoniumoxidation		Nitritoxidation	
	20°C	10°C	20°C	10°C	20°C	10°C
<b>Suspendierte Biomasse</b>	1,20 ± 0,09	1,09 ± 0,08	1,14 ± 0,07	1,07 ± 0,03	1,10 ± 0,03	1,08 ± 0,02
<b>Granulierte Biomasse</b>	1,17 ± 0,07	1,09 ± 0,02	1,15 ± 0,06	1,10 ± 0,04	1,07 ± 0,04	1,06 ± 0,02
<b>2mm-Aufwuchsträger</b>	1,17 ± 0,07	1,14 ± 0,09	1,15 ± 0,05	1,16 ± 0,05	1,07 ± 0,03	1,09 ± 0,05
<b>10mm-Aufwuchsträger</b>	1,11 ± 0,03	1,10 ± 0,03	1,07 ± 0,02	1,07 ± 0,03	1,07 ± 0,02	1,07 ± 0,03

Dass die Werte des Temperaturkoeffizienten  $\theta$  bei 10°C meist etwas niedriger liegen als bei 20°C deckt sich nicht mit der Literatur: Beim Vergleich der Literaturwerte zeigt sich, dass  $\theta$  vor allem bei Anammox (Abbildung 3-13) mit steigender Temperatur abnimmt. Bei den aeroben Prozessen ist dies weniger stark ausgeprägt, wie in Abbildung 3-14 zu sehen ist. Dort ist der Temperaturkoeffizient  $\theta$  für

die gesamte Nitrifikation dargestellt, da in der Literatur zur Temperaturadaption selten Ammonium- und Nitritoxidation getrennt betrachtet wurden.



**Abbildung 3-13** Literaturwerte für den Temperaturkoeffizient  $\theta$  bei Anammox in Abhängigkeit der Temperatur (Dosta et al., 2008; Hendrickx et al., 2012; Hu et al., 2013; Isaka et al., 2007; Lotti et al., 2014). Die Werte wurden aus den Unterschieden der angegebenen Anammoxraten zu denen bei der nächst niedrigeren Temperatur berechnet.



**Abbildung 3-14** Literaturwerte für den Temperaturkoeffizient  $\theta$  bei der Nitrifikation (kombinierte Ammonium- und Nitritoxidation) in Abhängigkeit der Temperatur (Hu et al., 2013; Willers et al., 1993; Wortman and Wheaton, 1991; Zhu and Chen, 2002). Die Werte wurden aus den Unterschieden der angegebenen Anammoxraten zu denen bei der nächst niedrigeren Temperatur berechnet.

Da sich die Temperaturabhängigkeit der biochemischen Prozesse auch mit der Temperatur ändert variiert auch der Temperaturkoeffizient  $\theta$  mit der Temperatur (Metcalf and Eddy, 2003a). Der feststellbare Unterschied innerhalb der derselben Biomasse von dem Zeitraum, als sie an 20°C adaptiert war zu dem als sie an 10°C adaptiert war (Tabelle 3-10) ist jedoch nicht über die Temperaturabhängigkeit von  $\theta$  zu erklären, da die Messungen jeweils bei den gleichen Temperaturen durchgeführt wurden. Die Ursache für diesen Unterschied muss eine metabolische Veränderung als Reaktion auf die Adaption an andere Temperaturen gewesen sein. Dass sich die

Temperaturabhängigkeit des Anammoxprozesses nach Adaption an niedrigere Temperaturen verändert, war bereits in verschiedenen Studien gezeigt worden (Dosta et al., 2008; Hu et al., 2013). Nach Adaptierung an niedrigere Temperaturen senkte sich z.B. das Temperaturoptimum von 35°C auf 25°C (Hu et al., 2013) und die Temperaturabhängigkeit verlief deutlich flacher (Dosta et al., 2008). Das Nitrifikanten in Habitaten mit unterschiedlicher Temperatur unterschiedliche Temperaturoptima haben, ist ebenfalls bekannt (Malhi and McGill, 1982).

Bei den 10mm-Aufwuchsträgern lagen die Werte für  $\theta$  niedriger als bei den drei anderen Biomassen (Tabelle 3-10). Dies könnte andeuten, dass im dicken Biofilm die Reaktion auf die Temperatur weniger ausgeprägt ist. Mehr als bei suspendierter Biomasse spielen im Biofilm neben der Temperaturabhängigkeit der autotrophen Prozesse auch noch andere temperaturabhängige Parameter wie Löslichkeit und Stofftransport von Substrat und Sauerstoff eine Rolle (Fdz-Polanco, 1994; Zhu and Chen, 2002). Im Direktvergleich von in Gelkugeln immobilisierten Reinkulturen (*Nitrosomonas europaea* und *Nitrobacter agilis*) mit deren suspendierter Form konnte auch gezeigt werden, dass Diffusionslimitierung und gesteigerte Substrataffinität die Temperaturabhängigkeit der Nitrifikation reduziert (Wijffels et al., 1995). Die Ergebnisse von Zhu und Chen (2002) suggerierten ebenfalls, dass Nitrifikation im Biofilm weniger stark von der Temperatur beeinflusst wird als in suspendierter Biomasse. Dosta et al. (2008) fanden beim Vergleich der Temperaturabhängigkeit keinen Unterschied zwischen granulierter Biomasse und Biofilm.

### **3.6 Fazit: Einfluss niedriger Temperaturen auf PNA in verschiedenen Systemen**

Beim Vergleich der vier untersuchten Reaktorsysteme lassen sich jeweils zwei zusammenfassen: Der SBR mit der „feinen“ suspendierten Biomasse und der SBR mit der „groben“ granulierten Biomasse sowie die beiden MBBR mit den „tiefen“ 10mm-Aufwuchsträgern bzw. den „flachen“ 2mm-Aufwuchsträgern. Alle Biomassen stammten aus Anlagen zur Behandlung von Faulschlammzentrat und waren vor dem Versuchszeitraum an die Laborbedingungen gleichermaßen adaptiert worden. Daher zeigten sie auch anfangs, bei 20°C, vergleichbare biomassenspezifische Umsatzraten.

Die Unterschiede der volumetrischen Umsatzraten waren teils durch die unterschiedlichen Biomassenkonzentrationen in den Laborreaktoren bedingt. Aber auch die geschütztere Phasengrenzfläche der Biofilme auf den Aufwuchsträgern und ihre Dicke bzw. die Durchmesser der granulierten und suspendierten Biomasse spielten eine Rolle. So waren generell die biomassenspezifischen Umsatzraten der suspendierten Biomasse höher als in der granulierten und bei den 2mm-Aufwuchsträgern höher als bei den 10mm-Aufwuchsträgern. Dies lag am geringeren Anteil an inaktiver Biomasse und an der höheren Erneuerungsrate. Im dicken Biofilm auf den 10mm-Aufwuchsträgern war ein größeres Volumen anaerob, was prinzipiell Anammox zugutekommt. Da die Umsatzleistung jedoch, zumindest zu Beginn ammoniumoxidationslimitiert war, trug dieses anaerobe Volumen kaum zur Umsatzleistung bei.

Die reduzierte Temperatur wirkte sich jedoch deutlich negativer auf Anammox aus als auf die Ammoniumoxidation. Daher war nach Durchlaufen des Temperaturgradienten das größere anaerobe Volumen und die damit größere Kapazität für Anammox im dicken Biofilm von Vorteil. Unterhalb von 13°C akkumulierte in allen vier untersuchten Systemen Nitrit. Das System mit den 10mm-Aufwuchsträgern stellte eine Ausnahme dar, weil ein Rückgang dieser Nitritakkumulation unterhalb von 12°C beobachtet werden konnte. Das größere anaerobe Volumen im dicken Biofilm bot die Voraussetzung für Anammox, als es in den anderen Biomassen nicht mehr oder nicht mehr ausreichend gegeben war. Die bei den niedrigen Temperaturen und damit gleichzeitig geringen Umsatzraten geringe Sauerstoffzehrung reichte in den anderen Biomassen nicht aus, um ausreichend anaerobes Milieu für Anammox zu schaffen. Dass dickere Biofilme oder größere Aggregate mehr Anammoxkapazität haben, wurde schon mehrfach nachgewiesen (Gilbert et al., 2013; Nielsen et al., 2005; Vlaeminck et al., 2010). Großtechnisch wird dies auch z.B. bei DEMON<sup>®</sup>, einem einstufigen SBR Verfahren, ausgenutzt, indem eine aktive Selektion hin zu größeren Aggregaten mit Hilfe eines Hydrozyklons umgesetzt wird (Wett and Nyhuis, 2010). Eine solch selektive Anammoxanreicherung wäre für PNA-Systeme bei niedrigen Temperaturen in jedem Fall vorteilhaft – evtl. könnten so ähnlich gute Ergebnisse wie mit den 10mm-Aufwuchsträgern erzielt werden.

In Bezug auf den Einfluss der langsam reduzierten Temperatur war die Beobachtung in allen vier untersuchten Systemen ähnlich: Die Ammoniumoxidation zeigte temperaturabhängige Umsatzraten,

wurde jedoch nicht weiter beeinträchtigt. Anammox und Nitritoxidation dagegen zeigten drastische Umsatzeinbrüche, nachdem die Temperatur in den Laborreaktoren dauerhaft unter 12°C fiel. Diese waren auch in den ex-situ Aktivitätsmessungen zu beobachten und ließen sich daher nicht über die Temperaturabhängigkeit der Prozesse erklären. Diese Umsatzeinbrüche von Anammox und Nitritoxidation verursachten die bereits erwähnte Akkumulation von Nitrit im Ablauf der Laborreaktoren, die bei großtechnischer Anwendung im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen inakzeptabel wäre. Allerdings wäre, basierend auf den vorliegenden Ergebnissen, ohnehin eine Nachbehandlung zur Nitratreduktion erforderlich gewesen.

Vor allem die hohe Nitritproduktion, aber auch die zeitgleich sehr niedrigen Umsatzraten, unterhalb von 12°C sind in der kommunalen Abwasserbehandlung nicht akzeptabel. Allerdings sinkt in der lokalen Kläranlagen die Temperatur nur selten unter 12°C (vgl. Abbildung 1-2), was generell in vielen Kläranlagen dieses Klimabereichs der Fall ist (Gujer, 2007). Daher kann mit den vorliegenden Ergebnissen hier dennoch eine Eignung von PNA zur Hauptstrombehandlung attestiert werden, zumindest für die Systeme mit den Aufwuchsträgern und für die granuliert Biomasse.

Bei der suspendierten Biomasse begann die Nitritakkumulation bereits bei höheren Temperaturen und war auch noch stärker ausgeprägt als in den anderen Systemen. Diese stärker ausgeprägte Temperaturempfindlichkeit spricht gegen suspendierte Biomasse bei der Anwendung von PNA in der Hauptstrombehandlung. Allerdings waren die biomassenspezifischen Umsatzraten höher als bei den Biofilmsystemen, bedingt durch eine höhere Erneuerungsrate. Zudem wurden die vorliegenden Ergebnisse mit der suspendierten Biomasse unter nicht repräsentativen Bedingungen erzielt, da die Biomasse, bedingt durch ein ungeeignetes Magnetrührwerk, ständig zermahlen und ausgetragen wurde. Daher ist die suspendierte Biomasse, mindestens für die Seite der Forschung zum Thema PNA in der Hauptstrombehandlung weiterhin interessant. Dies gilt umso mehr, weil Systeme mit suspendierter Biomasse mehr Möglichkeiten für prozessregulierende Eingriffe bieten. Zum einen sind die Organismen in suspendierten Biomasse den – steuerbaren – Milieubedingungen in der Flüssigphase sehr viel direkter ausgesetzt ist als im Biofilm mit ausgeprägten Substratgradienten. Zum anderen werden bei dem unbestimmten Biomassenrückhalt im Biofilm Organismen unabhängig ihrer Wachstums-geschwindigkeiten im System gehalten (Bryers, 2000). Das macht die Unterdrückung unerwünschter Organismen schwierig, was hier bei den NOB sehr deutlich wurde. Auch wenn sie ursprünglich niedriger war, erholten sich die NOB nach Durchlaufen des Temperaturgradienten in den Biofilmsystemen, während sie in den anderen Systemen dauerhaft geschädigt blieb.

## 4 Prozesssteuerung bei niedrigen Temperaturen

Im vorigen Kapitel wurde gezeigt, dass PNA bei den Gegebenheiten kommunaler Abwasserbehandlung prinzipiell möglich ist. In diesem Kapitel werden nun die Einflussmöglichkeiten zur gezielten Prozesssteuerung bei eben diesen Bedingungen untersucht. Wie im vorigen Kapitel deutlich wurde, ist das größte Problem die Akkumulation von Nitrit im niedrigen Temperaturbereich, die neben nachlassender Anammoxaktivität in erster Linie durch nachlassende Nitritoxidation verursacht wird. Daher, und weil Nitritoxidation in PNA-Systemen generell stört, wird bei den untersuchten Einflussmöglichkeiten besonderes Augenmerk auf die Unterdrückung von NOB gelegt.

Wegen der Gegebenheiten auf kommunalen Kläranlagen kommen von den gängigen Ansätzen zur Unterdrückung von Nitritoxidierern (siehe Kapitel 1.2.2, S. 13) nur Variationen der Belüftung und ggf. des pH-Wertes in Frage. Deren Auswirkungen wurden bei verschiedenen Temperaturen untersucht, um ihre Eignung zur Prozesssteuerung von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen zu evaluieren.

### 4.1 Belüftungsstrategie

Gemeinhin gilt, dass sehr niedrige Sauerstoffkonzentrationen AOB-Wachstum ermöglichen (Kester et al. 1997; Goreau et al. 1980; Park & Noguera 2004), gleichzeitig aber NOB-Wachstum unterdrücken, weil AOB als sauerstoffaffiner gelten als NOB (Blackburne et al., 2008a; Knowles et al., 1965; Wett and Rauch, 2003), was allerdings auf Untersuchungen mit dem r-Strategen *Nitrobacter* beruht. In den letzten Jahren hat sich jedoch herausgestellt, dass gerade bei den Bedingungen der kommunalen Abwasserbehandlung vorherrschenden NOB (*Nitrospira*) eher das Gegenteil der Fall ist (Daebel et al., 2007; Manser et al., 2005; Regmi et al., 2014), da diese als K-Strategen eine hohe Substrataffinität für Sauerstoff haben.

Diese Erkenntnis jedoch schränkt die Eignung der Sauerstoffkonzentration, also der Belüftung, zur gezielten Beeinflussung der einzelnen mikrobiellen Aktivitäten ein. Zwar bedeutet dies, dass höhere Sauerstoffkonzentrationen vermutlich hilfreich sind, um AOB-Wachstum gezielt zu fördern, jedoch bietet es keine Grundlage für eine Unterdrückung von NOB-Wachstum. Einzig über die Dauer der Belüftung könnte evtl. das Wachstum von NOB negativ beeinflusst werden, indem die Belüftung gestoppt wird bevor es zur Nitritoxidation kommt. Dieses Phänomen wurde bereits früh in natürlichen und auch technischen Systemen (Alleman, 1984; Turk, 1987) in Form von Nitritpeaks beobachtet. Tatsächlich wurden auch bei intermittierender Belüftung schon mehrfach negative Effekte auf NOB beobachtet (Katsogiannis et al., 2003; Rosenwinkel and Cornelius, 2005; Villaverde et al., 2000; Yoo et al., 1999).

Die in diesem Kapitel vorgestellte Studie liefert neue Kenntnisse, die der Beschreibung und dem Verständnis der nach Belüftungspausen – im Vergleich zur Ammoniumoxidation – erst verzögert auftretenden Nitritoxidation, dienen.

### 4.1.1 Detailstudie zur lag-Phase von NOB

*Die Ergebnisse der in diesem Kapitel beschriebenen Versuchsreihe wurden unter dem Titel „Response of Different Nitrospira Species to Anoxic Periods Depends on Operational DO“ in Environmental Science & Technology veröffentlicht (Gilbert et al., 2014a)*

In dieser Versuchsreihe wurde mithilfe von Batchversuchen (vgl. Kapitel 2.2.1, S. 24) untersucht, ab wann eine verzögerte Nitratproduktion nach dem Wechsel vom Anaeroben ins Aerobe, und unter welchen Bedingungen hervorgerufen wird.

Eine solche Verzögerung wurde in technischen Systemen zur Nitrifikation bereits vor 30 Jahren beobachtet (Alleman, 1984) und auch zum „Abbruch der Nitrifikation bei dem Zwischenprodukt Nitrit“ ausgenutzt (Turk and Mavinic, 1986), indem anaerobe und aerobe Reaktoren im Wechsel durchlaufen wurden. In den letzten Jahren wurde dies auch erfolgreich in einstufigen Laborreaktoren über das Konzept der intermittierenden Belüftung umgesetzt (siehe Tabelle A- 11), wobei der Erfolg nur an der absoluten Nitratproduktion in den Laborreaktoren gemessen wurde. Die Dauer der aeroben Phasen in diesen Studien variiert stark von wenigen Minuten bis zu über einer Stunde. Bislang gab es nur eine einzige Detailstudie zum tatsächlichen Verlauf der Stickstoffkonzentrationen nach dem Wechsel von aeroben zu anaeroben Bedingungen (Kornaros et al., 2010). Dabei wurde auch tatsächlich eine Nitritakkumulation beobachtet, die nach anaeroben Phasen von 1,5-12 h auftrat und etwa 5 h anhielt. Diese anaeroben Phasen übersteigen deutlich die meisten der in Tabelle A- 11 (Anhang) aufgeführten Studien, was die Frage offenlässt, wie lange die anaerobe Phase mindestens sein muss, um eine solche Verzögerung hervorzurufen. Auch ist unklar, ob unterschiedliche NOB unterschiedlich schnell auf diesen Milieuwechsel von anaerob auf aerob reagieren und ob gezielt NOB mit langsamer Reaktion kultiviert werden können.

Um diese offenen Fragen zu klären, wurde für diese Versuchsreihe Biomasse aus vier unterschiedlichen großtechnischen PNA-Reaktoren verglichen, die mit unterschiedlichen Belüftungsstrategien betrieben wurden (vgl. Tabelle 4-1).

**Tabelle 4-1 Ursprung der verwendeten Biomassen und die jeweilige Belüftungsstrategie im Herkunftsreaktor, sowie die Charakterisierung der Feststoffe der Biomassen.**

		Belüftungsstrategie			Feststoffe			
		Aerobe Phase	Anaerobe Phase	Sauerstoff	TS	X10	X50	X90
		<i>min</i>	<i>min</i>	<i>mg l<sup>-1</sup></i>	<i>g l<sup>-1</sup></i>	<i>µm</i>	<i>µm</i>	<i>µm</i>
#1	Zürich	kontinuierlich belüftet		< 0.1	2	79	221	380
#2	Heidelberg	10	15	0,3 – 0,4	1	32	82	255
#3	Ingolstadt	6	9	0,9 – 1,0	2	83	201	319
#4	Ingolstadt	6	9	0,9 – 1,0	2	286	563	809

Die Versuche wurden bei 30°C, 20°C, 10°C sowie bei zwei verschiedenen Luftvolumenströmen je Reaktorvolumen und Zeit, 4,5 bzw. 1,7 l l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> durchgeführt, um den Einfluss von Temperatur und Sauerstoffkonzentration zu untersuchen. Damit stellten sich in den einzelnen Versuchen die in Tabelle 4-2 aufgelisteten Bedingungen ein. Zusätzlich wurden einzelne Versuche mit einem höheren Luftvolumenstrom von 12,5 l l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup> wiederholt.

**Tabelle 4-2 Feststoff- und Sauerstoffkonzentrationen in den Batchversuchen**

Temperatur:		30°C		20°C		10°C		
Luftvolumenstrom:		4,5 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	1,7 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	4,5 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	1,7 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	4,5 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	1,7 l h <sup>-1</sup> l <sup>-1</sup>	
#	TS g l <sup>-1</sup>	oTS g l <sup>-1</sup>	DO mg l <sup>-1</sup>		DO mg l <sup>-1</sup>		DO mg l <sup>-1</sup>	
1	0,3	0,2	0,7 ± 0,01	0,2 ± 0,02	2,1 ± 0,02	0,5 ± 0,01	7,2 ± 0,04	4,7 ± 0,03
2	2,1	1,4	0,3 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,5 ± 0,01	0,2 ± 0,01	7,0 ± 0,03	4,7 ± 0,14
3	0,3	0,2	n.v.	0,2 ± 0,07	n.v.	0,9 ± 0,01	8,2 ± 0,02	6,7 ± 0,04
4	0,6	0,4	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,3 ± 0,01	0,1 ± 0,01	5,8 ± 0,03	4,5 ± 0,02

### **Verzögerung in Ammoniumabbau und Nitratproduktion**

Zur Eingrenzung der Dauer, ab der es nach einer anaeroben Phase zu einer Verzögerung in der Nitratproduktion kommt, wurden immer parallel vier Versuche mit unterschiedliche langen anaeroben Phasen (5, 20, 40 und 60 min) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den folgenden Abbildungen zusammengefasst.

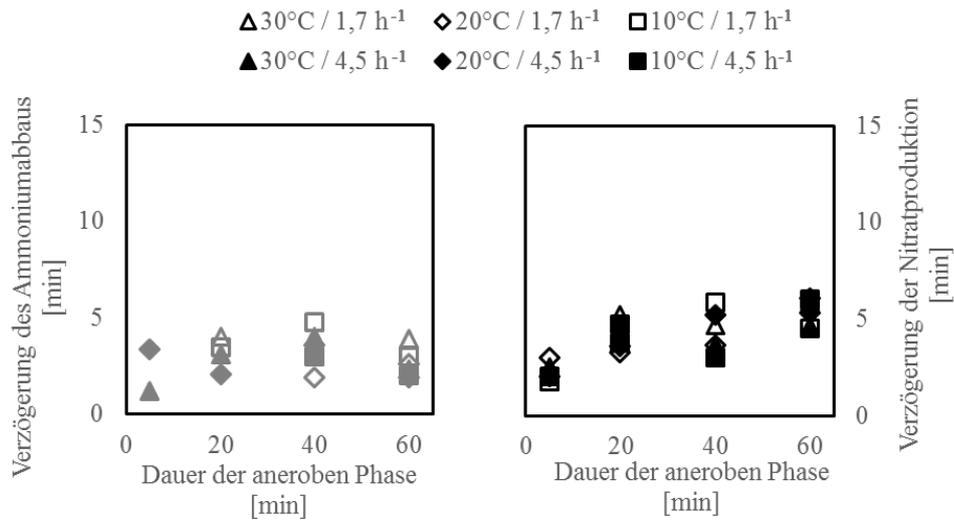


Abbildung 4-1 Dauer der Verzögerungen des Ammoniumabbaus (links) und der Nitratproduktion (links) in Abhängigkeit der Dauer der anaeroben Phase in Biomasse #1 (Zürich)

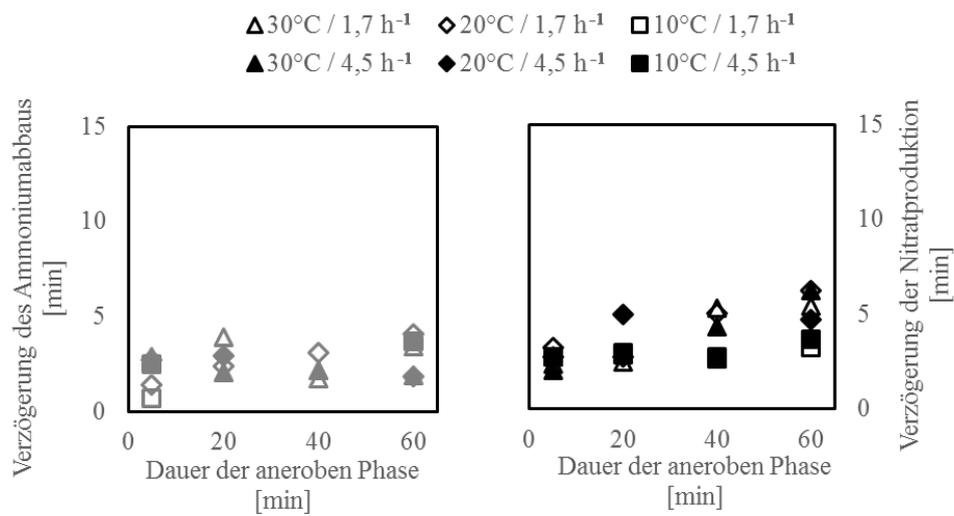


Abbildung 4-2 Dauer der Verzögerungen des Ammoniumabbaus (links) und der Nitratproduktion (links) in Abhängigkeit der Dauer der anaeroben Phase in Biomasse #2 (Heidelberg)

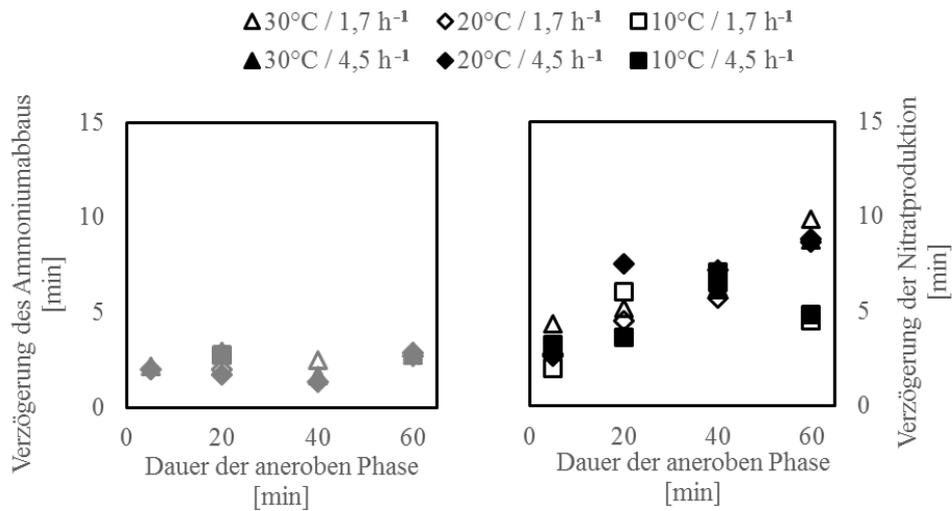


Abbildung 4-3 Dauer der Verzögerungen des Ammoniumabbaus (links) und der Nitratproduktion (links) in Abhängigkeit der Dauer der anaeroben Phase in Biomasse #3 (Ingolstadt)

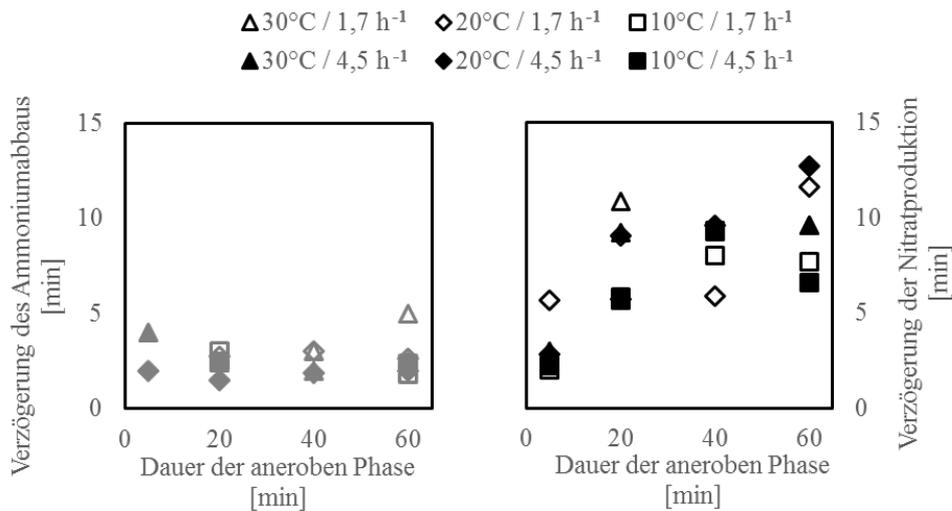
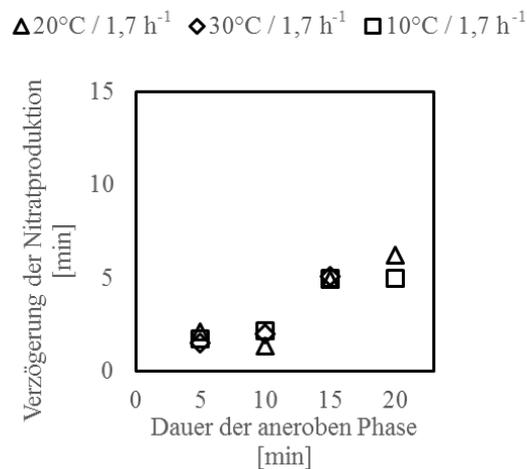


Abbildung 4-4 Dauer der Verzögerungen des Ammoniumabbaus (links) und der Nitratproduktion (links) in Abhängigkeit der Dauer der anaeroben Phase in Biomasse #4 (Ingolstadt)

Die Verzögerung des Ammoniumabbaus (jeweils links abgebildet) betrug bei allen Versuchen weniger als 5 min und zeigte keinerlei Abhängigkeit von der Dauer der anaeroben Phasen, der Temperatur oder des Luftvolumenstroms. Die Verzögerung der Nitratproduktion (jeweils rechts abgebildet) war meist länger als diejenige des Ammoniumabbaus im selben Versuch. Ausnahmen bildeten dabei die Versuche mit nur 5 min anaerober Phase. Die Länge der Verzögerungen zeigte gewisse Schwankungen, die sich jedoch nicht mit Temperatur oder Luftvolumenstrom korrelieren lassen. Auch

die unterschiedliche Dauer der anaeroben Phasen hatte bis auf den Sprung zwischen 5 min und 20 min keinen weiteren Einfluss auf die Länge der Verzögerung der Nitratproduktion.

Um die Nitratproduktion unabhängig vom Ammoniumabbau, also der Nitritproduktion, zu verfolgen, wurde eine zusätzliche Versuchsreihe mit Nitrit anstelle von Ammonium als Stickstoffquelle durchgeführt. In dieser Versuchsreihe wurde die Dauer der anaeroben Phasen mit 5, 10, 15 und 20 min anders gewählt, da die vorherigen Versuchsreihen gezeigt hatten, dass bereits ab 20 min eine deutlich längere Verzögerung der Nitratproduktion eintritt. Diese zusätzliche Versuchsreihe (siehe Abbildung 4-5) zeigte, dass diese Verzögerung bereits nach 15 min anaerober Phase auftritt, jedoch noch nicht nach 10 min. Die Dauer der Verzögerungen lag im gleichen Bereich wie bei der Versuchsreihe mit Ammonium als Stickstoffquelle mit der gleichen Biomasse. Demnach trat diese Verzögerung unabhängig von der Nitritproduktion auf.



**Abbildung 4-5 Dauer der Verzögerungen der Nitratproduktion in Abhängigkeit der Dauer der anaeroben Phase in zusätzlicher Versuchsreihe mit Nitrit als Stickstoffquelle mit Biomasse #2 (Heidelberg)**

Ein höherer Luftvolumenstrom, bzw. die daraus resultierende höhere Sauerstoffkonzentration, wirkte sich nicht auf die ohnehin kurzen Verzögerungen des Ammoniumabbaus und der Nitratproduktion nach nur 5 min anaerober Phase (vgl. Abbildung 4-6) aus. Die Verzögerungen der Nitratproduktion nach längeren anaeroben Phasen wurden durch den viel höheren Luftvolumenstrom von  $12,8 \text{ l h}^{-1} \text{ l}^{-1}$  deutlich reduziert.

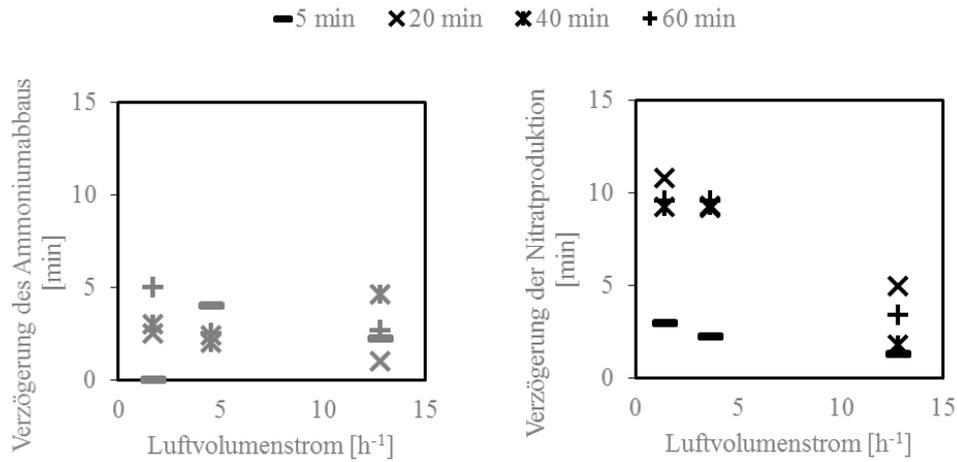


Abbildung 4-6 Verzögerung des Ammoniumabbaus (links) und der Nitratproduktion (rechts) als Funktion des eingetragenen Luftvolumenstroms und Dauer der anaeroben Phase in Biomasse #4 (Ingolstadt B) bei 30°C

### Umsatzraten

Sowohl der Ammoniumabbau als auch die Nitratproduktion wiesen vor und nach den Belüftungspausen die gleichen Raten auf und stiegen jeweils mit dem Luftvolumenstrom an (Abbildung 4-7). Die Nitratproduktionsraten waren nur geringfügig niedriger als die Ammoniumabbauraten, d.h. die Anammoxaktivität war während den Versuchen vernachlässigbar gering. Die Nitritkonzentrationen lagen immer unterhalb von 1 mg l<sup>-1</sup> und zeigten keine Veränderungen innerhalb der ersten 10-20 min nach dem Wechsel vom Anaeroben ins Aerobe.

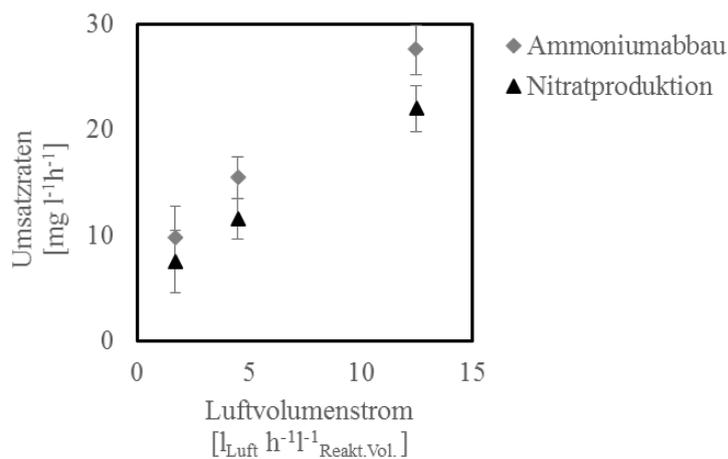


Abbildung 4-7 Ammoniumabbau- und Nitratproduktionsraten bei verschiedenen Luftvolumenströmen in Biomasse #4 (Ingolstadt B) bei 30°C. Gegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung aus beiden aeroben Phasen aller Versuche bei den jeweiligen Luftvolumenströmen.

### ***Fazit Belüftungspausen***

Mit diesen Versuchen konnte klar gezeigt werden, dass nach anaeroben Phasen von über 15 min die Nitratproduktion erst deutlich verzögert nach dem Ammoniumabbau eintritt. Nach kürzeren anaeroben Phasen war diese Verzögerung kürzer und entsprach nur noch derjenigen des Ammoniumabbaus.

Diese kurzen Verzögerungen betragen nur wenige Minuten und sind vermutlich in erster Linie auf den langsamen Sauerstoffeintrag zurückzuführen. Nach dem Start der Belüftung dauerte es 1,5-2 min bis die Sauerstoffkonzentration in den Versuchen die Literaturwerte der Sauerstoffaffinitätskonstanten von bis zu  $0,5 \text{ mg l}^{-1}$  (Blackburne et al., 2008a, 2007a; Daebel et al., 2007; Manser et al., 2005) überschritten. Zudem muss für diese kurze Zeitspanne eine gewisse Messunsicherheit berücksichtigt werden. Da nur maximal eine Probe pro Minute gezogen werden konnte, wurde diese Zeitspanne von nur 2-3 Proben abgedeckt was bei den Umsatzraten von  $7-30 \text{ mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}$  einer Konzentrationsänderung von weniger als  $1 \text{ mg l}^{-1}$  entsprach. Auch die Ansprechzeit der ionenselektiven Elektroden ( $t_{90} < 2 \text{ min}$ ) lag in diesem Bereich.

Die längeren Verzögerungen in der Nitratproduktion betragen bis zu 13 min. Diese Zeitspanne kann nicht mehr durch Messunsicherheiten oder den langsamen Sauerstoffeintrag aus der Gas- in die Flüssigphase erklärt werden und muss daher biologisch bedingt sein. Da diese Verzögerungen nur in der Nitratproduktion, nicht aber dem Ammoniumabbau eintraten, bestätigt die oft wiederholte Annahme dass NOB nach anaeroben Phasen eine längere lag-Phase für ihren Metabolismus benötigen als AOB (Al-Omari et al., 2013; Jardin and Hennerkes, 2011; Katsogiannis et al., 2003). Diese Annahme war bislang nur nach sehr langen anaeroben Phasen von mehreren Stunden bestätigt worden (Kornaros et al., 2010). Solch lange anaerobe Phasen wären im Reaktorbetrieb nicht wirtschaftlich. Zudem wurde in Labor- (Li et al., 2011; Villaverde et al., 2000; Zubrowska-Sudol et al., 2011) und in großtechnischen Reaktoren (Jardin and Hennerkes, 2011) mit deutlich kürzeren anaeroben Phasen eine reduzierte Nitratproduktion beobachtet. Die hier vorgestellten Ergebnisse bestätigen erstmals, dass dies auf die verzögerte Nitratproduktion nach anaeroben Phasen zurückzuführen ist. Die Ergebnisse zeigen, dass diese bereits ab 15 min eintritt.

Da noch kürzere anaerobe Phasen diesen Effekt nicht hatten, ist offensichtlich eine gewisse Mindestdauer notwendig, bevor NOB ihren Metabolismus zurückfahren und diese lag-Phase benötigen. Die Länge dieser lag-Phase wiederum scheint mehr von der NOB-Spezies als von der Dauer der anaeroben Phase abzuhängen: Während sich die Länge dieser lag-Phase bei den einzelnen Biomassen unterschied, führten länger andauernde anaerobe Phasen nicht zu einer Verlängerung der lag-Phase. Dies widerspricht den Ergebnissen der Studie, in der diese lag-Phase erstmals mit sehr viel längeren anaeroben Phasen nachgewiesen werden konnte (Kornaros et al., 2010). Dort wurde ein Zusammenhang zwischen der Länge der lag-Phase und der Dauer der anaeroben Phase beobachtet. Allerdings ist der Zusammenhang nicht näher beschrieben worden und die stark abweichenden

## Ergebnisse und Diskussion

Zeitspannen der anaeroben Phasen lassen keinen direkten Vergleich der dortigen Beobachtungen mit den hier beschriebenen zu. Möglicherweise haben die mehrere Stunden langen anaeroben Phasen nicht nur zu einer Reduktion des Metabolismus, sondern auch zum Absterben der NOB geführt.

Und die hier beobachtete Mindestdauer von 15 min wird auch durch Beobachtungen auf großtechnischen Anlagen bestätigt, wo eine Verlängerung der anaeroben Phase von 12 min auf 18 min innerhalb von 6 Monaten zu einer deutlichen Reduktion der Nitratproduktion führte.

Im Vergleich zu den Ergebnissen von Zubrowska-Sudol et al. (2011) wirkten sich die anaeroben Phasen nicht negativ auf die Nitratproduktionsraten aus. Da in dieser anderen Studie mehrere anaerobe und aerobe Phasen hintereinander betrachtet wurden und Proben nur jeweils am Anfang und Ende der jeweiligen Phasen gezogen und analysiert wurden, waren die so berechneten Umsatzraten verfälscht durch die lag-Phase der NOB. Da in dieser Studie die geringeren Umsatzraten erst ab anaeroben Phasen von >15 min auftraten, decken sich diese Ergebnisse mit den hier beschriebenen.

Die Länge der lag-Phase selbst hing von der Sauerstoffverfügbarkeit ab, was sich allerdings nur bei sehr hohen Luftvolumenströmen bemerkbar machte. Dieser Effekt könnte nur teils durch dem schnelleren Sauerstoffeintrag begründet sein; der Unterschied betrug über 5 min, also weit länger als der Sauerstoffeintrag bei geringeren Luftvolumenströmen andauerte. Untersuchungen der lag-Phase anderer Bakterien, *Salmonella enterica*, ergaben, dass die lag-Phase kürzer ist, wenn die Milieubedingungen besser sind (Rolfe et al., 2012). Da NOB sehr sauerstoffaffin sind, könnten die kürzeren lag-Phasen bei der höheren Sauerstoffverfügbarkeit auf eben diesen Effekt zurückzuführen sein.

Die Länge der lag-Phasen der einzelnen Biomassen unterschied sich. Auffällig war dabei, dass die beiden Biomassen aus Ingolstadt (#3 und #4) deutlich längere lag-Phasen zeigten als die beiden anderen Biomassen; Biomasse #3 und #4 waren an höhere Sauerstoffkonzentrationen, also bessere Milieubedingungen adaptiert und benötigten längere lag-Phasen. Biomasse #1 und #2 waren dagegen an niedrigere Sauerstoffkonzentrationen adaptiert und konnten ihren Metabolismus nach anaeroben Phasen schneller wieder starten. Dies lässt darauf schließen, dass sich über hohe Sauerstoffkonzentrationen NOB selektieren lassen, die empfindlicher auf anaerobe Phasen reagieren. Mittels Denaturierungsgradientengelelektrophorese (DGGE) konnte bestätigt werden, dass die NOB in den Biomassen #1 und #2 eng verwandt (97,9% Homologie) waren, während die Verwandtschaft zu den Biomassen #3 und #4 weiter entfernt war (95% bzw. 90% Homologie). Bei den NOB handelte es sich in allen vier Biomassen um *Nitrospira*, allerdings verschiedene Spezies.

Auch bestanden die Biomassen #1 und #2 aus insgesamt größeren Aggregaten als die Biomassen #3 und #4. Ein Zusammenhang zwischen Aggregatsgröße und Aufkommen und Aktivität von NOB wurde bereits wiederholt nachgewiesen (Gilbert et al., 2013; Vlaeminck et al., 2010). Es besteht auch durchaus die Möglichkeit, dass NOB in kleineren Aggregaten, durch die bessere

Sauerstoffverfügbarkeit dann ebenfalls längere lag-Phasen benötigen. Solche Aussagen könne mit den vorliegenden Ergebnissen allerdings nicht gemacht werden.

Die aus dieser Versuchsreihe gewonnene Erkenntnis, dass unabhängig von der Biomasse, der Temperatur und der Sauerstoffverfügbarkeit NOB nach anaeroben Phasen von mehr als 15 min eine lag-Phase benötigen, stellt die Grundlage für eine Belüftungsstrategie dar. Demnach sollten mit einer intermittierenden Belüftung von mindestens 15 min Belüftungspause und, je nach Biomasse, maximal 5 bis 10 min Belüftung NOB erfolgreich unterdrückt werden können.

Gerade in PNA-Systemen zur Behandlung von kommunalem Abwasser könnten mit einer solchen Strategie deutlich bessere Ergebnisse erzielt werden. Wie in Kapitel 3.4 beschrieben, kommt es bei niedrigen Temperaturen zu einer Akkumulation von Nitrit, die durch die zurückgehende NOB-Aktivität mitverursacht wird. Durch eine Unterdrückung der NOB von vornherein würde diese Nitritakkumulation geringer ausfallen. Da die lag-Phase temperaturunabhängig auftrat, sollte diese Belüftungsstrategie auch in der kommunalen Abwasserbehandlung erfolgreich umsetzbar sein. Die Belüftungspausen, bzw. die anaeroben Phasen würden auch der Anammoxaktivität zugutekommen, die bei PNA für die kommunale Abwasserbehandlung der limitierende Faktor ist (vgl. Kapitel 3.6, S. 60).

Eine weitere Erkenntnis dieser Versuchsreihe ist, dass sich über höhere Sauerstoffkonzentrationen NOB selektieren lassen, die längere lag-Phasen benötigen. Die höheren Sauerstoffkonzentrationen sollten wiederum die Umsatzraten steigern, da auch AOB davon profitieren, deren Metabolismus deutlich weniger unter den Belüftungspausen leidet.

Offen bleibt die Frage, ob sich die NOB an eine intermittierende Belüftung adaptieren. Der Vergleich der untersuchten Biomassen impliziert, dass dies eher nicht der Fall ist; schließlich zeigten Biomasse #1 und #2 gleich lange lag-Phasen, obwohl Biomasse #1 an kontinuierliche Belüftung und Biomasse #2 an anaerobe Phasen von 15 min adaptiert war.

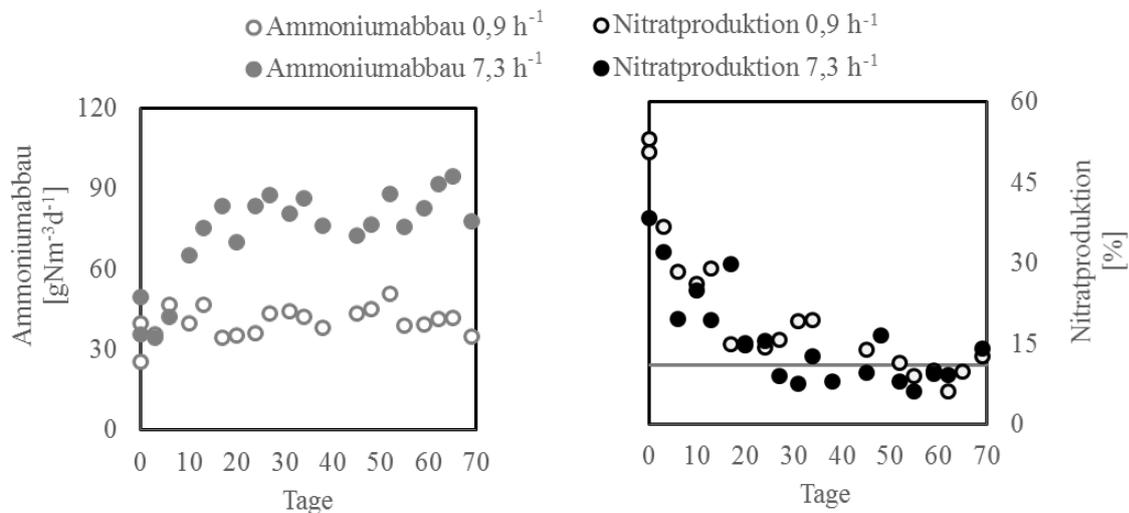
### **4.1.2 Laborreaktorstudie zur intermittierenden Belüftung**

Nachdem die im vorigen Kapitel beschriebene Versuchsreihe die Basis für eine erfolgsversprechende Belüftungsstrategie geliefert hat, wird in diesem Kapitel die Evaluierung dieser Belüftungsstrategie beschrieben. Gegenstand der Evaluierungs-Versuchsreihe waren zwei Labor-SBR (vgl. Kapitel 2.1.1), die intermittierend belüftet wurden. Betrieben wurden diese bei 20°C und bei 10°C, da das Augenmerk hier der kommunalen Abwasserbehandlung galt. Analog den SBR in Kapitel 3 wurden diese bei den Bedingungen kommunaler Abwasserbehandlung betrieben, d.h. der Zulauf enthielt  $50 \text{ mgNH}_4^+ \text{-N l}^{-1}$  und die hydraulische Verweilzeit wurde so angepasst, dass im Ablauf immer  $10 \text{ mgNH}_4^+ \text{-N l}^{-1}$  unterschritten wurden. Beide SBR durchliefen während der Reaktionsphase im Wechsel 5 min

Belüftung und 15 min Belüftungspause, unterschieden sich jedoch hinsichtlich der Sauerstoffverfügbarkeit.

### 20°C

Bei 20°C wurden die SBR mit einem spezifischen Luftvolumenstrom von 0,9 bzw. 7,3  $\text{l}_{\text{Luft}} \text{l}^{-1}_{\text{Reakt.Vol.}} \text{h}^{-1}$  belüftet, was in mittleren Sauerstoffkonzentrationen von 0,5 bzw. 1,0  $\text{mg l}^{-1}$  während der Belüftung resultierte. Beide waren zu je einem Teil mit Belebtschlamm aus dem Hauptstrom einer kommunalen Kläranlage (Weinheim) und einem Teil mit PNA-Biomasse (Heidelberg) inokuliert, was zu Beginn des Laborreaktorbetriebes einer Biomassenkonzentration von  $0,5 \pm 0,04 \text{ g l}^{-1} \text{ TS}$  (56 % oTS) entsprach.



**Abbildung 4-8 Ammoniumabbau (links) und die daran anteilige Nitratproduktion (rechts) über die Zeit der Laborreaktorstudie zur Auswirkung der intermittierenden Belüftung (5 min Luft / 15 min Pause) in zwei SBRs mit verschieden starkem Lufteintrag ( $0,9$  und  $7,3 \text{ h}^{-1}$ ) bei 20°C.**

Die intermittierende Belüftung führte in beiden SBR zu einer Halbierung der anteiligen Nitratproduktion innerhalb von 30 d (Abbildung 4-8 rechts), die sich dann im Bereich der bei PNA stöchiometrisch zu erwartenden 11% (mit grauer Linie gekennzeichnet) stabilisierte. Der höhere Luftvolumenstrom führte in etwa im gleichen Zeitraum zu einer Verdoppelung des Ammoniumabbaus (Abbildung 4-8 links), während dieser beim niedrigeren Luftvolumenstrom auf gleichem Niveau blieb. Gleichzeitig stieg die Biomassenkonzentration im SBR mit dem niedrigeren Luftvolumenstrom an auf  $0,8 \pm 0,04 \text{ g l}^{-1} \text{ TS}$  (63 % oTS), während sie im SBR mit dem höheren Luftvolumenstrom unverändert blieb.

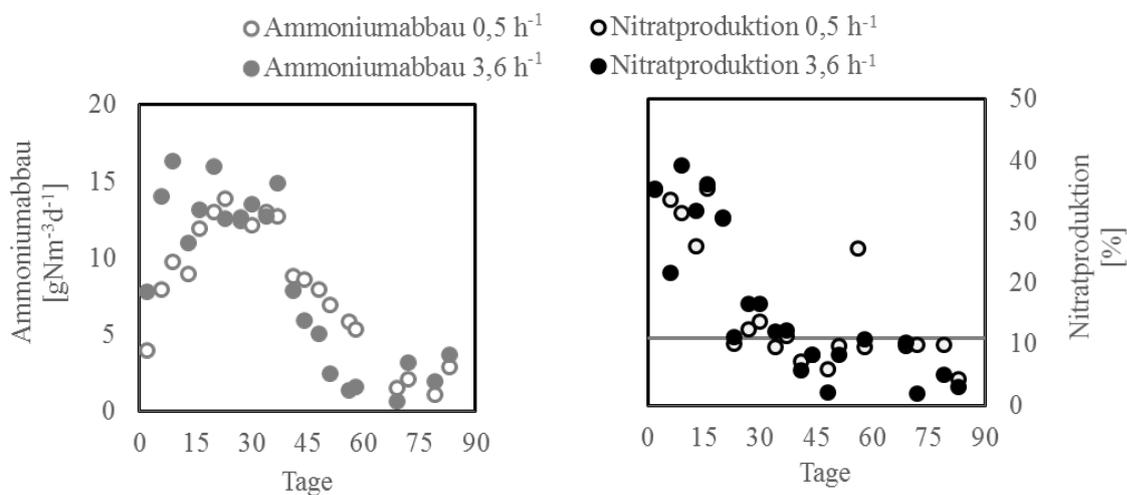
**Tabelle 4-3 Ex-situ Umsatzraten der Laborreaktorstudie zur Auswirkung der intermittierenden Belüftung (5 min Luft / 15 min Pause) in zwei SBRs mit verschiedenen Luftvolumenströmen bei 20°C**

		$7,3 \text{ l}_{\text{Luft}} \text{ l}^{-1} \text{ Reakt. Vol. h}^{-1}$		$0,9 \text{ l}_{\text{Luft}} \text{ l}^{-1} \text{ Reakt. Vol. h}^{-1}$	
		20°C (Beginn)	20°C (Ende)	20°C (Beginn)	20°C (Ende)
<b>Anammox</b>	$\text{g kg}^{-1} \text{TS d}^{-1}$	$2,9 \pm 0,7$	$8,3 \pm 0,9$	$2,6 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,1$
<b>Ammoniumoxidation</b>	$\text{g kg}^{-1} \text{TS d}^{-1}$	$4,1 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,9$	$3,7 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,1$
<b>Nitritoxidation</b>	$\text{g kg}^{-1} \text{TS d}^{-1}$	$11,3 \pm 2,4$	$6,5 \pm 0,4$	$11,6 \pm 2,1$	$2,8 \pm 0,3$

Die biomassenspezifischen ex-situ Umsatzraten (Tabelle 4-3), vor und nach dem Langzeitversuch gemessen, betätigen die Reaktordaten. Die Nitritoxidationsraten nahmen in beiden Fällen deutlich ab, die Ammoniumoxidationsraten blieben jedoch, zumindest bei dem höheren Luftvolumenstrom, unverändert. Die Anammoxrate nahm bei dem höheren Luftvolumenstrom sogar deutlich zu.

### 10°C

Bei 10°C betrug die Luftvolumenströme in die SBR 0,5 bzw. 3,6  $\text{l}_{\text{Luft}} \text{ l}^{-1} \text{ Reakt. Vol. h}^{-1}$  und die Sauerstoffkonzentrationen 0,07 bzw. 0,2  $\text{mg l}^{-1}$ . Da die Sauerstoffzehrung bei 10°C sehr gering war, wurde der Sauerstoffgehalt zu Beginn der Belüftungspausen durch Begasen mit Stickstoff gesenkt, um tatsächlich anaerobe Phasen zu gewährleisten.



**Abbildung 4-9 Ammoniumabbau (links) und die daran anteilige Nitratproduktion (rechts) über die Zeit der Laborreaktorstudie zur Auswirkung der intermittierenden Belüftung (5 min Luft / 15 min Pause) in zwei SBRs mit verschieden starkem Lufteintrag (0,5 und 3,6  $\text{h}^{-1}$ ) bei 10°C.**

Auch bei 10°C führte die intermittierende Belüftung mit beiden Luftvolumenströmen innerhalb von weniger als 30 d zu einer Reduktion der anteiligen Nitratproduktion (Abbildung 4-9, rechts) auf die bei PNA stöchiometrisch zu erwartenden 11% (mit grauer Linie gekennzeichnet). Allerdings ging nach 40 Tagen der Ammoniumabbau (Abbildung 4-9, links) in beiden Laborreaktoren stark zurück.

Wegen einer Störung bei der Temperierung beider Laborreaktoren, die zum Absterben der Biomasse führte, wurde die Versuchsreihe zur intermittierenden Belüftung bei 10°C nach 90 Tagen abgebrochen.

**Tabelle 4-4 Ex-situ Umsatzraten der Laborreaktorstudie zur Auswirkung der intermittierenden Belüftung (5 min Luft / 15 min Pause) in zwei SBRs mit verschiedenen Luftvolumenströmen bei 10°C.**

	$gN\ kg^{-1}TS\ d^{-1}$	$gN\ m^{-3}\ d^{-1}$
<b>Anammox</b>	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$
<b>Ammoniumoxidation</b>	$0,3 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,5$
<b>Nitritoxidation</b>	$3,9 \pm 0,6$	$0,7 \pm 0,2$

Die ex-situ 10°C-Anammoxraten, die zu Beginn der Versuchsreihe gemessen wurden, lagen mit  $0,4\ kgNH_4^+-N\ m^{-3}\ d^{-1}$  recht hoch (Tabelle 4-4). Zum Vergleich lagen die Anammoxraten in einem vergleichbaren Laborreaktor in Kapitel 3.4 etwa zehnmal niedriger (maximal  $3\ gNH_4^+-N\ m^{-3}\ d^{-1}$ ), was allerdings an der dort viel niedrigeren Biomassenkonzentration lag – die biomassenspezifischen Anammoxraten lagen im gleichen Größenbereich (vgl. Tabelle 3-9). Damit sind diese Werte auch höher als bisherige Literaturwerte (vgl. Kapitel 3.4), wovon der bislang höchste Anammoxumsatz bei 10°C bei  $0,13\ kgNH_4^+-N\ m^{-3}\ d^{-1}$  lag (Lotti et al., 2014).

Die ex-situ Ammoniumoxidationsraten und Nitritoxidationsraten lagen ebenfalls wegen der höheren Biomassenkonzentration höher als beim in Kapitel 3.4 beschriebenen Reaktor.

### ***Fazit Intermittierende Belüftung***

Die Laborreaktorstudie zeigte klar, dass sich NOB mit einer intermittierenden Belüftung erfolgreich unterdrücken lassen. Sogar bei dem 20°C-Versuch mit einem Inokulum, welches zur Hälfte Belebtschlamm einer kommunalen Kläranlage mit entsprechend hoher NOB-Aktivität war, konnte diese signifikant reduziert werden. Diese Belüftungsstrategie kann damit dazu beitragen, die Nitritakkumulation zu minimieren, die im unteren Temperaturbereich beobachtet und zum Großteil der nachlassenden NOB-Aktivität zugeschrieben wurde (vgl. Kapitel 3.2.4).

Die Detailstudie zur lag-Phase der NOB (vorheriges Kapitel) zeigte, dass NOB, welche an hohe Sauerstoffkonzentrationen adaptiert sind, stärker unter den Belüftungspausen leiden als NOB, welche an niedrige Sauerstoffkonzentrationen adaptieren sind. Die Reaktorstudie zeigte jedoch, dass sich dieser Effekt sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Sauerstoffkonzentrationen zur Unterdrückung von NOB ausnutzen lässt. Allerdings war, vor Beginn des Versuchszeitraums, bei der verwendeten Biomasse eine lag-Phase von nur 5 min bestimmt worden. Dies lag am unteren Ende der Längen der in der Detailstudie beobachteten lag-Phasen und entsprach damit den Biomassen, die an niedrige Sauerstoffkonzentrationen adaptiert waren. Im Laborreaktor mit dem höheren Luftvolumenstrom wäre auch eine längere Belüftungsdauer möglich gewesen. Allerdings stieg die Umsatzkapazität in diesem

## Ergebnisse und Diskussion

Labor-SBR auch bei der kurzen Belüftungsdauer deutlich an, so dass er eine Fracht von  $0,1 \text{ kgN m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  bewältigte, was für einen SBR bei  $20^\circ\text{C}$  sehr gut ist, zumal die Ammoniumkonzentrationen im Ablauf mit  $<10 \text{ mgN l}^{-1}$  sehr gering waren. Im Vergleich liegt die Fracht in PNA-SBR bei  $30^\circ\text{C}$  mit Ablaufkonzentrationen von i.d.R.  $>100 \text{ mgN l}^{-1}$  bei  $0,1\text{-}0,6 \text{ kgN m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  (Lackner et al., 2014). Diese Umsatzsteigerung ist vor allem dadurch bedingt, dass durch die reduzierte NOB-Aktivität mehr Nitrit für Anammox zur Verfügung stand, was sich auch an den gesteigerten ex-situ Anammoxraten zeigte. Dieser Effekt trat im Labor-SBR mit dem geringeren Luftvolumenstrom nicht auf, da hier die niedrigen Sauerstoffkonzentrationen gleichzeitig die Ammoniumoxidationskapazität reduzierten.

## 4.2 pH-Milieu

Seit 1978 gilt das mit höherem pH-Wert zunehmend frei werdende Ammoniak als hemmend für die Nitritoxidation und bei noch höheren Konzentrationen auch als hemmend für die Ammoniumoxidation (Anthonisen et al., 1976). Die Konzentrationen, ab denen Ammoniak hemmend wirkt, variieren jedoch von Spezies zu Spezies (Blackburne et al., 2007b) und auch Akklimation an dauerhaft hohe Ammoniakkonzentrationen ist möglich (Tokutomi et al., 2006; Turk and Mavinic, 1989). Neuere Untersuchungen deuten darauf, dass möglicherweise nicht das Ammoniak sondern der hohe pH Wert (Hawkins et al., 2010) Ursache einer NOB-Verdrängung ist, weil AOB generell ein etwas höheres pH-Optimum als NOB haben (Tokutomi et al., 2006). Im Hinblick auf eine gezielte Beeinflussung von Ammoniumoxidation und Nitritoxidation in der kommunalen Abwasserbehandlung ist das vielversprechend, da bei den niedrigen Temperaturen und Konzentrationen kommunalen Abwassers keine hohen Ammoniakkonzentrationen erzielt werden können. Allerdings bleibt immer die Gefahr einer Akklimation der NOB an hohe pH-Werte. Und um im Reaktorsystem die Nitritoxidation gezielt über erhöhte pH-Werte zu hemmen, muss auch die Wirkung des pH-Werts auf die Ammoniumoxidation und auf Anammox bekannt sein.

Im weitläufigeren Rahmen dieser Promotion wurde eine Versuchsreihe zur Wirkung erhöhter pH-Werte auf Anammox, Ammonium- und Nitritoxidationsraten mit suspendierter Biomasse und mit Biofilmen auf Aufwuchsträgern untersucht. Im Rahmen dieser Dissertation wird diese nicht weiter diskutiert, sondern an dieser Stelle nur kurz vorgestellt.

Zum einen wurde die direkte Wirkung des pH-Wertes auf suspendierte Biomasse aus einem DEMON<sup>®</sup>-Reaktor in Heidelberg (vgl. Kapitel 1.2.3) und auf 10 mm starken Aufwuchsträgern vom Typ K3 aus AnoxKaldnes<sup>®</sup> Biofarm in Malmö (vgl. Kapitel 1.2.3) bestimmt. Zudem wurde die Regenerationsfähigkeit der einzelnen Prozesse in beiden Biomassetypen untersucht. Dazu wurde die Biomasse (bzw. die Biofilme) zunächst für einen Zeitraum von 1 bzw. 24 h einem definierten pH-Wert von 9 bzw. 10 ausgesetzt. Anschließend wurden über mehrere Tage parallel die Anammox-, Ammoniumoxidations- und die Nitritoxidationsraten mittels manometrischer Batchversuche (vgl. Kapitel 2.2.2) gemessen. Zur Evaluierung der Reaktion der Biomasse bzw. des Biofilms auf diese zeitlich befristete Alkalinitäts-Exposition wurden die Raten mit Blindwerten (vor der Exposition) und den Raten während der Exposition verglichen. Analog zur Versuchsreihe zur Belüftungsstrategie wurden die Versuche bei 30°C, 20°C und 10°C durchgeführt.

Bei 30°C zeigte sich, dass tatsächlich die Nitritoxidation am stärksten von der Exposition zu den hohen pH-Werten beeinträchtigt wurde. Dieser Effekt war in der suspendierten Biomasse stärker ausgeprägt; es dauerte 4 Tage, bis die Nitritoxidationsraten wieder im Bereich der Blindwerte lagen. Bei den Biofilmen erfolgte die Regeneration bereits innerhalb von 1-2 Tagen. Auf die Ammoniumoxidation konnte kein negativer Effekt festgestellt werden und die Anammoxraten waren

## Ergebnisse und Diskussion

nur während der Exposition leicht reduziert, was wiederum bei der suspendierten Biomasse stärker ausgeprägt war.

Mit sinkender Temperatur ließ die Regenerationsfähigkeit der Biomassen nach. Bei 20°C regenerierten die Nitritoxidationsraten nur im Biofilm; bei der suspendierten Biomasse konnte keine Regeneration festgestellt werden. Bei 10°C war auch bei dem Biofilm nur noch nach 1 h Exposition zu pH 9 eine Regeneration der Nitritoxidation festzustellen. Bei einer längeren Expositionsdauer oder einem höheren pH-Wert war dies nicht mehr der Fall.

Insgesamt lässt die Versuchsreihe damit den Schluss zu, dass sich die Nitritoxidation über zeitlich begrenzte Alkalinitäts-Exposition reduzieren lässt, ohne dass Anammox oder die Ammoniumoxidation negativ beeinflusst werden. Die Regeneration erfolgte zwar im Biofilm schneller, aber der Effekt sollte sich Reaktorsystemen mit suspendierter Biomasse als auch in solchen mit Biofilmen auf Aufwuchsträgern ausnutzen lassen.

### **4.3 Fazit: Prozessbeeinflussung über Betriebsparameter**

Die in diesem Kapitel vorgestellten Ergebnisse liefern vielversprechende Ansätze zur gezielten Hemmung der Nitritoxidation in PNA-Systemen mit Hinblick auf die kommunale Abwasserbehandlung, wo die Eingriffsmöglichkeiten wegen der einzuhaltenden Wasserqualität und der sehr großen Volumenströme begrenzt sind. Aus dem zuerst vorgestellten Ansatz, die Nitritoxidation über Belüftungspausen zu hemmen, wurde auch eine Betriebsstrategie entwickelt und erfolgreich getestet. Für den zweiten Ansatz, die Eingriffsmöglichkeit über zeitlich begrenztes Anheben des pH-Werts konnte mit den vorliegenden Ergebnissen die prinzipielle Eignung zur gezielten Hemmung der Nitritoxidation gezeigt werden.

Generell kann gesagt werden, dass Reaktorsysteme mit Biofilmen weniger Eingriffsmöglichkeiten bieten. Zur Belüftungsstrategie wurden Versuche überhaupt nur mit suspendierter Biomasse durchgeführt. Zum Teil weil die angewandte Messmethode mit Biofilmen schwierig zu realisieren gewesen wäre. Vor allem aber weil sich Biofilmsysteme ja gerade über den räumlichen Sauerstoffgradienten auszeichnen und eine zusätzliche zeitliche Varianz in der Sauerstoffverfügbarkeit nicht unbedingt zielführend wäre. Die Versuche zur Eingriffsmöglichkeit pH-Wert haben auch gezeigt, dass die Hemmwirkung im Biofilm im Vergleich zur suspendierten Biomasse schwächer ausfällt. Dies deckt sich mit der generellen Annahme, dass Organismen im Biofilm durch die feste Einbettung in größere Mengen extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) und im Verbund mit anderen Organismen besser geschützt sind als es bei suspendiertem Wachstum in viel kleineren Zellverbänden mit weniger EPS der Fall ist.

Für suspendierte Biomasse jedoch gilt: Die Nitritoxidation lässt sich im Reaktorsystem durch wiederholte anaerobe Phasen von >15 min dauerhaft senken. Der Grund dafür ist, dass die NOB im Anschluss an die anaeroben Phasen offensichtlich eine lag-Phase benötigen. Zur erfolgreichen Hemmwirkung müssen die aeroben Phasen dazwischen jedoch kürzer als die biomassenspezifische Dauer dieser lag-Phase (i.d.R. 5-10 min) sein, um diesen Effekt auszunutzen. Dies senkt zwar die Umsatzleistung des Reaktorsystems, da in den anaeroben Phasen kein Nitrit produziert werden kann. Im Hinblick auf die kommunale Abwasserbehandlung ist aber auch die Erhaltung der Anammoxkapazität von großer Bedeutung, weswegen die anaeroben Phasen zusätzlich positiv zu werten sind. Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich die Länge der lag-Phase und damit Dauer der aeroben Phasen ausdehnen lässt, indem die NOB an hohe Sauerstoffkonzentrationen akklimatisiert werden. Ein direkter Vergleich zeigte immerhin, dass sich mit dieser Belüftungsstrategie bei sonst gleichen Bedingungen im Laborreaktor mit höheren Sauerstoffkonzentrationen deutlich höhere Umsatzleistungen erzielt wurden – bei ebenso erfolgreicher Reduktion der Nitritoxidation wie im Laborreaktor mit niedrigeren Sauerstoffkonzentrationen.

## **5 Eignung und Grenzen von PNA in der kommunalen Abwasserbehandlung**

PNA beruht als Kombination zweier biologischer Prozesse darauf, dass beide Prozesse stabil und im stöchiometrischen Verhältnis zueinander ablaufen. Dies beinhaltet natürlich auch, dass dritte Prozesse soweit unterdrückt werden, dass weder die Deammonifikation behindert noch die Ablaufqualität verschlechtert wird. In der vorliegenden Arbeit zum generellen Einsatz der Deammonifikation in der kommunalen Abwasserbehandlung wurde daher die Populationsdynamik der drei relevanten Gruppen autotropher Mikroorganismen betrachtet, der notwendigen AOB und AnAOB sowie der unerwünschten NOB. Dabei wurde zum einen die Populationsdynamik unter dem Einfluss des Temperaturgradienten von Sommer zu Winter verfolgt. Zum anderen wurden Ansätze zur gezielten Beeinflussung der Prozesse bei den Bedingungen kommunaler Abwasserbehandlung untersucht.

Die Studie zur Populationsdynamik unter dem Einfluss des jahreszeitlich bedingten Temperaturgradienten (Kapitel 3) hat gezeigt, dass beim Unterschreiten von etwa 12-13°C die Aktivität der AnAOB drastisch abnimmt. AOB zeigten zwar, wie AnAOB auch, eine deutliche Temperaturabhängigkeit ihrer Umsatzraten. Allerdings verursachten die sinkenden Temperaturen keine Veränderung in der AOB-Aktivität. Die unerwünschten NOB zeigten, ähnlich den AnAOB, einen drastischen Aktivitätsabfall beim Unterschreiten von 13-15°C. Für den Einsatz der Deammonifikation in der kommunalen Abwasserbehandlung ist dies als sehr positiv zu werten. Es war eigentlich angenommen worden, dass mit sinkender Temperatur NOB zunehmend die Oberhand gewinnen würden. Dies war nicht der Fall. Im Gegenteil erwiesen sich NOB als am empfindlichsten gegenüber kalten Temperaturen. Dennoch herrscht hier natürlich weiterer Forschungsbedarf, da NOB auch bei den sommerlichen Temperaturen nachhaltig unterdrückt werden müssen, um eine gute Ablaufqualität und stabile Deammonifikation zu gewährleisten. Der Einbruch der NOB-Aktivität führte in allen untersuchten Systemen zu einer Akkumulation von Nitrit, welches von AnAOB, deren Aktivität ebenfalls nachließ, nicht verbraucht werden konnte.

Der Vergleich der verschiedenen Reaktorsysteme in dieser Studie zeigte, dass eine größere Biofilmdicke für die Deammonifikation bei niedrigen Temperaturen von Vorteil ist: Die Nitritakkumulation begann im Reaktor mit der granulierten Biomasse erst bei niedrigeren Temperaturen und fiel geringer aus als mit der suspendierten Biomasse. Auch im Reaktor mit den 10 mm starken Aufwuchsträgern K3 fiel die Nitritakkumulation geringer aus als mit den nur 2 mm starken Aufwuchsträgern BiofilmChip™ M. Die Ergebnisse dieser 2mm-Aufwuchsträger waren vergleichbar mit denen der granulierten Biomasse, deren größte Durchmesser rund 2 mm betragen. Weiter kam es im Reaktor mit den 10mm-Aufwuchsträgern zu einem Rückgang der Nitritakkumulation trotz weiterhin sinkender Temperatur, was bedeutet, dass vermutlich eine Adaption der AnAOB an die niedrigen Temperaturen stattfand. Dies war aber nur im Reaktor mit den 10mm-

## Fazit und Zusammenfassung

Aufwuchsträgern zu beobachten, welche sich von den anderen untersuchten Biomassen nur über die deutlich größere Biofilmdicke abheben. Daher kann davon ausgegangen werden, dass ein größerer anaerober Anteil am Biofilm die Ursache war. So war generell der Anteil von AnAOB an der Gesamtpopulation höher (molekularbiologische Untersuchungen, die nicht Teil dieser Promotion waren, haben dies bestätigt). Zudem war vermutlich bei der geringen Sauerstoffzehrung bei den niedrigen Temperaturen, bedingt durch verlangsamte AOB-Aktivität und weggefallene NOB-Aktivität, die aerobe Zone des Biofilms vergrößert. Damit konnte nur in dem sehr dicken Biofilm noch eine ausreichend große anaerobe Zone gewährleistet werden, was vermutlich die Adaption der AnAOB an die niedrigen Temperaturen ermöglichte. Dennoch bleibt die Akkumulation von Nitrit zum jetzigen Zeitpunkt die Engstelle für den Einsatz von PNA im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen. Nitrit ist hochgiftig für Wasserorganismen und darf im Ablauf kommunaler Kläranlagen auch nicht in geringen Konzentrationen vorkommen.

Da die Nitritakkumulation erst unterhalb von 13°C auftrat, was in vielen Kläranlagen nur an wenigen Tagen im Jahr unterschritten wird, ist die prinzipielle Eignung von PNA für den Einsatz im Hauptstrom kommunaler Kläranlagen gegeben. Je länger im Winter tiefe Temperaturen herrschen, desto wichtiger wird dabei die Biofilmdicke, um ausreichend Anammoxaktivität bereitzustellen und so die Nitritakkumulation zu minimieren.

In der Studie zur gezielten Beeinflussung der Populationsdynamik über die Belüftung (Kapitel 4.1) konnte erstmals im Batchversuch eine tatsächliche Verzögerung in der Nitratproduktion nach Belüftungspausen von wirtschaftlich kurzer Länge nachgewiesen werden. Dies war zunächst ein Beleg dafür, dass NOB nach Belüftungspausen eine längere sog. lag-Phase benötigen als AOB. Dies ist der Fall, wenn eine bestimmte Dauer der Belüftungspausen überschritten wurde (etwa 15 min). Die Dauer der lag-Phase selbst war konstant und unabhängig von allen untersuchten Prozessbedingungen.

Weiter konnte im Reaktorbetrieb gezeigt werden, dass dieser Effekt auch dauerhaft ausgenutzt werden kann. Über eine intermittierende Belüftung mit Belüftungspausen, die ausreichend lang sind um eine lag-Phase auszulösen, und Belüftungszeiten, die kürzer als diese lag-Phase sind, ließ sich die NOB-Aktivität nachhaltig reduzieren.

Da die Versuche bei den Bedingungen kommunaler Abwasserbehandlung durchgeführt wurden, scheint eine effektive NOB-Unterdrückung über diesen Ansatz möglich. Damit könnte über eine intermittierende Belüftung die Nitritakkumulation im niedrigen Temperaturbereich reduziert werden.

## 6 Literatur

- 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. doi:10.2166/wst.2010.977
- AbwV, 1997. Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung - AbwV).
- 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. doi:10.1111/j.1758-2229.2009.00029.x
- Aleem, M.I., Hoch, G.E., Varner, J.E., 1965. Water as the source of oxidant and reductant in bacterial chemosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 54, 869–873.
- Alleman, J., 1984. Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Sci. Technol.* 17, 409–419.
- Al-Omari, A., Wett, B., Han, M., de Clippeleir, H., Bott, C.B., 2013. Competition Over Nitrite in Single Sludge Mainstream Deammonification Process, in: *WEF/IWA Nutrient Removal and Recovery 2013: Trends in Resource Recovery and Use*.
- Andrews, R.H., 1986. r- and K-selection and microbial ecology, in: *Advances in Microbial Ecology*. Springer New York, pp. 99–147.
- Anthonisen, A., Loehr, R., Prakasam, T., Srinath, E., 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Water Pollut. Control Fed.* 48, 835–852.
- Antoniou, P., Hamilton, J., Koopman, B., Jain, R., Holloway, B., Lyberatos, G., Svoronos, S.A., 1990. Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Res.* 24, 97–101. doi:10.1016/0043-1354(90)90070-M
- Arrigo, K., 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 437, 349–355. doi:10.1038/nature04158
- Beier, M., Sander, M., Schneider, Y., Rosenwinkel, K.-H., 2008. Energieeffiziente Stickstoffelimination Verfahrensüberblick zur Nitrifikation/Deammonifikation und Auswirkungen auf den Energiebedarf von Klaranlagen. *KA Korrespondenz Abwasser, Abfall* 55, 671–678. doi:10.3242/kae2008.06.007
- Bergeron, P., 1978. Untersuchungen zur Kinetik der Nitrifikation. *Karlsruher Berichte zur Ingenieurbiologie. Institut für Ingenieurbiologie und Biotechnologie des Abwassers*.
- Beun, J.J., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., 2002. Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. *Water Res.* 36, 702–712.
- Blackburne, R., Vadivelu, V.M., Yuan, Z., Keller, J., 2007a. Kinetic characterisation of an enriched *Nitrospira* culture with comparison to *Nitrobacter*. *Water Res.* 41, 3033–3042. doi:10.1016/j.watres.2007.01.043
- Blackburne, R., Vadivelu, V.M., Yuan, Z., Keller, J., 2007b. Determination of Growth Rate and Yield of Nitrifying Bacteria by Measuring Carbon Dioxide Uptake Rate. *Water Environ. Res.* 79, 2437–2445. doi:10.2175/106143007X212139
- Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J., 2008a. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor. *Biodegradation* 19, 303–312. doi:10.1007/s10532-007-9136-4

## Anhang

- Blackburne, R., Yuan, Z., Keller, J., 2008b. Demonstration of nitrogen removal via nitrite in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Water Res.* 42, 2166–2176. doi:10.1016/j.watres.2007.11.029
- Bock, E., Wagner, M., 2006. Oxidation of Inorganic Nitrogen Compounds as an Energy Source, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes*. Springer New York. doi:10.1007/0-387-30742-7
- Boer, W. De, Gunnewiek, P.J.A.K., Veenhuis, M., Bock, E., Laanbroek, H.J., 1991. Chemolithotrophic Bacteria Nitrification at Low pH by Aggregated Chemolithotrophic Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 36003604.
- Brockmann, D., 2006. Modelling Nitrification and Deammonification in Biofilms: Sensitivity Analysis, Identifiability Analysis and Design of Experiments. Universität Hannover.
- Broda, E., 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Zeitschrift fuer Allg. Mikrobiol.* 17, 491–493.
- Bryers, J.D., 2000. Biofilms II, Process analysis and applications, *Ecological and Applied Microbiology*. Wiley-Liss.
- 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, 2677–2684. doi:10.2166/wst.2013.156
- Codispoti, L., Brandes, J.A., Christensen, J., Devol, A., Naqvi, S., Paerl, H.W., Yoshinari, T., 2001. The oceanic fixed nitrogen and nitrous oxide budgets: Moving targets as we enter the anthropocene? *Sci. Mar.* 65, 85–105.
- Daebel, H., Manser, R., Gujer, W., 2007. Exploring temporal variations of oxygen saturation constants of nitrifying bacteria. *Water Res.* 41, 1094–1102. doi:10.1016/j.watres.2006.11.011
- Daims, H., Lucker, S., Pasliev, D. Le, Wagner, M., 2011. Nitrite-Oxidizing Bacteria: Diversity, Environmental Genomics, and Ecophysiology of Nitrite-Oxidizing Bacteria, in: *Nitrification*. American Society for Microbiology (ASM), pp. 295–322.
- 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. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.06.018
- 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.* 97, 10199–10210. doi:10.1007/s00253-013-4744-x
- Desloover, J., de Clippeleir, H., Boeckx, P., Du Laing, G., Colsen, J., Verstraete, W., Vlaeminck, S.E., 2011. Floc-based sequential partial nitritation and anammox at full scale with contrasting N<sub>2</sub>O emissions. *Water Res.* 45, 2811–2821. doi:10.1016/j.watres.2011.02.028
- Dosta, J., Fernández, I., Vázquez-Padín, J.R., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Mata-Alvarez, J., Méndez, R., 2008. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *J. Hazard. Mater.* 154, 688–693.
- 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. doi:10.1002/bit.22018
- Drozd, J.W., 1976. Energy coupling and respiration in *Nitrosomonas europaea*. *Arch. Microbiol.* 110, 257–262.

## Literatur

- Egli, K., 2003. On the use of anammox in treating ammonium-rich wastewater. SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH.
- Eikmanns, B., Eikmanns, M., 2001. Der Energiestoffwechsel von Mikroorganismen, in: Munk, K. (Ed.), Grundstudium Biologie. 2. Mikrobiologie. Spektrum, Akademischer Verlag, pp. 8–1–75.
- Fdz-Polanco, F., 1994. Temperature effect on nitrifying bacteria activity in biofilters: activation and free ammonia inhibition. *Water Sci. Technol.* 30, 121–130.
- Fuchs, G., 2006. Die Mikroorganismen, in: Schlegel, H.G. (Ed.), Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, pp. 1–29.
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2014a. Response of Different *Nitospira* Species To Anoxic Periods Depends on Operational DO. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2934–2941.
- 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.* published .
- Gilbert, E.M., Müller, E., Horn, H., Lackner, S., 2013. Microbial activity of suspended biomass from a nitritation-anammox SBR in dependence of operational condition and size fraction. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 8795–8804. doi:10.1007/s00253-012-4591-1
- Goreau, T., Kaplan, W., Wofsy, S., McElroy, M., Valois, F., Watson, S., 1980. Production of NO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O by Nitrifying Bacteria at Reduced Concentrations of Oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 526–532.
- Grunditz, C., Dalhammar, G., 2001. Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Res.* 35, 433–440.
- Gujer, W., 2007. Schmutzstoffanfall und Temperatur, in: Siedlungswasserwirtschaft, 3., Bearbeitete Auflage. p. 104.
- Gujer, W., 2008. Systems Analysis for Water Technology. Springer-Verlag.
- Hawkins, S., Robinson, K., Layton, A., Sayler, G., 2010. Limited impact of free ammonia on *Nitrobacter* spp. inhibition assessed by chemical and molecular techniques. *Bioresour. Technol.* 101, 4513–4519. doi:10.1016/j.biortech.2010.01.090
- Hendrickx, T.L.G., Kampman, C., Zeeman, G., Temmink, H., Hu, Z., Kartal, B., Buisman, C.J.N., 2014. High specific activity for anammox bacteria enriched from activated sludge at 10°C. *Bioresour. Technol.* 163, 214–221. doi:10.1016/j.biortech.2014.04.025
- Hendrickx, T.L.G., Wang, Y., Kampman, C., Zeeman, G., Temmink, H., Buisman, C.J.N., 2012. Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature. *Water Res.* 46, 2187–2193. doi:10.1016/j.watres.2012.01.037
- Hippen, A., Rosenwinkel, K.-H., 1997. Aerobic deammonification: a new experience in the treatment of waste waters. *Water Sci. Technol.* 35, 111–120.
- Hollocher, T., Tate, M., 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.
- Hu, Z., Lotti, T., de Kreuk, M.K., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C.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. doi:10.1128/AEM.03987-12

## Anhang

- Hunik, J.H., 1993. Engineering aspects of nitrification with immobilized cells. Landbouwniversiteit te Wageningen.
- Hunik, J.H., Tramper, J., Wijffels, R.H., 1994. A strategy to scale up nitrification processes with immobilized cells of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis*. *Bioprocess Eng.* 11, 73–82. doi:10.1007/BF00389563
- Isaka, K., Yoshie, S., Sumino, T., Inamori, Y., Tsuneda, S., 2007. Nitrification of landfill leachate using immobilized nitrifying bacteria at low temperatures. *Biochem. Eng. J.* 37, 49–55. doi:10.1016/j.bej.2007.03.008
- Jahn, D., 2001. Anpassungsfähigkeit der Mikroorganismen, in: Munk, K. (Ed.), *Grundstudium Biologie. 2. Mikrobiologie*. Spektrum, Akademischer Verlag, pp. 1–41.
- Jardin, N., Hennerkes, J., 2011. Full scale experience with the deammonification process to treat high strength sludge water – a case study, in: 11th IWA Specialised Conference on Design, Operation and Economics of Large Wastewater Treatment Plants. Budapest, pp. 239–246.
- Jetten, M.S.M., van Niftrik, L., Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J., Op den Camp, H., 2009. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 44, 65–84. doi:10.1080/10409230902722783
- 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, 9735–9742. doi:10.1021/es202181v
- Joss, A., Salzgeber, D., Eugster, J., König, R., Rottermann, K., Burger, S., Fabijan, P., Leumann, S., Mohn, J., Siegrist, H., 2009. Full-scale nitrogen removal from digester liquid with partial nitrification and anammox in one SBR. *Environ. Sci. Technol.* 43, 5301–5306.
- Kartal, B., Geerts, W., Jetten, M.S.M., 2011. Cultivation, Detection, and Ecophysiology of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria, in: *Methods in Enzymology Vol. 486 Research on Nitrification and Related Processes, Part A*. pp. 89–109.
- Katsogiannis, A., Kornaros, M., Lyberatos, G., 2002. Long-term effect of total cycle time and aerobic/anoxic phase ratio on nitrogen removal in a sequencing batch reactor. *Water Environ. Res.* 74, 324–337.
- Katsogiannis, A., Kornaros, M., Lyberatos, G., 2003. Enhanced nitrogen removal in SBRs bypassing nitrate generation accomplished by multiple aerobic/anoxic phase pairs. *Water Sci. Technol.* 47, 53–59.
- Kester, R., de Boer, W., Laanbroek, H.J., 1997. Production of NO and N<sub>2</sub>O by Pure Cultures of Nitrifying and Denitrifying Bacteria during Changes in Aeration. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3872–3877.
- Kim, D.-J., Lee, D.-I., Keller, J., 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresour. Technol.* 97, 459–468. doi:10.1016/j.biortech.2005.03.032
- Kleiner, D., 1985. Bacterial ammonium transport. *FEMS Microbiol. Lett.* 32, 87–100. doi:10.1016/0378-1097(85)90059-X
- Knowles, G., Downing, A.L., Barrett, M.J., 1965. Determination of Kinetic Constants for Nitrifying Bacteria in Mixed Culture, With the Aid of an Electronic Computer. *J. Gen. Microbiol.* 38, 263–278.
- Koops, H.P., Pommerening-Röser, A., 2001. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiol. Ecol.* 37, 1–9. doi:10.1016/S0168-6496(01)00137-4

## Literatur

- Kormelinck, G., 2012. Großtechnische Anlagen zur Deammonifikation im ANAMMOX®-Verfahren, in: 8. Aachener Tagung. Stickstoffrückbelastung. Heidelberg.
- 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. doi:10.1021/es100564j
- Kowalchuk, G. a, Stephen, J.R., 2001. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 485–529. doi:10.1146/annurev.micro.55.1.485
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M.C.M., 2014. Full-scale Partial Nitritation/Anammox Experiences - an Application Survey. *Water Res.* 55, 292–303.
- Lackner, S., Horn, H., 2012. Evaluating operation strategies and process stability of a single stage nitritation-anammox SBR by use of the oxidation-reduction potential (ORP). *Bioresour. Technol.* 107, 70–77. doi:10.1016/j.biortech.2011.12.025
- Leutert, D., Mavromati, F., Pfeifer, T., Stallmann, M., 2008. Kläranlagen leisten einen Beitrag zum Klimaschutz. Umweltbundesamt Presseinformation Nr. 04/2008.
- Li, J., Elliott, D., Nielsen, M., Healy, M.G., Zhan, X., 2011. Long-term partial nitrification in an intermittently aerated sequencing batch reactor (SBR) treating ammonium-rich wastewater under controlled oxygen-limited conditions. *Biochem. Eng. J.* 55, 215–222. doi:10.1016/j.bej.2011.05.002
- Ling, D., 2009. Experience from commissioning of full-scale DeAmmon® plant at Himmerfjärden (Sweden), in: IWA Specialized Conference on Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes.
- Lotti, T., Kleerebezem, R., van Erp Taalman Kip, C., Hendrickx, T.L.G., Kruit, J., van Loosdrecht, M.C.M., Hoekstra, M., 2014. Anammox Growth on Pretreated Municipal Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 48, 7874–7880. doi:10.1021/es500632k
- 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. doi:10.1016/j.watres.2012.02.011
- 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. doi:10.1016/j.biortech.2012.11.025
- Malhi, S.S., McGill, W.B., 1982. Nitrification in three Alberta soils: Effect of temperature, moisture and substrate concentration. *Soil Biol. Biochem.* 14, 393–399. doi:10.1016/0038-0717(82)90011-6
- Manser, R., Gujer, W., Siegrist, H., 2005. Consequences of mass transfer effects on the kinetics of nitrifiers. *Water Res.* 39, 4633–4642. doi:10.1016/j.watres.2005.09.020
- Metcalf, E., Eddy, H., 2003a. Constituents in Wastewater, in: *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th Edition. McGraw-Hill, p. 55.
- Metcalf, E., Eddy, H., 2003b. Introduction to Process Analysis and Selection, in: *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, 4th Edition. p. 263.
- Metzner, G., Carozzi, A., Fuchs, H.-P., Hüer, L., Lind, G., Niemann, H., Schmidt, E., Temper, U., Wieting, J., Zimmer, L., Grabowski, I., 2008. DWA-M 710 Abwasser aus der Verarbeitung tierischer Nebenprodukte. DWA-Regelwerk.
- Mota, C., Head, M.A., Ridenoure, J.A., Cheng, J.J., Iii, F.L.D.L.R., 2005. Effects of Aeration Cycles on Nitrifying Bacterial Populations and Nitrogen Removal in Intermittently Aerated Reactors. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 8565–8572. doi:10.1128/AEM.71.12.8565

- Nielsen, M., Bollmann, A., Sliemers, A.O., Jetten, M.S.M., Schmid, M.C., Strous, M., Schmidt, I., Larsen, L., Nielsen, L.P., Revsbech, N., 2005. Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 51, 247–256. doi:10.1016/j.femsec.2004.09.003
- Norton, J.M., 2011. Ammonia-Oxidizing Bacteria: Diversity and Environmental Distribution of Ammonia-Oxidizing Bacteria, in: *Nitrification*. American Society for Microbiology (ASM), pp. 39–55.
- Park, H.-D., Noguera, D.R., 2004. Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge. *Water Res.* 38, 3275–3286. doi:10.1016/j.watres.2004.04.047
- Park, H.-D., Regan, J.M., Noguera, D.R., 2002. Molecular analysis of ammonia-oxidizing bacterial populations in aerated-anoxic orbital processes. *Water Sci. Technol.* 46, 273–280.
- Persson, F., Sultana, R., Suarez, M., Hermansson, M., Plaza, E., Wilén, B.-M., 2013. Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitritation-anammox at low temperatures. *Bioresour. Technol.* 154, 267–273. doi:10.1016/j.biortech.2013.12.062
- Quinlan, A., 1980. The thermal sensitivity of nitrification as a function of the concentration of nitrogen substrate. *Water Res.* 14, 1501–1507.
- Randall, C., Buth, D., 1984. Nitrite build-up in activated sludge resulting from temperature effects. *J. (Water Pollut. Control Fed.* 56, 1039–1044.
- Regmi, P., Miller, M., Holgate, B., Bunce, R., 2014. Control of aeration, aerobic SRT and COD input for mainstream nitritation/denitritation. *Water Res.* 57, 162–171. doi:10.1016/j.watres.2014.03.035
- Rolfe, M.D., Rice, C.J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A.D.S., Alston, M., Stringer, M.F., Betts, R.P., Baranyi, J., Peck, M.W., Hinton, J.C.D., 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *J. Bacteriol.* 194, 686–701. doi:10.1128/JB.06112-11
- Rosenwinkel, K.-H., Cornelius, A., 2005. Deammonification in the Moving-Bed Process for the Treatment of Wastewater with High Ammonia Content. *Chem. Eng. Technol.* 28, 49–52. doi:10.1002/ceat.200407070
- Sander, M., Glocker, A., Beier, M., Rosenwinkel, K.-H., 2010. Energieeffiziente Stickstoffelimination im Verfahren der einstufigen Deammonifikation auf dem Klärwerk Fulda-Gläserzell. *KA Korrespondenz Abwasser, Abfall* 57, 890–901.
- Sarkenburg, S.R., Spieck, E., Bottomley, P.J., 2011. Nitrite-Oxidizing Bacteria: Metabolism and Genomics of Nitrite-Oxidizing Bacteria: Emphasis on Studies of Pure Cultures and of Nitrobacter Species, in: *Nitrification*. American Society for Microbiology (ASM), pp. 267–293.
- Sayavedra-soto, L.A., Arp, D.J., 2011. Ammonia-Oxidizing Bacteria: Their Biochemistry and Molecular Biology, in: *Nitrification*. American Society for Microbiology (ASM), pp. 11–37.
- Scaglione, D., Caffaz, S., Bettazzi, E., Lubello, C., 2009. Experimental determination of Anammox decay coefficient. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84, 1250–1254. doi:10.1002/jctb.2149
- Scaglione, D., Rusalleda, M., Ficara, E., Balaguer, M.D., Colprim, J., 2012. Response to high nitrite concentrations of anammox biomass from two SBR fed on synthetic wastewater and landfill leachate. *Chem. Eng. J.* 209, 62–68. doi:10.1016/j.cej.2012.07.106
- Schalk, J., de Vries, S., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 2000. Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation. *Biochemistry* 39, 5405–5412.

## Literatur

- Schink, B., 2006. Wachstum und Ernährung der Mikroorganismen, in: Schlegel, H.G. (Ed.), *Allgemeine Mikrobiologie*. Georg Thieme Verlag, pp. 155–193.
- Schramm, A., de Beer, D., Gieseke, A., Amann, R., 2000. Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. *Environ. Microbiol.* 2, 680–686.
- Schramm, A., de Beer, D., van den Heuvel, J.C., Ottengraf, S., Amann, R., 1999. Microscale Distribution of Populations and Activities of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. along a Macroscale Gradient in a Nitrifying Bioreactor: Quantification by In Situ Hybridization and the Use of Microsensors Microscale Distribution of Populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3690–3696.
- Simm, R.A., 2006. A targeted study on possible free ammonia inhibition of *Nitrospira*. *J. Environ. Eng. Sci.* 5, 365 – 376.
- Siripong, S., Rittmann, B.E., 2007. Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Res.* 41, 1110–1120. doi:10.1016/j.watres.2006.11.050
- Speick, E., Bock, E., 2005. The lithoautotrophic nitrite-oxidizing bacteria. *Bergey's Manual® Syst. Bacteriol.* 149–153.
- Steinmann-Keller, D., 2001. Mikrobielles Wachstum, in: Munk, K. (Ed.), *Grundstudium Biologie*. 2. Mikrobiologie. Spektrum, Akademischer Verlag, pp. 7–1–44.
- 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. doi:10.1007/s002530051340
- Strous, M., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M., 1999. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3248–3250.
- Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M., 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., Op den Camp, H., van der Drift, C., Cirpus, I., van de Pas-Schoonen, K., Harhangi, H., van Niftrik, L., Schmid, M.C., Keltjens, J., van de Vossenbergh, J., Kartal, B., Meier, H., Frishman, D., Huynen, M., Mewes, H., 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, 790–794. doi:10.1038/nature04647
- Süßmuth, R., Doser, C., Lueders, T., 1999. Applications for analysis Determination of the biological biodegradability of organic substances under anaerobic conditions using the Experimental solution examples.
- Suzuki, I., Dular, U., Kwok, S., 1974. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacteriol.* 120, 556.
- Szatkowska, B., Cema, G., Plaza, E., Trela, J., Hultman, B., 2007. A one-stage system with partial nitrification and Anammox processes in the moving-bed biofilm reactor. *Water Sci. Technol.* 55, 19–26.
- Tarre, S., Green, M., 2004. High-Rate Nitrification at Low pH in Reactors High-Rate Nitrification at Low pH in Suspended- and Attached-Biomass Reactors. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 6481–6487. doi:10.1128/AEM.70.11.6481
- Tokutomi, T., Kiyokawa, T., Shibayama, C., Harada, H., Ohashi, A., 2006. Effect of inorganic carbon on nitrite accumulation in an aerobic granule reactor. *Water Sci. Technol.* 53, 285–294. doi:10.2166/wst.2006.431
- Turk, O., 1987. Benefits of using selective inhibition to remove nitrogen from highly nitrogenous wastes. *Environ. Technol.* 8, 419–426.

## Anhang

- Turk, O., Mavinic, D.S., 1986. Preliminary assessment of a shortcut in nitrogen removal from wastewater. *Can. J. Civ. Eng.* 13, 600–605.
- Turk, O., Mavinic, D.S., 1989. Maintaining nitrite build-up in a system acclimated to free ammonia. *Water Res.* 23, 1383–1388. doi:10.1016/0043-1354(89)90077-8
- Van de Graaf, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M., Kuenen, J.G., Bruijn, P. De, 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 142, 2187–2196. doi:10.1099/13500872-142-8-2187
- 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.
- 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, 4149–4163. doi:10.1016/j.watres.2007.03.044
- 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, 1282–1288. doi:10.2166/wst.2011.370
- Villaverde, S., Garcia Encina, P.A., Lacalle, M.L., Fdz-Polanco, F., 2000. New operational strategy for SBR technology for total nitrogen removal from industrial wastewaters highly loaded with nitrogen. *Water Sci. Technol.* 41, 85–93.
- Vlaeminck, S.E., Cloetens, L., Carballa, M., Boon, N., Verstraete, W., 2008. Granular biomass capable of partial nitrification and anammox. *Water Sci. Technol.* 58, 1113–1120. doi:10.2166/wst.2008.731
- Vlaeminck, S.E., Terada, A., Smets, B.F., de Clippeleir, H., Schaubroeck, T., Bolca, S., Demeestere, L., Mast, J., Boon, N., Carballa, M., Verstraete, W., 2010. Aggregate size and architecture determine microbial activity balance for one-stage partial nitrification and anammox. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 900–909. doi:10.1128/AEM.02337-09
- 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. doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00805.x
- Wells, G.F., Park, H.-D., Yeung, C.-H., Eggleston, B., Francis, C. a, Criddle, C.S., 2009. Ammonia-oxidizing communities in a highly aerated full-scale activated sludge bioreactor: betaproteobacterial dynamics and low relative abundance of Crenarchaea. *Environ. Microbiol.* 11, 2310–2328. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01958.x
- Wett, B., 2006. Solved upscaling problems for implementing deammonification of rejection water. *Water Sci. Technol.* 53, 121–128. doi:10.2166/wst.2006.413
- Wett, B., 2007. Development and implementation of a robust deammonification process. *Water Sci. Technol.* 56, 81–88. doi:10.2166/wst.2007.611
- Wett, B., Murthy, S., Takács, I., Hell, M., Bowden, G., Deur, A., O’Shaughnessy, M., 2007. Key parameters for control of DEMON deammonification process. *Water Pract.* 1, 1–11.
- Wett, B., Nyhuis, G., 2010. Development of Enhanced Deammonification Selector, in: WEFTEC. pp. 2–10.
- Wett, B., Rauch, W., 2003. The role of inorganic carbon limitation in biological nitrogen removal of extremely ammonia concentrated wastewater. *Water Res.* 37, 1100–1110.

## Literatur

- Wett, B., Rostek, R., Rauch, W., Ingerle, K., 1998. pH-controlled reject-water-treatment. *Water Sci. Technol.* 37, 165–172.
- Wijffels, R.H., Hunik, J.H., Leenen, E., Günther, A., de Castro, J., Tramper, J., Englund, G., Bakketun, A., 1995. Effects of diffusion limitation on immobilized nitrifying microorganisms at low temperatures. *Biotechnol. Bioeng.* 45, 1–9. doi:10.1002/bit.260450102
- Willers, H., Have, P. Ten, Derikx, P., Arts, M., 1993. Temperature-dependency of nitrification and required anoxic volume for denitrification in the biological treatment of veal calf manure. *Bioresour. Technol.* 43, 47–52.
- Winkler, M.K.H., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M.C.M., 2011. Integration of Anammox into the aerobic granular sludge process for mainstream wastewater treatment at ambient temperatures. *Water Res.* 46, 136–144. doi:10.1016/j.watres.2011.10.034
- Wong-Chong, G., Loehr, R., 1978. Kinetics of microbial nitrification: nitrite-nitrogen oxidation. *Water Res.* 12, 605–609. doi:10.1016/0043-1354(78)90140-9
- Wortman, B., Wheaton, F., 1991. Temperature effects on biodrum nitrification. *Aquac. Eng.* 10, 183–205. doi:10.1016/0144-8609(91)90023-D
- Wyffels, S., van Hulle, S.W.H., Boeckx, P., Volcke, E., van Cleemput, O., Vanrolleghem, P. a., Verstraete, W., 2004. Modeling and simulation of oxygen-limited partial nitrification in a membrane-assisted bioreactor (MBR). *Biotechnol. Bioeng.* 86, 531–542. doi:10.1002/bit.20008
- Yoo, H., Ahn, K.-H., Lee, H.-J., Lee, K.-H., Kwak, Y.-J., Song, K.-G., 1999. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Res.* 33, 145–154.
- Zhu, S., Chen, S., 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquac. Eng.* 26, 221–237. doi:10.1016/S0144-8609(02)00022-5
- Zubrowska-Sudol, M., Yang, J., Trela, J., Plaza, E., 2011. Evaluation of deammonification process performance at different aeration strategies. *Water Sci. Technol.* 63, 1168–1176. doi:10.2166/wst.2011.356
- Zumbrägel, M., Abma, W.R., Schultz, C.E., Mulder, J.W., van Loosdrecht, M.C.M., van der Star, W.R.L., Strous, M., Tokutomi, T., 2006. Full Scale Granular Sludge ANAMMOX® Process, in: 6. Aachener Tagung. Stickstoffrückbelastung. Aachen.

## **7 Eigene Publikationen, Stand November 2014**

### **7.1 ISI-Journale**

- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Schwartz, T., Thomas, Horn, H., Lackner, S., Partial Nitritation /Anammox at low Temperatures: Comparing different Reactor Configurations. *Environ. Sci. Technol.*, eingereicht
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Karst, S.M., Horn, H., Nielsen, P.H., Lackner, S., 2014. Low Temperature Partial Nitritation/Anammox in a Moving Bed Biofilm Reactor treating Low Strength Wastewater. *Environ. Sci. Technol.*
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2014. Response of Different Nitrospira Species To Anoxic Periods Depends on Operational DO. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2934-2941
- Lackner, S., Gilbert, E.M., Vlaeminck, S.E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M.C.M., 2014. Full-scale Partial Nitritation/Anammox Experiences - an Application Survey. *Water Res.* 55, 292-303
- Gilbert, E.M., Müller, E., Horn, H., Lackner, S., 2013. Microbial Activity of Suspended Biomass from a Nitritation-Anammox SBR in Dependence of Operational Condition and Size Fraction. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 8795–8804.

### **7.2 Konferenzbeiträge**

#### **7.2.1 Präsentationen**

- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Karst, S.M., Horn, H., Nielsen, P.H., Lackner, S., 2014. Effect of annual temperature changes on the combined partial nitritation-anammox process. *IWA Specialist Conference: Global Challenges: Sustainable Wastewater Treatment and Resource Recovery, Kathmandu, Nepal*
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F., Moser, S., Becker, S., Horn, H., Lackner, S., 2014. Evaluation of approaches for NOB suppression in partial nitritation / anammox processes for side- and mainstream treatment. *IWA Specialist Conference: Global Challenges: Sustainable Wastewater Treatment and Resource Recovery, Kathmandu, Nepal*
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Horn, H., Lackner, S., 2014. The Role of Biofilm Thickness on Partial Nitritation/Anammox Performance at Low Temperature. *IWA Leading Edge Technologies, Abu Dhabi, Vereinigte Arabische Emirate*
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F.B., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2013: Identification of Nitrospira sp. in correlation with response to anoxic phases; *International Conference on Nitrification 3, Tokyo, Japan (Workshop-Präsentation)*
- Gilbert, E.M., Horn, H., Lackner, S., 2012. Distribution of Ammonium and Nitrite Oxidizing Activity within Three Size Classes of Suspended Sludge in a Nitritation-Anammox SBR; *IWA Nutrient Removal and Recovery, Harbin, China*

#### **7.2.2 Poster**

- Lackner, S., Gilbert, E.M., Schuler, S., Horn, H. Amplitude heights for given oxygen concentration set-points impact oxygen availability in biofilms, 2014: *IWA Specialist Conference: Global Challenges: Sustainable Wastewater Treatment and Resource Recovery, Kathmandu, Nepal*
- Gilbert, E.M., Agrawal, S., Brunner, F.B., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S., 2013: Does the operational oxygen concentration select for nitrite oxidizers with longer lag-times?; *International Conference on Nitrification 3, Tokyo, Japan*

## A Anhang

### A.1 Substratzusammensetzungen

Den Substraten wurde EDTA als Komplexbildner analog van de Graaf et al. (1996) zugegeben.

#### A.1.1 Synthetisches Abwasser

Tabelle A- 1 Zusammensetzung synthetisches Abwasser (Nährelemente, ohne Spurenelemente I & II).

NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	282,2	mg l <sup>-1</sup>	N	50,0	mg l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	56,0	mg l <sup>-1</sup>	Mg	5,6	mg l <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	21,1	mg l <sup>-1</sup>	Ca	5,8	mg l <sup>-1</sup>
NaCl	113,3	mg l <sup>-1</sup>	Na	44,5	mg l <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	6,8	mg l <sup>-1</sup>	K	3,0	mg l <sup>-1</sup>

Tabelle A- 2 Zusammensetzung synthetisches Abwasser (Spurenelemente I)

C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (EDTA)	21,000	mg l <sup>-1</sup>			
FeSO <sub>4</sub>	21,000	mg l <sup>-1</sup>	Fe	7,737	mg l <sup>-1</sup>

Tabelle A- 3 Zusammensetzung synthetisches Abwasser (Spurenelemente II)

C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (EDTA)	84,000	mg l <sup>-1</sup>			
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	4,158	mg l <sup>-1</sup>	Mn	1,155	mg l <sup>-1</sup>
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1,806	mg l <sup>-1</sup>	Zn	0,411	mg l <sup>-1</sup>
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	1,050	mg l <sup>-1</sup>	Cu	0,267	mg l <sup>-1</sup>
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	1,008	mg l <sup>-1</sup>	Co	0,247	mg l <sup>-1</sup>
NaMoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,924	mg l <sup>-1</sup>	Mo	0,405	mg l <sup>-1</sup>
NaSeO <sub>4</sub> 10H <sub>2</sub> O	0,882	mg l <sup>-1</sup>	Se	0,201	mg l <sup>-1</sup>
NiCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,798	mg l <sup>-1</sup>	Ni	0,197	mg l <sup>-1</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,059	mg l <sup>-1</sup>	Bo	0,008	mg l <sup>-1</sup>

### A.1.2 Batchversuche (Aktivitätsmessungen und Versuchsreihe Belüftungspausen)

**Tabelle A- 4 Substratzusammensetzung Batchversuche Anammox (Nährelemente, ohne Spurenelemente I & II).**

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	23,6	mg l <sup>-1</sup>	N	5,0	mg l <sup>-1</sup>
NaNO <sub>2</sub>	34,5	mg l <sup>-1</sup>	N	7,0	mg l <sup>-1</sup>
KHCO <sub>3</sub>	50,0	mg l <sup>-1</sup>	K	19,5	mg l <sup>-1</sup>
			HCO <sub>3</sub>	30,5	mg l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	30,0	mg l <sup>-1</sup>	Mg	3,0	mg l <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	18,0	mg l <sup>-1</sup>	Ca	4,9	mg l <sup>-1</sup>
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,7	mg l <sup>-1</sup>	K	0,8	mg l <sup>-1</sup>
			P	0,6	mg l <sup>-1</sup>

**Tabelle A- 5 Substratzusammensetzung Batchversuche Nitritation (Nährelemente, ohne Spurenelemente I & II). Konzentrationen angegeben für die regelmäßigen Aktivitätsmessungen. In der Versuchsreihe Belüftungspausen war das Medium 10-fach konzentriert.**

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	23,6	mg l <sup>-1</sup>	N	5,0	mg l <sup>-1</sup>
NaHCO <sub>3</sub>	37,5	mg l <sup>-1</sup>	Na	10,3	mg l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	5,6	mg l <sup>-1</sup>	Mg	0,6	mg l <sup>-1</sup>
NaCl	11,3	mg l <sup>-1</sup>	Na	4,5	mg l <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	2,1	mg l <sup>-1</sup>	Ca	0,6	mg l <sup>-1</sup>
			HCO <sub>3</sub>	27,2	mg l <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,7	mg l <sup>-1</sup>	K	0,3	mg l <sup>-1</sup>
	23,6		P	0,1	mg l <sup>-1</sup>

**Tabelle A- 6 Substratzusammensetzung Batchversuche Nitratation (Nährelemente, ohne Spurenelemente I & II). Konzentrationen angegeben für die regelmäßigen Aktivitätsmessungen. In der Versuchsreihe Belüftungspausen war das Medium 10-fach konzentriert.**

NaNO <sub>2</sub>	24,6	mg l <sup>-1</sup>	N	5,0	mg l <sup>-1</sup>
NaCl	11,3	mg l <sup>-1</sup>	Na	4,5	mg l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	5,6	mg l <sup>-1</sup>	Mg	0,6	mg l <sup>-1</sup>
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	2,1	mg l <sup>-1</sup>	Ca	0,6	mg l <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,7	mg l <sup>-1</sup>	K	0,3	mg l <sup>-1</sup>
			P	0,1	mg l <sup>-1</sup>

**Tabelle A- 7 Substratzusammensetzung Batchversuche (Spurenelemente I)**

$C_{10}H_{16}N_2O_8$ (EDTA)	21,000	mg l <sup>-1</sup>			
FeSO <sub>4</sub>	21,000	mg l <sup>-1</sup>	Fe	7,737	mg l <sup>-1</sup>

**Tabelle A- 8 Substratzusammensetzung Batchversuche (Spurenelemente II)**

$C_{10}H_{16}N_2O_8$ (EDTA)	84,000	mg l <sup>-1</sup>			
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	4,158	mg l <sup>-1</sup>	Mn	1,155	mg l <sup>-1</sup>
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1,806	mg l <sup>-1</sup>	Zn	0,411	mg l <sup>-1</sup>
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	1,050	mg l <sup>-1</sup>	Cu	0,267	mg l <sup>-1</sup>
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	1,008	mg l <sup>-1</sup>	Co	0,247	mg l <sup>-1</sup>
NaMoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,924	mg l <sup>-1</sup>	Mo	0,405	mg l <sup>-1</sup>
NaSeO <sub>4</sub> 10H <sub>2</sub> O	0,882	mg l <sup>-1</sup>	Se	0,201	mg l <sup>-1</sup>
NiCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,798	mg l <sup>-1</sup>	Ni	0,197	mg l <sup>-1</sup>
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,059	mg l <sup>-1</sup>	Bo	0,008	mg l <sup>-1</sup>

## A.2 Berechnungen Umsatzraten

### A.2.1 Manometrische Respirometrie

$$r_{AOB} = \frac{\Delta p \cdot V_{Gasraum}}{R \cdot T} \cdot \frac{1,5 \cdot 14}{V_{Medium} \cdot \Delta t \cdot 32} \quad \text{Formel A - 1}$$

$$r_{NOB} = \frac{\Delta p \cdot V_{Gasraum}}{R \cdot T} \cdot \frac{0,5 \cdot 14}{V_{Medium} \cdot \Delta t \cdot 32} \quad \text{Formel A - 2}$$

$$r_{AnAOB} = \frac{\Delta p \cdot V_{Gasraum}}{R \cdot T} \cdot \frac{1,02 \cdot 14}{V_{Medium} \cdot \Delta t \cdot 28} \quad \text{Formel A - 3}$$

### A.3 Aufbau Laborreaktoren

Tabelle A- 9 Messtechnik in den Laborreaktoren

Messtechnik		SBR	MBBR
Temperatur	CTS1, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
pH	Orbisint CPS 11, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
elektr. Leitfähigkeit	Indumax CLS50D, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
Redoxpotential	Orbisint CPS12D, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
O <sub>2</sub>	Oxymax H COS22D, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Kit CAS 40D, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -selektiv, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Kit CAS 40D, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -selektiv, Endress+Hauser	1 St.	1 St.
Füllstand	Hydrostatic level probe SGE-25, Aplisens	1 St.	

Tabelle A- 10 Aggregate in den Laborreaktoren

Aggregate		SBR	MBBR
Pumpen	Peristaltische Schlauchpumpe, 0-4 l/h, Typ <i>Ismatec Ecoline VC-380 II</i>		1 St.
	Peristaltische Schlauchpumpe 0,1-300 l/h, Typ <i>Ismatec Reglo Analog C MS-2</i>	2 St.	
	Peristaltische Schlauchpumpe 0,4 l/h, Typ <i>Gemketeknik PE 0,4</i>	1 St.	1 St.
Durchmischung	Magnetrührer, Typ <i>IKA C-Mag HS10</i>	1 St.	
	Membran-Vakuumpumpe, Typ <i>VWR, VP86</i>		1 St.
Begasung	Schwebekörperdurchflussmesser, 50-500 l/h, Typ <i>Krohne DK800/N</i>	1 St.	2 St.
	2/2-Wege-Magnetventil, Typ <i>Bürklee 6013-A03</i>	1 St.	2 St.
UV-Bestrahlung	Kreiselpumpe 150-300 l/h, Typ <i>Eheim Compact 1000</i>	1 St.	
	UV-Filter 11W/30 cm, Typ <i>Berlan BLF111UVC</i>	1 St.	

## A.4 Anhang Detailstudie zur lag-Phase von NOB

Tabelle A- 11 Literaturangaben zu der Dauer anaerober und aerober Phasen in Laborreaktoren, bei denen eine Unterdrückung von NOB auf die intermittierende Belüftung zurückgeführt wurde.

Anaerobe Phase	Aerobe Phase	Luftvolumenstrom $l_{Luft} l^{-1} Reakt.Vol h^{-1}$	Sauerstoff $mg l^{-1}$	pH	Temperatur °C	Reaktorvolumen L	Quelle
$h$	$h$						
0,1	0,5	4,5	0,2	7,1-7,4	18-21	2	(Li et al., 2011)
0,1	0,15	n,v.	5			6	(Villaverde et al., 2000)
0,2	0,1						
0,25	0,1-0,25						
0,25	0,75	n,v.	2/3/4	6,9-8	25	8	(Zubrowska-Sudol et al., 2011)
0,5	0,5						
0,75	0,25						
0,8	1,2	1-3,5	0,4-2	6,9-7,8	22-27	17	(Yoo et al., 1999)
1	0,3	n,v.	3-7	7-7,5	25	1	(Katsogiannis et al., 2003)
1,75	1,33	n,v.	1,8-2,2	7,1	18-25	10	(Blackburne et al., 2008b)
1	1	5	5	7,6-7,8		6	(Mota et al., 2005)
2	0,5		4,2				
1,5	0,5		4,3				
3	1		3,2				
4	1		1,4				
2	2	n,v.	>5	7,2-7,3	25	1	(Katsogiannis et al., 2002)
3	1 / 3						
4,5	1,5						