Die Wirkung von Ultraschall auf die mikrobiologische Diversität und Abbauleistung eines biologischen Reaktors zur Abwasserreinigung

Vom Promotionsausschuss der
Technischen Universität Hamburg-Harburg
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieurin (Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation

von
Izabela Banduch

aus
Stettin

2011

Gutachter:

Prof. Dr.-Ing. U. Neis
Prof. Dr.-Ing. R. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 18.08.2011

1 Einführung und Zielsetzung 6

2 Stand des Wissens 9
2.1 Mikroorganismen in der biologischen Abwasserreinigung 9
2.2 Die aktive Biomasse 13
2.3 Das Ultraschall-Prinzip 16
2.4 Einfluss des Ultraschalls auf die Biomasse 18
2.5 Bisherige Ansätze in der Belebtschlammtechnik 21

3 Materialien und Methoden 23
3.1 Herkunft der Belebtschlämme 23
3.2 Verwendete Bakterienstämme 24
3.3 Nährmedien 25
3.4 Analysemethoden 26
3.4.1 Mikroskopische Untersuchung 26
3.4.1.1 Lichtmikroskopische Untersuchung 26
3.4.1.2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung 26
3.4.1.3 Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung 27
3.4.2 Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung 28
3.4.3 Bestimmung der Enzymaktivität 29
3.4.4 Bestimmung der Atmungsaktivität 30
3.4.5 Bestimmung der Trockensubstanz 32
3.4.6 Bestimmung des gelösten organisch gebundenen Kohlenstoffs 32
3.4.7 Bestimmung des Kohlenstoffabbaus 33
3.4.8 Bestimmung des gelösten Stickstoffs 33
3.4.9 Bestimmung des Stickstoffabbaus 33
3.4.10 Bestimmung des Ammonium-Stickstoffgehaltes 34
3.4.11 Bestimmung der Nitrifikationsgeschwindigkeit 34
3.5.12 Bestimmung des Nitrat-Stickstoffgehaltes 35
3.5.13 Bestimmung der Denitrifikationsgeschwindigkeit 35

4 Versuchsaufbau 36
4.1 Versuchsanlage 36
4.1.1 Aufbau 36
4.1.2 Inbetriebnahme 38

4.1.3 Betriebsphasen 38
4.1.4 Überwachung der Versuchsanlage 40
4.1.4.1 Temperatur 40
4.1.4.2 Sauerstoffgehalt 41
4.1.4.3 pH-Wert 41
4.1.4.4 Leitfähigkeit 42
4.1.4.5 Schlammvolumenindex und Trübung 42
4.2 Batch-Experimente 43
4.3 Beschallung von Biomasse 44

5 Ergebnisse 46
5.1 Wirkung des Ultraschalls auf die Abbauleistung im SBR 46
5.1.1 Wirkung auf Biomassewachstum 46
5.1.2 Wirkung auf Enzymaktivität 50
5.1.3 Wirkung auf Atmungsaktivität 52
5.1.4 Wirkung auf Kohlenstoffabbau 54
5.1.5 Wirkung auf Stickstoffabbau 57
5.2 Wirkung des Ultraschalls auf die Abbauleistung in Batch-Experimenten 65
5.2.1 Wirkung auf Enzymaktivität 65
5.2.2 Wirkung auf Atmungsaktivität 66
5.2.3 Wirkung auf Denitrifikation 67
5.3 Wirkung des Ultraschalls auf die aktive Biomasse 69
5.3.1 Wirkung auf Belebtschlamm 69
5.3.1.1 Erkenntnisse aus dem SBR 69
5.3.1.2 Erkenntnisse aus Batch-Experimenten 72
5.3.2 Wirkung auf fadenförmige Bakterien 76
5.3.2.1 Erkenntnisse aus dem SBR 76
5.3.3 Wirkung auf nitrifizierende Bakterien 78
5.3.3.1 Populationsstruktur nitrifizierender Bakterien 78
5.1.3.2 Erkenntnisse aus dem SBR 79
5.3.3.3 Erkenntnisse aus Batch-Experimenten 83
5.3.4 Wirkung auf Reinkulturen 85
5.3.4.1 Wirkung auf *Microthrix parvicella* 85
5.3.4.2 Wirkung auf *Pseudomonas aeruginosa* 88

6 Diskussion ……..…… 93

7 Zusammenfassung und Ausblick ……..……..……...….. 100

8 Abbildungsverzeichnis ……..…….…….. 102

9 Tabellenverzeichnis ……...……... 105

10 Abkürzungsverzeichnis ……..……...…..….. 106

11 Literatur ……...……...…. 109

12 Anhang …….....….. 119

1 Einführung und Zielsetzung

Bei der Beobachtung der Selbstreinigungsprozesse in Gewässern erkannte man, dass die biologische Tätigkeit der Mikroorganismen von „sessilen“ (auf festen Oberflächen lebenden) und suspendierten Organismen bewältig wird (Kunst, 1995).
Die technische Umsetzung der Reinigungsprozesse mit den suspendierten Organismen führte zur Entwicklung des Belebtschlammverfahrens. Dieses Verfahren beruht auf einer kontinuierlichen Beschickung eines Belebtschlammreaktors mit Abwasser und auf einer intensiven Sauerstoffversorgung und Umwälzung des Gemisches. Es ist erforderlich, dass die Mikroorganismen im mit Sauerstoff versorgten Abwasser Flocken bilden (Belebtschlammflocken), welche bei Belüftung und Umwälzung leicht in Schwebe gehalten werden, während sie im ruhenden Abwasser leicht absetzbar sind. In der Abb. 1.1 wird das Verfahrensschema einer konventionellen Belebtschlammkläranlage dargestellt.

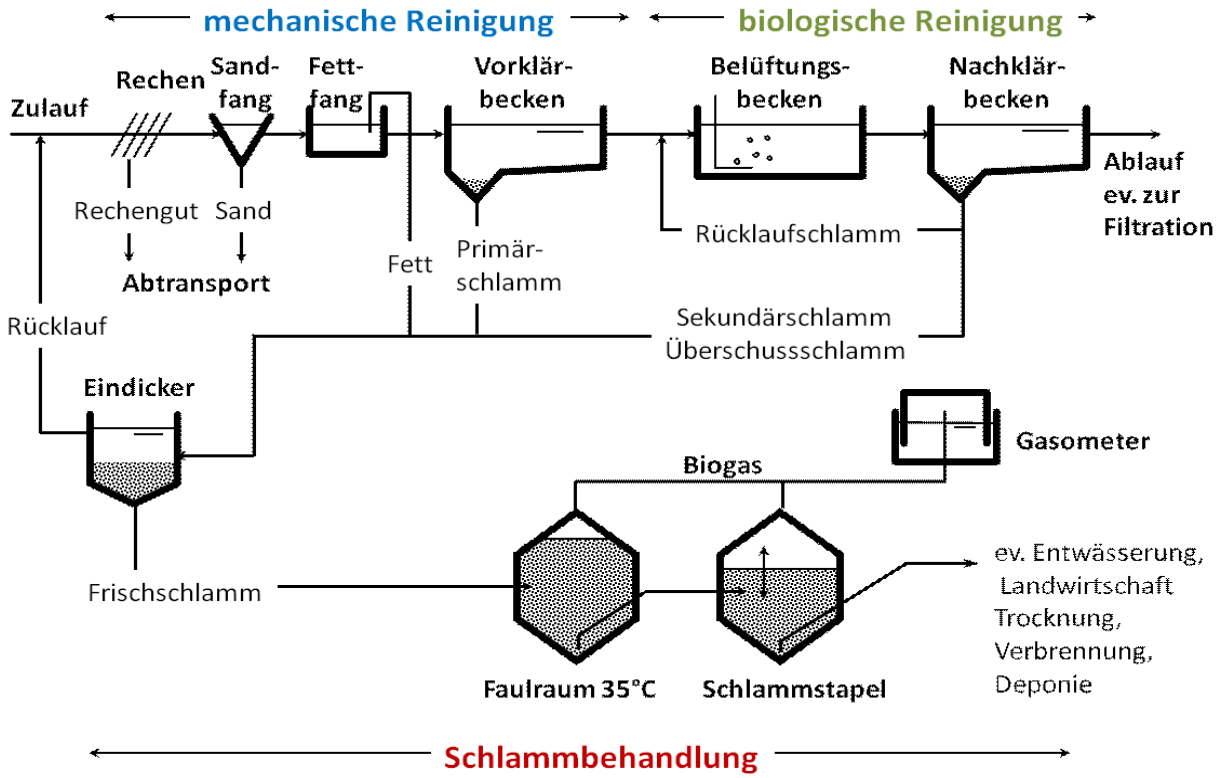


Abb. 1.1 Verfahrensschema einer Belebungskläranlage (modifiziert nach Gujer, 2002)

Seit der Etablierung des Belebtschlammverfahrens im Alltag, ist man auf der Suche nach neuen Lösungen, um den Prozess der Abwasserreinigung nachhaltig und wirtschaftlich zu optimieren.
Die anaerobe Schlammbehandlung ist eine anerkannte Abwassertechnik und führt zum Abbau der organischen Schlammbestandteile, was mit der Verminderung der zu entsorgenden Schlammmasse und Ge-

winnung von methanhaltigem Biogas einhergeht. Der wesentliche Nachteil der anaeroben Schlammbehandlung liegt in der geringen Umsatzleistung. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt dabei ist die Hydrolyse der organischen Schlammbestandteile, die im Wesentlichen aus organischer Zellsubstanz bestehen.
Nach der erfolgreichen Entwicklung des Desintegrationsverfahrens für die Aufarbeitung von intrazellulären Fermentationsprodukten für den Bedarf der pharmazeutischen und der Lebensmittelindustrie, entstand die Idee, das Desintegrationsverfahren für die Beschleunigung der Hydrolyse bei der anaeroben Schlammbehandlung einzusetzen.

Am Institut für Abwasserwirtschaft und Gewässerschutz an der TU Hamburg-Harburg wird bereits seit mehreren Jahren die Behandlung von Biomasse mit Ultraschall wissenschaftlich untersucht. Heute erreicht man vor allem bei der anaeroben Schlammbehandlung durch Desintegration vom Klärschlamm eine wesentliche Leistungssteigerung (Nickel, 2005). Allerdings liegen noch wenig systematische Erkenntnisse zur Wirkung der Desintegration auf die Kinetik der enzymatisch-biologischen Prozesse der anaeroben Schlammbehandlung vor. In der Abb. 1.2 wird eine Modellvorstellung der Wirkung von Ultraschall auf die Belebtschlammstruktur dargestellt.

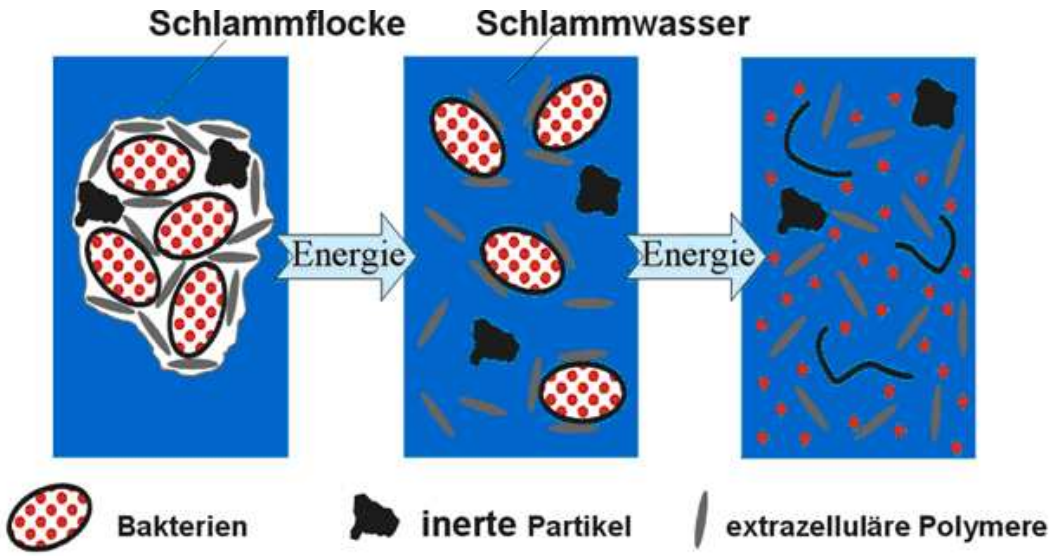


Abb. 1.2 Wirkung von Ultraschall auf die Klärschlammstruktur (Nickel, 2002)

Ermutigt durch die positiven Erfahrungen mit der Ultraschall-Desintegration, überlegten Forscher an der TU Hamburg-Harburg, an welcher anderen Stelle im Verfahrensschema der Kläranlage der Ultraschall ein Einsatz finden könnte. Heute steht fest, dass das Ultraschallverfahren auch zu nachhaltigen Vermeidung von Bläh- und Schwimmschlamm-Biomasse geeignet ist (Neis, 2005; Puschkarjowa, 2007).

Inzwischen sind die Anforderungen an den Gewässerschutz gestiegen und die damit verbundenen Ablaufgrenzwerte für Kläranlagen gesetzlich verschärft (AbwV, 2002). So ist neben dem Abbau der Kohlenstoffverbindungen auch die Entfernung der Nährstoffe wie Stickstoff und Phosphor gefordert. Die sehr niedrigen Stickstoffgrenzwerte machen einen gezielten Stickstoffabbau erforderlich, wobei der Prozess der Denitrifikation vielfach in belastungsschwachen Zeiten nur unter Einsatz externer Kohlenstoffquellen (z.B.: Essigsäure) abläuft. Aufgrund der positiven Ergebnisse mit der Intensivierung der anaeroben Shlammbehandlung wurde entschieden, die Ultraschallanlage bei der Rückführung des Belebtschlammes (für die Gewinnung interner Kohlenstoffquellen) einzusetzen. Kemalides (2007) berichtet über eine wesentliche Steigerung der Stoffwechselaktivität im Belebtschlamm, welche letztendlich zu einer signifikanten Intensivierung des Stickstoffabbaus in der Kläranlage Bünde führt. Gleichzeitig stellt man bei Beschallung der Belebtschlamm-Biomasse mit geringem Energieeintrag, eine Verringerung der Biomasseproduktion fest. Die erzielten Effekte können noch nicht hinreichend wissenschaftlich erklärt werden.
Gelingt es, die o.g. Beobachtungen aufzuklären, wird die biologische Abwasserbehandlung nachhaltig und wirtschaftlich optimiert werden.
Diese Dissertation will einen Beitrag zur Erforschung der mikrobiologischen Ursachen dieser Beobachtungen liefern.

Im Rahmen dieser Arbeit soll der Einfluss des Ultraschalls auf den Belebtschlammprozess untersucht werden. Insbesondere wird die Auswirkung auf die Abbauleistung in einem biologischen Reaktor unter definierten Bedingungen bewertet. Darüber hinaus werden begleitende Experimente zur Auswirkung auf die Belebtschlamm-Biomasse durchgeführt, in denen die für die Abwasserbehandlung wichtige Bakteriengruppen, nitrifizierende und fadenförmige Bakterien detailliert charakterisiert werden.

2 Stand des Wissens

2.1 Biologische Abwasserreinigung

Das zu Beginn des 20. Jahrhunderts eingeführte Belebungsverfahren ist bis heute die am weitesten verbreitete Form der Abwasserreinigung. Zu dieser Zeit war die einzige Anforderung an die Abwasserreinigung, der Abbau von Kohlenstoffverbindungen. Die Anlagen wurden unter Hochlastbedingungen in der biologischen Stufe von über 0,3 kg BSB_5/(kgTS d) mit dem Schlammalter von 0,5 bis 5 Tagen betrieben. Unter diesen Bedingungen war die Konzentration an gelösten organischen Substanzen in der Wasserphase sehr hoch und begünstigte das Wachstum von heterotrophen Organismen, die auf den Abbau gelöster Substrate spezialisiert sind. Die maximale Wachstumsrate μ_{max} für den heterotrophen Abbau beträgt 4 [d^{-1}].

Mit der Verschärfung der gesetzlichen Ablaufgrenzwerte für Kläranlagen wurden ebenfalls die Anforderungen an die Abwasserreinigung geändert (AbwV, 2002). So ist neben dem Abbau der Kohlenstoffverbindungen auch das Entfernen der Nährstoffe wie Stickstoff und Phosphor gefordert, um Eutrophierungsprobleme in Gewässern zu verhindern.
Um eine stabile Nitrifikation zu gewährleisten, musste die Schlammbelastung auf Werte unterhalb von 0,15 kg BSB_5/(kgTS d) mit einem hohen Schlammalter von über 20 Tagen gesenkt werden. So konnten nitrifizierende Bakterien mit ihren langen Generationszeiten im System erhalten bleiben. Für den autotrophen Abbau ist μ_{max} = 0,9 [d^{-1}].

Nitrifikation

Die Nitrifikation besteht aus zwei Schritten, wobei der erste Schritt wieder aus zwei Teilschritten besteht. Die Nitrifikation wird in erster Linie von chemolithoautotrophen Bakteriengruppen (die für ihr Zellwachstum Kohlendioxid als Kohlenstoffquelle nutzen und dafür die frei werdende chemische Energie von Abbauprozessen nutzen können) geleistet. Sie unterteilen sich in Ammoniak oxidierenden Bakterien (AOB) und Nitrit oxidierenden Bakterien (NOB). Das von den AOB gebildete Nitrit ist das Substrat für die NOB. NOB katalysieren den zweiten Schritt des Nitrifikations-Prozesses, die Oxidation zum Nitrat (Bock und Koops, 1992).

Oxidation von Ammonium zu Nitrit:

$$NH_4^+ + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O \quad \text{(Gl. 2.1.1)}$$

$$NH_2OH + H_2O \rightarrow HNO_2 + 4H^+ + 4e^- \quad \text{(Gl. 2.1.2)}$$

Oxidation von Nitrit zu Nitrat:

$$NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \quad \text{(Gl. 2.1.3)}$$

In der Literatur sind fünf morphologisch definierte Gattungen der AOB unterteilt: *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosovibrio, Nitrosolobus und Nitrosospira*. Von den AOB sind für Kläranlagen die *Nitrosomonas, Nitrosococcus mobilis, Nitrosospira* wichtig. Als Gattungen der NOB sind *Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospina* und *Nitrospira* beschrieben worden (Spieck et al., 2007; Seviour und Nielsen 2010). Von den NOB sind für Kläranlagen nur *Nitrospira* und *Nitrobacter* wichtig.
Das Optimum des Prozesses der Nitrifikation wird bei Temperaturen zwischen 15°C und 25°C erreicht. Die maximale Wachstumsrate kann bei einem pH-Wert von 7,8 beobachtet werden (Antoniou et al., 1990). Da Ammonium nur wenig Energie liefert, wachsen die AOB langsam. Nitrit liefert noch weniger Energie als Ammonium und somit wachsen die NOB noch langsamer. Laut Gerardi (2002) beträgt die maximale Wachstumsrate für AOB (*Nitrosomonas*) 0,6 (d^{-1}) und für NOB (*Nitrobacter*) 0,4 (d^{-1}). Der Sauerstoffgehalt soll dabei nicht unter 2 mg/l fallen, da es zur Hemmung von nitrifizierenden Bakterien kommt.

Denitrifikation

Die von den Nitrifikanten durchgeführten Oxidationen verhindern nicht nur eine toxische Nitritakkumulation, sondern beeinflussen auch die Aktivitäten der denitrifizierenden Bakterien. In dem anschließenden Prozess der Denitrifikation werden Nitrit oder Nitrat zu Stickoxiden und elementarem Stickstoff reduziert und der Kreislauf geschlossen (Knowles, 2000):

$$NO_3^- + 6H^+ + 5e^- \rightarrow 0{,}5N_2 + 3H_2O \quad \text{(Gl. 2.1.4)}$$

$$NO_2^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow 0{,}5N_2 + 2H_2O \quad \text{(Gl. 2.1.5)}$$

Da der Energiegewinn bei der Nitrat-Atmung gegenüber der Sauerstoff-Atmung um etwa 10% geringer ist, wird von den Organismen bei Anwesenheit von Sauerstoff (aerobes Milieu) immer die Sauerstoff-Atmung bevorzugt (Mudrack und Kunst, 2003). Bei einem Sauerstoffgehalt unter 1,0 mg/l (anoxisches Milieu) und Anwesenheit von Nitrat oder Nitrit schalten Organismen auf Denitrifikation um. Denitrifikation ist von verschiedenen Parametern wie Sauerstoffgehalt, pH-Wert und der Temperatur abhängig. Die ein-

flussnehmende Temperatur beginnt schon bei ca. 5°C, wobei das Optimum im Bereich 25° bis 30°C liegt. Der optimale pH-Bereich für die Denitrifikation in dem keine Hemmungserscheinungen auftreten, liegt bei 7 - 8,5 (Gerardi, 2002).
Um die Umsatzrate der Denitrifikation zu steigern, muss das Kohlenstoffangebot möglichst hoch sein, da dabei die bakterielle Leistung ebenfalls höher ist. Das Kohlenstoff/Stickstoff (C/N)-Verhältnis soll dabei möglichst zwischen 100 : 10 und 100 : 5 liegen. Wird ein Wert von 100 : 40 unterschritten, findet der Denitrifikationsprozess nur eingeschränkt statt (Mudrack und Kunst, 2003).
Typische Vertreter der Denitrifikanten sind: *Azoacus, Thauera, Bacillus halodenitrificans, Haloarcula denitrificans, Paracoccus denitrificans, Ralstonia eutropha, Pseudomonas tutzeri* und *Thiobacillus denitrificans* (Seviour und Nielsen, 2010).

Biomassewachstum

Bei biologischem Abbau werden die hochmolekularen, energiereichen Abwasser-Inhaltsstoffe zu niedermolekularen, energiearmen umgesetzt. Der Stoffwechsel erfolgt nur dann, wenn damit für die daran beteiligten Organismen ein Gewinn an Energie verbunden ist (Mudrack und Kunst, 2003). Dabei werden bei aeroben Prozessen etwa 30% bis 40% der verfügbaren organischen Stoffe zur Struktur- und Funktionserhaltung benötigt. Weitere 60% bis 70% gehen für die Synthese von Zellsubstanzen (Foladori et al., 2010). Das Wachstum von Organismen hängt von der maximalen Wachstumsrate der Biomassenkonzentration und den Umweltbedingungen, wie Konzentration des Substrates (S), pH-Wert, Temperatur, Giftstoffe ab.

$$\mu = \mu_{max} \cdot f(S, T, pH, etc.) \qquad \text{(Gl. 2.1.6)}$$

Als Dimensionierungsparamerter von Belebungsanlagen wird der reziproke Wert der Wachstumsrate, das Schlammalter, verwendet. Das Schlammalter SA_{TS} [d] entspricht der mittleren Aufenhaltszeit der Mikroorganismen im Belebungsbecken (Bever et al., 2002). Es errechnet sich aus der Biomasse im Belebungsbecken TS_R in [kg], die durch die täglich im Überschussschlamm abgezogenne Biomasse in [kg/d] ($ÜSS_R$) geteilt wird. Es bestimmt, welche Mikroorganismen wachsen und welche ausgespült werden.

$$SA_{TS} = \frac{TS_R}{ÜSS_R} \quad [d] \qquad \text{(Gl. 2.1.7)}$$

Die Belebtschlammflocken setzen sich überwiegend aus organischem Material zusammen, das zu einem Teil aus abgestorbenen Zellen (X_P), organischen Substanzen aus dem Abwasser (X_S) besteht. Ein geringer Teil der Schlammflocke ist mineralischen Ursprungs (X_I). Die Biozönose der Belebtschlammflocke

besteht aus hetero- und autotrophen Biomasse (X_{BH} und X_{BA}, s. Abb. 2.1.1). Sie wird in Kläranlagen in die Belebungsstufe rückgeführt (Rücklaufschlamm) um ein Auswaschen der aktiven Biomasse zu vermeiden. Besonders sind hier die langsam wachsenden Mitglieder der komplexen Biozönose (aufgrund der kurzen Verweilzeiten) gemeint. Ein Teil davon wird dem Rücklaufstrom (Überschussschlamm) entzogen.

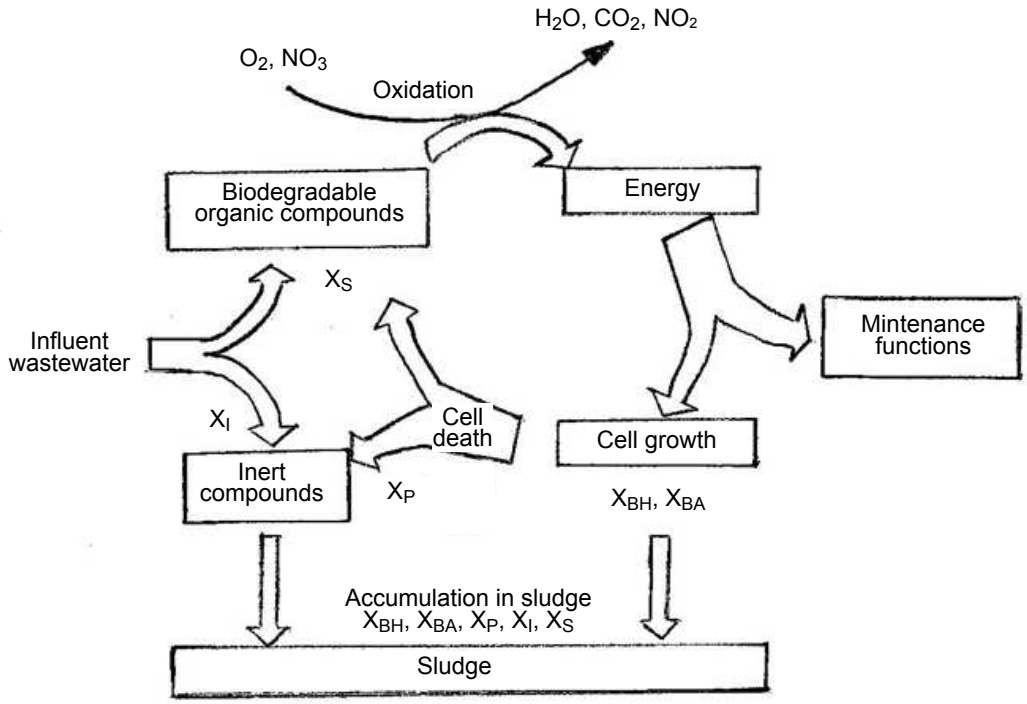


Abb. 2.1.1 Schematische Darstellung der Biomasseproduktion in einer biologischen Kläranlage (Foladori et al., 2010)

Fadenförmige Bakterien

Bei der Abtrennung der Belebtschlammflocken vom gereinigten Abwasser kann es immer wieder zu Absetzschwierigkeiten, wie Blähschlamm- und Schwimmschlamm- bzw. Schaumbildung, kommen. Seit langem ist bekannt, dass bei diesen Schlammabsetzproblemen in großer Häufigkeit Bakterien auftreten, die zum Wachstum als Fäden imstande sind (Eikelboom und Buijsen, 1992). Im Falle von Blähschlamm behindern die aus den Belebtschlammflocken herausragenden fadenförmigen Organismen ein rasches Absinken des belebten Schlammes im Nachklärbecken, der voluminös in der Wassersäule bleibt und im schlimmsten Fall in den Ablauf abtreiben kann. Dadurch werden zum einen die Ablaufwerte durch den hohen Anteil an suspendierten Stoffen verschlechtert und zum anderen die Abbauleistung der Kläranlage beeinträchtigt, da die Rückführung des Schlammes nicht mehr gewährleistet ist. Blähschlamm ist mit einem Schlammvolumenindex SVI > 150 ml/g definiert. Schwimmschlamm und Schaum werden vor allem

an der Wasseroberfläche durch die Anreicherung fadenförmiger Organismen verursacht. Hat sich noch keine feste Schlammdecke auf den Belebungs- oder Nachklärbecken gebildet, spricht man von Schaum. Verfestigt sich der Schaum und bildet dichte Schlammdecke auf den Belebungs- oder Nachklärbecken, spricht man von Schwimmschlamm. Schaumbildung kann auch als eigenständiges Phänomen im Faulbehälter auftreten.

Die meisten Fadenorganismen sind Bakterien, wobei auch Fadenalgen und Fadenpilze vorkommen können. Auf Kläranlagen mit biologischer Nährstoffelimination existieren ca. 30 Fadenorganismen (Eikelboom und Buijsen, 1992). Zahlreiche Untersuchungen, die in Deutschland, in Großbritannien und den Niederlanden durchgeführt wurden, haben gezeigt, dass 40% bis 50% aller Abwasserreinigungsanlagen Probleme mit dem von fadenförmigen Bakterien hervorgerufenen Blähschlamm haben (Eikelboom und Buijsen, 1992). Untersuchungen von Müller (2006) in deutschen Kläranlagen ergaben, dass *„Candidatus* Microthrix parvicella*“* (Blackall et al. 1996, in Folgenden *Microthrix parvicella* genannt) in 50% der Anlagen, nocardioforme Actinomyceten in 18% und Actinomyceten-ähnliche Organismen in 5% der Anlagen mit Schaumproblemen dominierten.
Durch die Einführung von *in-situ* Methoden ist es möglich, die einzelnen Bakterienzellen unter dem Einsatz von Oligonukleotidsonden (Gensonden) ohne Kultivierung, direkt in einer Belebtschlammprobe zu identifizieren (Amann et al., 1995; Wagner und Loy, 2002). Mit Hilfe der von Erhart et al., (1997) entwickelten Oligonukleotidsonden zur Detektion von *"Candidatus* M. parvicella*"* wurde festgestellt, dass es sich bei dem Morphotyp *M. parvicella* in verschiedenen Kläranlagen in Deutschland, Italien und Australien um denselben Organismus handelt.

2.2 Die aktive Biomasse

Die Gram-Färbung ist eine Methode um Bakterien-Spezies in zwei große Gruppen zu unterteilen: grampositive und gramnegative. Die unterschiedliche Färbbarkeit der Bakterien basiert auf den chemischen und physikalischen Eigenschaften ihrer Zellwände. Typische Vertreter der grampositiven Bakterien sind: *Bacillus, Lactobacillus, Lactococcus, Staphylococcus, Streptococcus*. Zu dieser Gruppe zählen auch fadenförmige Bakterien, wie *M. parvicella* und Nocardioforme Actinomyceten. Typische Vertreter der gramnegativen sind: *Escherichia, Salmonella, Shigella, Pseudomonas, Legionella*. Bakterien, die für Nitrifikation verantwortlich sind, werden auch zu gramnegativen gezählt.

Ein schematischer Zellwandaufbau grampositiver und gramnegativer Bakterien wird in der Abb. 2.2.1 dargestellt. Es wird deutlich, dass Zellwände grampositiver Bakterien weniger komplex aufgebaut sind als

die von gramnegativen Bakterien. Bei den grampositiven ist die Mureinschicht zu 30 - 70% an der Trockenmasse der Zellwand beteiligt (40 Schichten dick). Die an die Mureinschicht eingelagerten Teichonsäuren verleihen der Zellen zusätzliche Stabilität. Der Proteingehalt ist gering (Schlegel, 1992). Die Zellwand grampositiver Bakterien ist insgesamt ca. 20 - 28 nm dick (Büschelberger, 1987).
Bei zweiterem umgibt eine aus Phospholipiden und Lipopolysacchariden aufgebaute, äußere Membran die meist einfache Mureinschicht. Die Mureinschicht gramnegativer Bakterien ist zu weniger als 10% (bei *E. coli*) an der Trockenmasse der Zellwand beteiligt. Die äußere Membran macht dagegen bis zu 80% der Trockenmasse der Zellwand aus. Zur Erhaltung der Stabilität der äußeren Membran scheint Ca^{2+} notwendig zu sein (Schlegel, 1992).

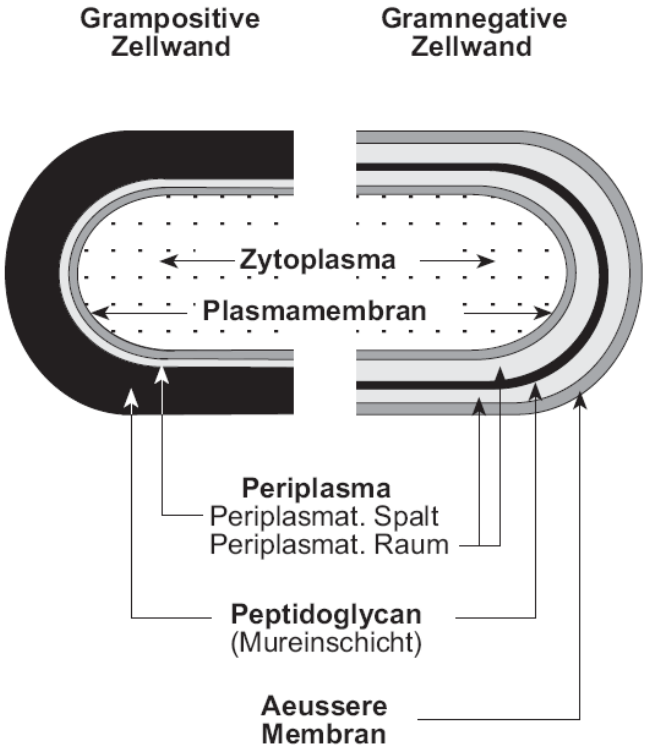


Abb. 2.2.1 Schematischer Zellaufbau der grampositiven und gramnegativen Bakterien (Fischer, 2010)

Die Vielfalt der Abwasserinhaltsstoffe bedarf zum effizienten und weitergehenden biologischen Abbau der Ausbildung einer Lebensgemeinschaft bestehend aus vielen verschiedenen Mikroorganismen (Mischbiozönose). Diese besteht aus zahlreichen spezialisierten Bakterien, welche sich in einer bestimmten Adaptationsphase an die abbaubaren Stoffe angepasst und spezifische Enzyme für den gezielten Abbau dieser Abwasserinhaltsstoffe bereitgestellt haben (Mudrack und Kunst, 1988). Die in biologischen Abwasserreinigungsanlagen auftretende Belebtschlammflocken setzen sich in 10% bis 20% aus Bakterien (Nielsen, 2002), vornehmlich gramnegativ (Pike und Curds, 1971) zusammen. Sie weisen eine unregelmäßige Verteilung innerhalb der Flocken auf (Li und Ganczarczyk, 1990). Darüber hinaus sind sie in einer von

ihnen selbst produzierten Matrix aus Extrazellulären Polymeren Substanzen (EPS) eingebettet (Wagner und Amann 1996). Die filamentösen Mikroorganismen bilden ein Rückgrat, das die Struktur der Flocke verstärkt (Schmid et al., 2003). Als Predatoren kommen Protozoen vor, in der Hauptsache Ciliaten, die sowohl die Bakterien, als auch partikuläres organisches Material fressen.

Eine typische Belebtschlammflocke stellt die in der Abb. 2.2.2 gezeigte rasterelektronenmikroskopiche (REM)-Aufnahme dar. Die reiche Bakterien-Vielfalt ist in der EPS eingebettet und befindet sich innern der Flocke. Auf der Oberfläche der Flocke sind nur einige Fadenbakterien sichtbar.

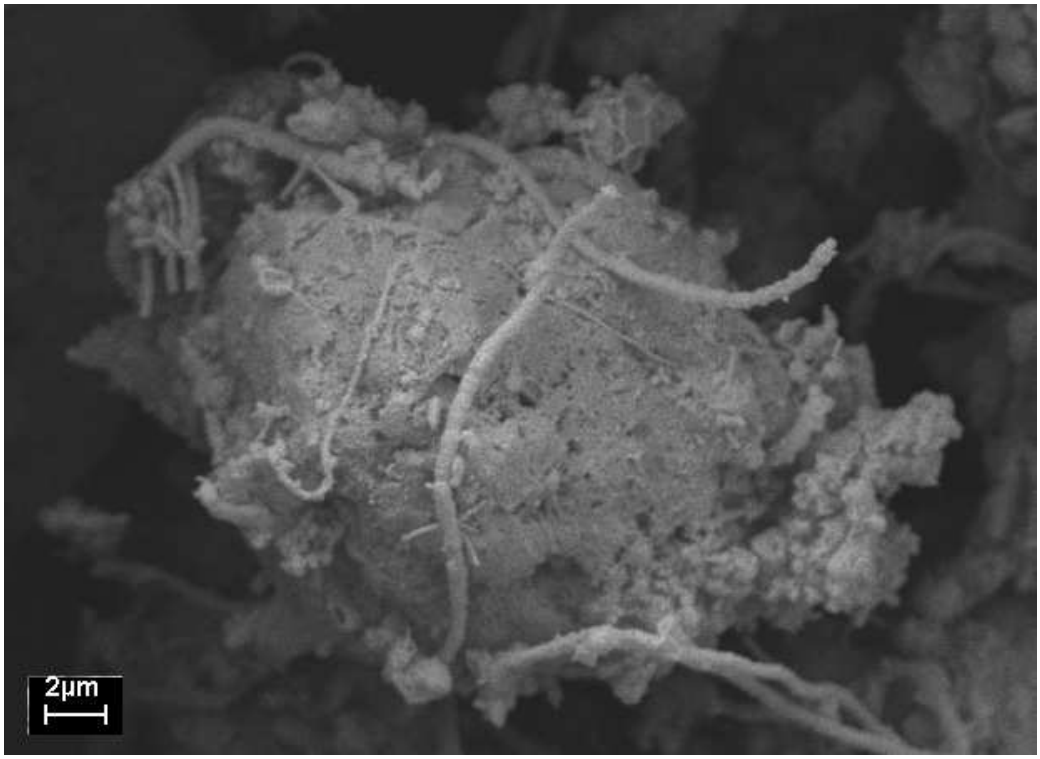


Abb. 2.2.2 REM-Aufnahme einer Belebtschlammflocke, KA Seevetal, 6.620-fache Vergrößerung

Die Versorgung der Mikroorganismen im Belebtschlamm mit Sauerstoff, Substrat und Nährstoffen erfolgt durch Adsorption und Diffusion in die Belebtschlammflocke. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist dabei von der Gestalt und den Eigenschaften einer Belebtschlammflocke abhängig. Sie ist umso höher, je kürzer die Diffusionsstrecke und kleiner die Schlammflocke ist.
Infolge des Wachstums der Belebtschlammflocken verschlechtert sich die Versorgung der Organismen im Inneren der Flocken. Deren Stoffwechselaktivität nimmt ab (s. Abb. 2.2.3).

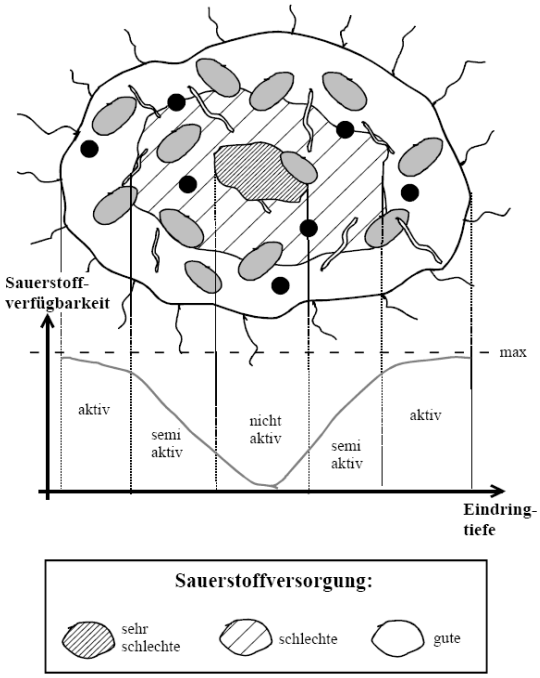


Abb. 2.2.3 Modellvorstellung der Sauerstoffverfügbarkeit in einer Belebtschlammflocke (chip GmbH und ZEK, 2005)

2.3 Das Ultraschall-Prinzip

Ultraschall stellt einen Teilbereich der Akustik dar, bei dem die Frequenzen der Schallwellen oberhalb des menschlichen Hörvermögens liegen, d.h. oberhalb von 20 kHz (Kuttruff, 1988). Das Ultraschallspektrum wird dabei in mehrere Bereiche eingeteilt (s. Abb. 2.3.1). Im niederfrequenten Bereich bis etwa 100 kHz sind vorwiegend mechanische und sonochemische Effekte zu beobachten, im mittelfrequenten Bereich bis ca. 1 MHz lässt der Einfluss der Scherkräfte aufgrund geringerer Kavitationsblasengröße nach. Ab 1 MHz spricht man von hochfrequentem Ultraschall. Die Schallwechselfolge ist bei mehr als einer Million Schwingungen pro Sekunde so groß, dass es nicht mehr zu Kavitationserscheinungen oder sonochemischen Effekten kommen kann, sondern nur noch Mikroströmungen ins Medium eingetragen werden.

Die Erzeugung von Schallwellen erfolgt durch Schallsender, die schließlich in das angrenzende Medium übertragen werden. Die Schallwellen breiten sich im flüssigen Medium aus und bewirken periodisch wechselnde Kompressions- und Entspannungsphasen (s. Abb. 2.3.2).
Im Verlauf der Entspannungsphase kommt es zur Bildung von mikroskopischen Blasen, die mit Wasserdampf oder Gas gefüllt sind. Kurzzeitig können Drücke bis zu 500 bar und Temperaturen bis ca. 5.000 K auftreten (Suslick, 1988). Diese Blasen wachsen kurzfristig mit der oszillierenden Schallbewegung an.

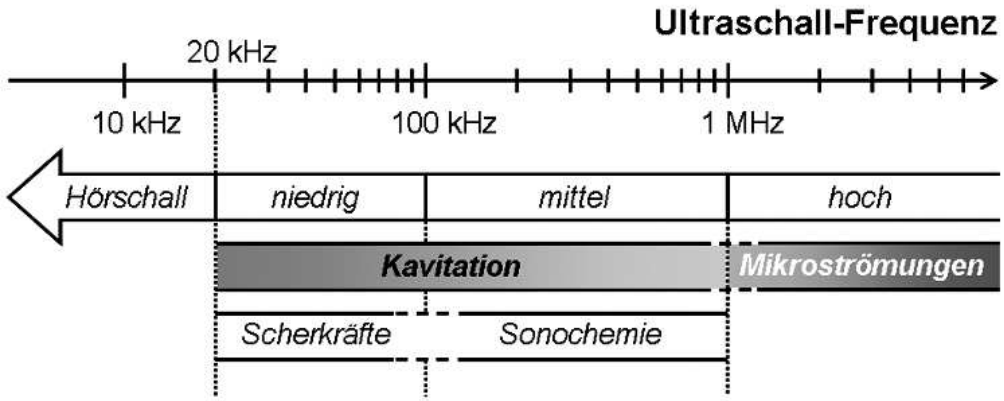


Abb. 2..3.1 Ultraschall-Frequenzbereiche und dominierende Prozesse (Neis und Tiehm, 1999)

Nach Erreichen ihres maximalen Radius werden sie instabil und kollabieren (Kavitation) in wenigen Nanosekunden.
Im Abstand von 2,5 mm von der Blase beträgt die Druckamplitude 4 bar (Wang et al., 1999). Die auftretende Scherkräfte („Jetstreams“) sind fähig, die Zellstrukturen aufzubrechen.

Infolge der extremen lokalen Temperaturen und der erheblichen Drücke für extrem kurze Zeitdauer werden zusätzlich bei der Implosion der Blasen die Wassermolekülen zu Radikalen („Hot Spot“) gespalten (Suslick, 1988). Diese hochreaktiven Wasserstoff- (H•) und Hydroxylradikale (OH•) sind in der Lage, jede organische Substanz in der Zelle sofort zu oxidieren (Madigan et al., 2001).

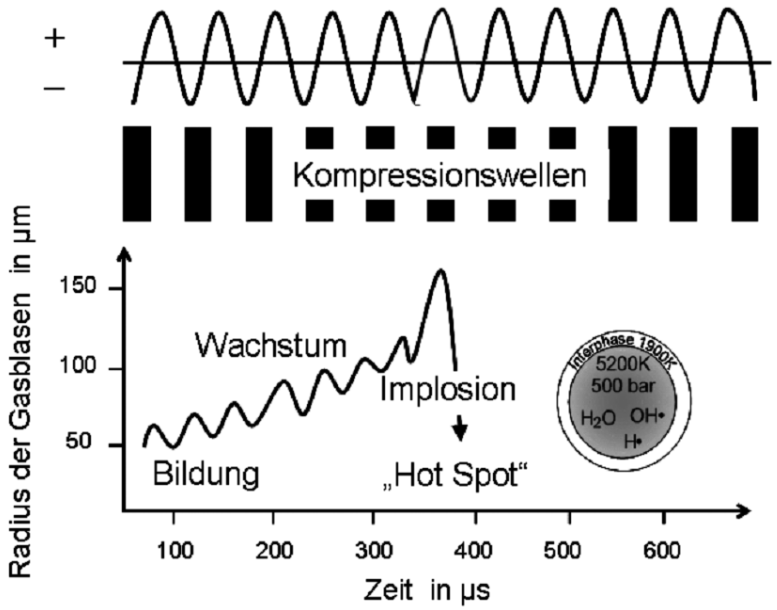


Abb. 2.3.2 Wachstum und Implosion von Kavitationsblasen im Ultraschallfeld (Suslick, 1988)

2.4 Einfluss des Ultraschalls auf die Biomasse

Alliger (1975) untersuchte die Wirkung des Ultraschalls auf die grampositiven und gramnegativen Bakterien. Er kam zum Ergebnis, dass der Zellwandaufbau eines Bakteriums entscheidenden Einfluss auf die Wirkung des Ultraschalls haben müsse. In seinen Versuchen reagierten grampositive und gramnegative Bakterien unterschiedlich auf Beschallung, wobei der Hauptunterschied der beiden Gruppen im Aufbau der Zellwand zu finden ist. Laut Büschelberger (1987) lassen sich die grampositive Bakterien wegen der wesentlich dickeren, mehrschichtigen, dreidimensional vernetzten Mureinschicht schwerer aufschließen. In der Abb. 2.4.1 wird die Zellzerstörung durch hydrodynamische Kavitation in drei Etappen erläutert. Im ersten Schritt kommt es zur mechanischen Beanspruchung der äußeren Zellmembran (Zellwand). Infolge dessen wird ein Teil der periplasmatischen Enzyme und Proteine in die flüssige Phase freigesetzt. Als nächstes soll die innere Zellmembran (Zytoplasmamembran) durchgebrochen und die zytoplasmatische Zellinhaltsstoffe teilweise freigesetzt werden. Im dritten Schritt nimmt die Zerstörung der äußeren und inneren Zellmembran zu (Balasundaram und Harrison, 2006).

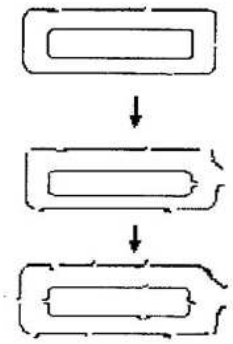


Abb. 2.4.1 Schematische Darstellung der Zellzerstörung durch hydrodynamische Kavitation (Balasundaram und Harrison, 2006)

Wird Belebtschlamm-Biomasse mit einem geringen Energieeintrag beschallt, so kommt es zum Zerfallen fadenförmiger Bakterien, die freischwimmen oder aus den Flocken herausragen. Im nächsten Schritt werden die EPS aufgelöst und die Belebtschlammflocken zerlegt. Diese Zerlegung führt zu einer Verkürzung der Diffusions- und Transportwege für Sauerstoff, Substrat und Nährstoffe und damit zu einer besseren Versorgung der Mikroogrganismen im Inneren (Riedel und Neis, 2007).

Mit zunehmendem Energieeintrag setzt ein Aufschluss der Mikroorganismen ein und die biologischen Aktivität nimmt ab. Die Zellwände werden zerstört und die Zellinhaltsstoffe in die Schlammwasserphase freigesetzt.

Eine Vielzahl von Daten (s. Abb. 2.4.2) zeigen, dass die Freisetzung von gelösten Proteinen aus Belebt-

schlamm-Biomasse durch Ultraschall linear zum Energieeintrag verläuft und sich im Prinzip beliebig steigern lässt. Bei der Betrachtung des Energiespektrums < 15Wh/l beträgt eine maximal freigesetzte Proteinmenge 18 mg/g oTS (1,8%). Im Vergleich mit einer chemisch (Aufschluss mit Natriumhydroxid) maximal freigesetzten Proteinmenge von 34% der organischen Belebtschlammmasse ist die durch Beschallung freigesetzte Proteinmenge niedrig. Dennoch stellen sich erstaunliche Effekte ein, wie die im nächsten Abschnitt vorgestellten Ergebnisse belegen.

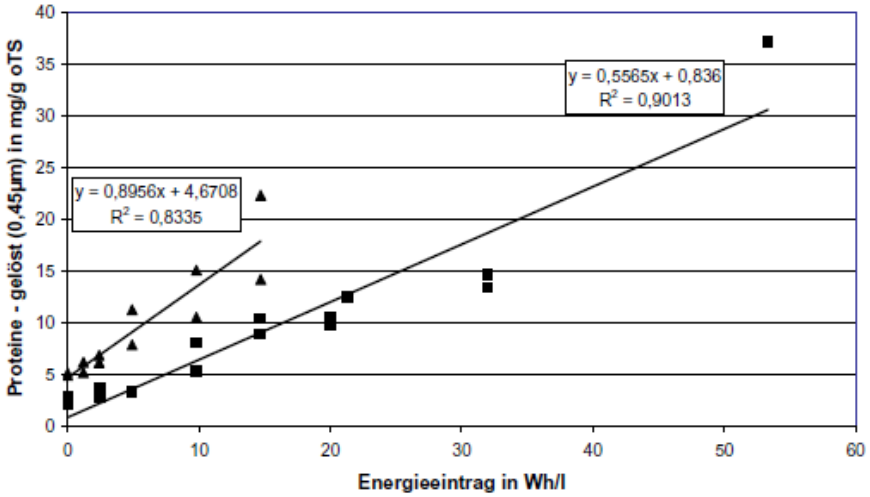


Abb. 2.4.2 Proteinfreisetzung durch Beschallung (Riedel und Neis, 2007)

Dass die Anwendung von Ultraschall zusätzlich zu einer deutlichen Erhöhung der Durchlässigkeit von Zellmembranen führt, konnte in frühen Experimenten gezeigt werden (Baumgartl, 1949; Mendez, 1976).

Dinno et al. (1989) haben bei ihren Experimenten mit Epithelzellen nachgewiesen, dass Ultraschall die Permeabilität von Membranen für den Transport von Ionen erhöht.

Liu et al. (2007) wiesen in einem Batch-Experiment 15%-ige Erhöhung der Dehydrogenaseaktivität nach einer Behandlung des Belebtschlammes mit der Ultraschall-Intensität von 0,3 W/cm^2 und der Beschallungszeit von 15 Minuten auf. Darüber hinaus haben die Autoren festgestellt, dass Ergebnisse der Bestimmung der DHA und des Sauerstoffverbrauchs miteinander korrelieren.
Andere Untersuchungen erlauben den Schluss, dass schon bei einem geringen Energieaufwand in Folge der Ultraschallbehandlung das Verhalten von der Biomasse beeinflusst wird. Sun (2006) konnte eine Steigerung der Geschwindigkeit des Sauerstoffverbrauchs von 47% bei einem geringen Energieeintrag von ca. 2,5 Wh/l nachweisen. Nach einer Behandlung mit einem Energieaufwand von 3,7 Wh/l erreichte Mutlu (2007) eine Erhöhung der DHA im Belebtschlamm von bis zu 80%.
Liu et al. (2005) haben in einem Batch-Experiment gezeigt, dass die Stimulation des Belebtschlammes

durch Ultraschall bis zu 24 Stunden anhalten kann, wobei das Maximum der biologischen Aktivität nach etwa 8 Stunden erreicht wurde. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die gesteigerte Aktivität durch eine Abwehrreaktion der Organismen entsteht, die durch den mechanischen Stress der Beschallung hervorgerufen wurde. Die schädigenden Einflüsse aus der Beschallung werden als reversibel betrachtet, sodass sich die höchste Aktivität erst nach einer Erholungsphase einstellt.
Christi (2003) ging bei der Interpretation der Wirkung von kontrolliertem Ultraschalleintrag noch weiter. Er zitierte Quellen, die durch Einsatz von Ultraschall eine verbesserte Membrandurchlässigkeit, einen erhöhten Gentransfer und eine Beschleunigung enzymatischer Reaktionen nachgewiesen haben.

Rai et al. (2004) untersuchten die Reduktion der Biomasseproduktion durch Ultraschallbehandlung. Dabei wurde ein konstanter Volumenstrom von 0,2 - 0,9 l/min beschallt. Das Reaktorvolumen betrug 5 - 10 l und der durchschnittliche TS-Gehalt 4,8 g/l. Bei einem niedrigen Energieeintrag von 3,8 Wh/l wird eine Reduktion der Flockengröße und bei einem erhöhten Energieeintrag von ca. 48 Wh/l eine Reduktion des Ertragskoeffizienten von 27% festgestellt. Die Intensivierung des Energiestoffwechsels soll durch eine gesteigerte Verfügbarkeit von organischem Substrat und Sauerstoff sowie der Freisetzung nichtaktiver Organismen begünstigt werden.

Inzwischen wurde in Batch-Versuchen die Nutzung des aufgeschlossenen Belebtschlammes als zusätzliche Kohlenstoffquelle für den Prozess der Denitrifikation untersucht. Der aufgeschlossene Belebtschlamm zeigte sich als leicht verfügbares organisches Material für den Prozess der Denitrifikation (Kunz und Wörne, 1998; Riedel und Neis, 2007). Die Freisetzung vom gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) aus Belebtschlamm-Biomasse durch Ultraschall verläuft linear zum Energieeintrag, wie bei der Proteinfreisetzung. Bei der Betrachtung des Energiespektrums < 10Wh/l beträgt eine maximal freigesetzte Kohlenstoffmenge etwa 30 mg/l (eigene Ergebnisse). An dieser Stelle kommt die Frage auf, ob es möglich ist, mit der infolge der Beschallung freigesetzten, geringen Mengen an Kohlenstoff das C/N-Verhältnis im Denitrifikationsbecken ausreichend zu optimieren. Ebenfalls ist es noch unklar, inwieweit das Verhalten der gesamten Biomasse durch Beschallung im Denitrifikationsbecken beeinflusst wird.

Laut Büschelberger (1987) lassen sich die grampositive Bakterien wegen der wesentlich dickeren Mureinschicht schwerer aufschließen. Infolge dessen, könnte man erwarten, dass durch die Auflösung eines Teils des Belebtschlammes, es zu einer Verschiebung in der Belebtschlamm-Population kommen kann. Was bedeutet dann diese Annahme für den biologischen Abwasserreinigungsprozess? Kann, wie bei der Intensivierung der anaeroben Schlammstabilisierung eine Verringerung der überschüssigen Biomasse erzeugt werden?

2.5 Bisherige Ansätze in der Belebtschlammtechnik

An unterschiedlichen Stellen im Verfahrensprozess einer Kläranlage kann die Ultraschalldesintegration eingesetzt werden (s. Abb. 2.5.1).

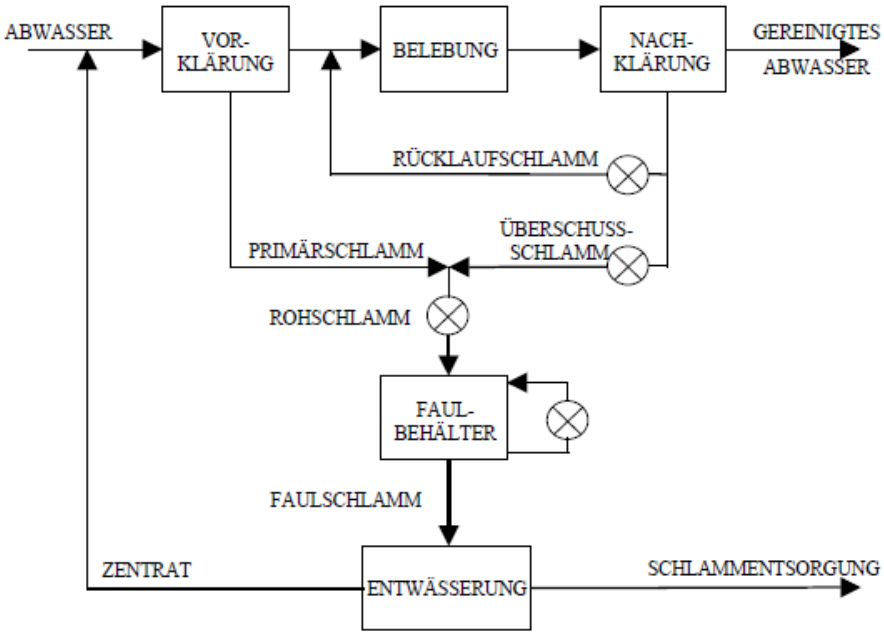


Abb. 2.5.1 Anwendungsmöglichkeiten der Ultraschalldesintegration (⊗) zur Intensivierung der biologischen Schlammbehandlung (Nickel, 2002)

In vielen Kläranlagen mit biologischer Nährstoffelimination wird meist saisonal ein massenhaftes Wachstum fadenförmiger Bakterien im Belebtschlamm beobachtet. Das Ultraschallverfahren wird hier für die Zerstörung der fädigen Schlammstrukturen eingesetzt. Darüber hinaus sollen die Sedimentationseigenschaften verbessert und die aerobe und/oder anaerobe Schlammstabilisierung ohne Betriebsprobleme gewährleistet werden. Die Untersuchungen von Neis (2005) zur Blähschlammbekämpfung in dieversen Kläranlagen bestätigen, dass die strukturelle Fädigkeit durch Ultraschallbehandlung des Überschussschlammes deutlich reduziert werden kann. Die filamentösen Strukturen werden mechanischen aufgebrochen und die Oberflächeneingeschaften der Schlammmatrix verändert.
Bei der Bekämpfung von Bläh- und Schwimmschlamm wird der Ultraschall auch für die Behandlung vom Rücklaufschlamm eingesetzt. Die kontinuierliche Beschallung von 1% des Rücklaufschlammes hat das Blähschlammauftreten in der Kläranlage Seevetal erfolgreich gelöst (Puschkarjowa, 2007).

Das wachsende Problem der Klärschlammentsorgung hat in jüngster Zeit Forschungsaktivitäten ausgelöst, die darauf abzielen, biologische Systeme zur Abwasserreinigung mit möglichst geringer Schlamm-

produktion zu entwickeln. Alle nachgeschalteten Systeme zur Behandlung und Entsorgung der überschüssigen Biomasse können nachfolgend entsprechend kleiner ausgelegt werden. Eine Möglichkeit hier stellt eine Behandlung vom Rücklaufschlamm dar. Allerdings liegen hier, im Vergleich zu Untersuchungen zur anaeroben Schlammstabilisierung, bisher wenig systematische Erkenntnisse vor.
Eine erste Pilot-Untersuchung über den Einsatz der Rücklaufschlammdesintegration wurde 2002 auf dem Klärwerk Ditzingen durchgeführt. Im System mit Ultraschallbehandlung des rückgeführten Belebtschlammes erhöhte sich das Schlammalter im biologischen System sehr deutlich. In einer Einstellung wurde sogar kein Überschussschlamm mehr erzeugt (Diehm, 2005).

In der thüringischen Kläranlage Leinetal wird seit 2003 etwa 30% der täglichen Überschussschlammmenge nach mechanischer Eindickung mit Ultraschall behandelt und zurück in die biologische Abwasserreinigung geführt. Neben der Reduktion der zu entsorgenden Restschlammmenge konnten zugleich massive Probleme mit Bläh- und Schwimmschlammbildung in der Abwasserreinigung beseitigt und somit ein stabiler Kläranlagenbetrieb erzeugt werden (Poetsch, 2005).

Die sehr niedrigen Stickstoff-Grenzwerte machen eine gezielte Stickstoff-Elimination erforderlich, wobei der Prozess der Denitrifikation vielfach in belastungsschwachen Zeiten nur unter einem externen Einsatz von Wasserstoff-Donatoren ablaufen kann. 2006 wurde eine Ultraschall-Desintegrationsanlage zur Gewinnung der internen Kohlenstoffquelle in der KA Bünde installiert. 40% bis 50% des eingedickten Überschussschlammes (4 - 5% TS) wird für die Belebung und Faulung mit einem Energieeintrag von 5 Wh/l behandelt (Paust, 2007). Kemalides (2007) berichtet über eine signifikante Verbesserung der Denitrifikation in der Kläranlage Bünde. Durch eine Ultraschallbehandlung des eingedickten Überschussschlammes konnte eine Verminderung der Nitratablaufwerte erzielt werden. Neben der Intensivierung des Stickstoffsabbaus wurde eine wesentliche Reduktion der Biomasseproduktion festgestellt.

Die erzielten Effekte bei der Ultraschallbehandlung des Rücklauf- und Überschussschlammes können noch nicht ausführlich erklärt werden. Die Arbeitsgruppe an der TU Hamburg-Harburg hält für mögliche Ursachen: die Intensivierung des Energiestoffwechsels durch eine gesteigerte Verfügbarkeit von organischem Substrat, die Auflösung eines Teils des Belebtschlammes durch Ultraschall und anschließende Veratmung der Zellbestandteile (cryptic growth, kryptisches Wachstum). In diesem Zusammenhang wird die Wirkung des Ultraschalls auf die Kinetik der enzymatisch-biologischen Prozesse der Abwasserreinigung ermittelt. Des Weiteren werden systematische Erkenntnisse über den Einfluss des Ultraschalls auf den Biomasseertrag erarbeitet. Ebenfalls ist zu klären, inwieweit die Qualität des gereinigten Abwassers durch die Prozesse mit minimaler Schlammproduktion beeinflusst wird.

3 Materialien und Methoden*

3.1 Herkunft der Belebtschlämme

Für kontinuierliche Einsätze in einer Versuchsanlage und für Batch-Experimente wurde Belebtschlamm aus der kommunalen Kläranlage Seevetal verwendet. Für die Diversitäts-Analyse der nitrifizierenden Bakterien wurde Belebtschlamm aus der KA Seevetal und KA Bünde verwendet. Die Belebtschlämme wurden frisch geliefert und direkt eingesetzt oder bis zum weiteren Gerbrauch bei ständiger Belüftung in einer dunklen Kammer gelagert.

Die KA Seevetal wurde 1966 in Betrieb genommen und hat heute eine Reinigungskapazität für häusliche Abwässer von ca. 165.000 Einwohnerwerten. Der Einzugsbereich umfasst sechs Gemeinden mit einer Gesamtfläche von ca. 50.000 ha. In den letzten Jahrzehnten wurde aufgrund des weiteren Ausbaus des Schmutzwasserkanalnetzes und der sich stetig verschärfenden gesetzlichen Anforderungen bezüglich der Einleitung des gereinigten Abwassers in die Seeve, die Kläranlage in mehreren Bauabschnitten erweitert (Schulze, 2004).

Die lichtmikroskopische Untersuchung einer Belebtschlammprobe aus der KA Seevetal ergibt, dass die meisten Flocken als mittlere Größe (100 µm bis 500 µm) eingestuft werden konnten. Die kleinen unter 100 µm und die großen Flocken über 500 µm, waren weniger vorhanden. Die kleinen Flocken waren rundlich und kompakt aufgebaut, bei den mittleren und großen Flocken konnte keine reguläre Struktur beobachtet werden. Es kamen auch Flockenagglomerate und zahlreiche Protozoen *(Chilodonella* spp*., Cephalodella* spp*., Philodina* spp*., Zoothamnium* spp*., Epistylis* spp*., Vorticella convallaria*, Nematoden, Schalenamöben) mit der Dominanz von Ciliaten (Wimperntierchen) vor. Außer den Flocken wurden zahlreichen Filamenten, die innerhalb der Flocken lagen, freischwammen aber auch aus den Flocken herausragten beobachtet. Als dominierende Fadenbakterien wurden *M. parvicella* und Eikelboom Typ 0041/ 0675 eingestuft. Als untergeordnete Fadenbakterien wurde *Isosphaera* spp. eingestuft. Aufnahmen der lichtmikroskopischen Schlammuntersuchung werden im Anhang aufgeführt.

Die KA Bünde wurde 1962 in Betrieb genommen und hat heute eine Reinigungskapazität von ca. 54.000 Einwohnerwerten. Aufgrund der Verschärfung der Einleitungsanforderungen wurde die KA Bünde in den Jahren 1996 bis 1999 erweitert. Das Einzugsgebiet umfasst das gesamte Stadtgebiet Bünde mit den anschließenden Industrie- und Gewerbebetrieben.
Im Dezember 2006 wurde eine Ultraschall-Desintegrationsanlage der Fa. Ultrawaves zur Reduzierung der Stickstoffablauffrachten in der KA Bünde installiert (Paust, 2007). 40% bis 50% des eingedickten

* Die Zusammensetzungen und Konzentrationen der im Folgenden benannten Lösungen sowie alle verwendeten Materialen werden im Anhang angegeben

Überschussschlammes (4 - 5% TS) wird von zwei in Reihe verschalteten Ultraschallreaktoren für die Belebung und Faulung desintegriert.

In der Belebtschlammprobe aus der KA Bünde kam es zur deutlichen Anhäufung von offenen, kräftigen, unregelmäßigen Flockenstrukturen, die eine überwiegend mittlere Größe aufweisen. Es kamen auch Flockenagglomerate und zahlreiche Protozoen mit der Dominanz von Vorticella und Epistyliskolonien vor. Die Ciliaten konnten nicht festgestellt werden. Als dominierende Fadenbakterien wurden Eikelboom Typ 0041/0675 und *Nostocoida limicola* II eingestuft. Als untergeordnete Fadenbakterien wurde *Isosphaera* spp. eingestuft.

Hier die Kennwerte der KA Bünde und KA Seevetal:

Tab. 3.1.1 Kennwerte der KA Bünde und KA Seevetal im Durchschnitt (im 2009)

Zulauf [mg/l]	**Seevetal**	**Bünde**
BSB_5	457	230
CSB	794	500
NH_4-N	60	30
P_{ges}	12,9	6,5
Ablauf [mg/l]	**Seevetal**	**Bünde**
BSB_5	-	3
CSB	29,6	20
N_{ges}	12,5	6,5
P_{ges}	0,6	0,8
Schlammalter [Tage]	22 - 25	22
Denitrifikation	vorgeschaltet	simultan
Anlagengröße [EW]	165.000	54.000

3.2 Verwendete Bakterienstämme

Da im Belebtschlamm zahlreiche und vielfältige Organismen zu finden sind, die in einer heterogenen Schleim-Matrix leben, ist es schwierig die Wirkung des Ultraschalls auf die Belebtschlamm-Biomasse zu interpretieren. Aus diesem Grund wurden zwei Vertreter des Belebtschlammes *Microthrix parvicella* und

Pseudomonas aeruginosa als Reinkulturen untersucht. Die Herkunft der Stämme s. Tab. 3.2.1.
Die *M. parvicella* ist grampositiv. Die stark gebogenen, häufig gekrümmten Fäden bilden manchmal wirre Knäuel um und innerhalb der Flocken (Eikelboom et al., 1992).
Auffällig ist das überwiegende Auftreten dieses Fadenorganismus in schäumenden Anlagen (Wagner und Amann 1996).

Die *P. aeruginosa* ist gramnegativ. Ein Stäbchen ist 1 - 2 µm großer, weit verbreiteter Boden- und Wasserkeim.
Pseudomonas-Bakterien wurde auch als denitrifizierendes Bakterium im Belebtschlamm identifiziert (Seviour et al., 2009).

Tab. 3.2.1 Verwendete Bakterienstämme

Bezeichnung	Quelle
Pseudomonas aeruginosa, AdS, Wildstamm	Institut für Wasserwirtschaft der TUHH
Microthrix parvicella, STA4	Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft

3.3 Nährmedien

Die Anzucht von Bakterienkulturen *P. aeruginosa* erfolgte in LB Medium bei 36°C, 24 h lang ruhend (140 rpm) in dunklen Kammer.
Die Anzucht von Bakterienkulturen *M. parvicella* STA4 erfolgte in R2A Flüssigmedium mit einem Zusatz von Tween 40 bei 20°C, 10 - 12 Tage lang ruhend (120 rpm) in dunklen Kammer.

Für die kontinuierlichen Einsätze mit dem Belebtschlamm wurde das synthetische Abwasser nach DIN 38 412 Teil 24 und nach Hao et al. (2009) modifizierter Form verwendet. Diese Rezeptur repräsentiert ein Abwasser, bei welchem neben einer Eliminierung organischen Kohlenstoffs auch eine normale Nitrifikation und in anaeroben Bedingungen auch eine Denitrifikation möglich ist.

Tab. 3.3.1 Zusammensetzung des synthetischen Abwassers in mg/l

Einsatz	BSB_5	CSB	DOC	TN	NH_4-N
1, 2, 4	195	370	125	48,3	1,6
3	_	190	64	42	37

3.4 Analysemethoden

3.4.1 Mikroskopische Untersuchung

3.4.1.1 Lichtmikroskopische Untersuchung

Die Belebtschlammproben wurden mit dem Lichtmikroskop (BX 41, Olympus) bei unterschiedlichen Vergrößerungen analysiert. Für die Bestimmung der Gestalt und Struktur der Flocken wurden die Proben im nativen Zustand bei 100-facher Vergrößerung untersucht. Die Identifizierung von Fadenbakterien erfolgte anhand des Bestimmungsschlüssels für fadenförmige Organismen im Belebtschlamm von Eikelboom und van Buijsen (1992). Für die Identifizierung wurden zusätzlich die Referenzbilder und Beschreibungen von Kunst et al. (2000) herangezogen. *Isosphaera*-Filamente wurden anhand der Beschreibung von Staley et al. (2006) bestimmt. Folgende Färbungen waren hilfreich: Gram-Färbung, Neisser-Färbung, Kristallviolett-Färbung. Die Proben waren hierfür bei 1.000-facher Vergrößerung mikroskopiert.
Für die digitalen Aufnahmen verwendete man eine an das Mikroskop gekoppelte Digitalkamera (C3040 ZOOM, Olympus).

3.4.1.2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM) ist es möglich eine Oberfläche durch einen Elektronenstrahl abzutasten. Im Gegensatz zur Vergrößerung eines Lichtmikroskops (maximal ca. 1.000-fach) kann mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops eine Vergrößerung bis zu 900.000-fach erreicht werden. Eine visuelle Betrachtung von REM-Aufnahmen wurde hierfür eingeschlossen um mögliche morphologische Änderungen von Zellen zu beobachten.

Für die Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung wurde eine frische Probe des Belebtschlamms mit 2,5% Glutaraldehyd in PBS-Puffer im Verhältnis 1 : 1 bei 4°C über Nacht fixiert. Nach dreifachem Waschen mit dem PBS-Puffer wurden die Proben mit steigender Acetonkonzentration (15, 30, 50, 70, 90, 100%) für je 5 Minuten bei 4°C und zusätzlich 5 Minuten mit 100% Aceton bei Raumtemperatur inkubiert. Das in 100% Aceton befindliche Präparat wurde in ein poröses Probentöpfchen übertragen, in der Proben-Druckkammer eines Kritisch-Punkt-Trockners (CPD7501) eingesetzt und Anschließend das Medium Aceton durch das flüssige Medium CO_2 ausgetauscht. Danach wurde die Druckkammer auf eine Temperatur von 40°C erhitzt. Bei einer Temperatur von 31°C und einem Druck von 73,8 bar ist der kritische Punkt für CO_2 erreicht und schlägt schlagartig von flüssig zu gasförmig um.

Damit waren die Präparate trocken. Das getrocknete Präparat wurde auf Probenhalter aufgeklebt und in die Sputteranlage (SCD 0050, BAL-TEL) eingeführt. Die Luft innerhalb der Kammer wurde durch Argon ausgetauscht und das Präparat mehrfach kurz mit Gold besputtert (100 bis 120 Sekunden). Das Präparat war damit für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet (Mikroskop Leo 1530).
Die REM-Aufnahmen wurden im Bereich Elektronenmikroskopie an der TU Hamburg-Harburg angefertigt.

3.4.1.3 Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung

Die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ist ein wichtiges Werkzeug für die Untersuchung der biologischen Ultrastrukturen. Im Gegenteil zur Rasterelektronenmikroskopie kann mittels eines Transmissionselektronenmikroskops das Innere eines Objekts mit Elektronen abgebildet werden.

Für die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung wurde der Belebtschlamm nach Spurr (1969) eingebettet. Eine frische Probe wurde mit 2,5% Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer (Arsenatpuffer) für 1-2 Stunden lang fixiert. Nach dreifachem Waschen der Probe mit Cacodylatpuffer wurde das Pellet über Nacht bei 4°C in 1% OsO_4 in Cacodylatpuffer kontrastiert. Nach wiederholtem dreifachen Waschen mit Cacodylatpuffer wurden die Proben mit steigender Acetonkonzentration (15, 30, 50, 70, 90 und 100%) für je 5 Minuten bei 4°C und zusätzlich 5 Minuten mit 100% Aceton bei Raumtemperatur inkubiert und danach in ein Spurr-Einbettungsgemisch infiltriert (s. Tab. 3.4.1.3.1).

Tab. 3.4.1.3.1 Einbettungsschema nach Spurr (1969)

Spurr : Aceton 100%	**Inkubationszeit [h]**
1 : 3	1 - 2
1 : 1	1 - 2
3 : 1	2 - 4
100% Spurr	über Nacht

Anschließend wurden die Proben in Gelantinekapseln gebracht und mit Spurr überschichtet. Die Polymerisation erfolgte für 24 Stunden bei 70°C. Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Ultramikrotom (OmU2, Reichert-Jung) und einem Diamantmesser (Diatomee) angefertigt.
Die 70 - 80 nm dünnen Schnitte wurden mit Movital (Polyvinylformaldehyd in 0,25% Chloroform) befilmten Kupfernetzchen aufgelegt. Mit 5% Uranylacetat in Methanol und Bleicitrat wurde 10 Minuten nachkontrastiert. Danach konnten die Proben mit dem Transmissionselektronenmikroskop (Leo 906E) untersucht

werden.
Die Anfertigung der Ultradünnschnitte und die Bildaufnahme erfolgte im Bereich der Elektronenmikroskopie an der Universität Hamburg.

3.4.2 Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisation

Der *in-situ*-Nachweis mit Hilfe rRNA-gerichteter fluoreszierender Gensonden ermöglicht einen schnellen, eindeutigen und von der Morphologie unabhängigen Nachweis vieler Bakterienarten im Belebtschlamm (Wagner et al., 1996).
Gensonden sind definierte Genabschnitte, die sich an die exakt passenden Abschnitte der Bakteriengene anlagern. Die nicht gebundenen Gensonden werden durch einen Waschschritt entfernt.
Nach der Anregung mit Licht (z.B. im blauen oder grünen Wellenlängenbereich) beginnen die Bakterien unter dem Mikroskop zu leuchten - je nach Farbstoff beispielsweise rot oder grün.

Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) - Technik wurde für die Diversitäts-Analyse nitrifizierender Bakterien aus der KA Seevetal und KA Bünde angewendet. Seit Dezember 2006 wurde in der KA Bünde eine Ultraschallanlage für die Steigerung des Stickstoffumsatzes eingesetzt. Als Referenz diente Belebtschlamm aus der KA Seevetal. Die entsprechenden Proben wurden für die FISH-Untersuchung im Juli 2009 entnommen.

FISH wurde generell nach Nielsen (2009) durchgeführt.
Die Belebtschlammproben wurden mit gekühlter 8% p-Formaldehydlösung im Verhältnis 1 : 1 versetzt und 1 h auf Eis bzw. über Nacht bei 4°C fixiert.
Nach dem Abzentrifugieren wurde der Belebtschlamm mit PBS-Puffer durch erneute Zentrifugation gewaschen. Zum Schluß wurde der Belebtschlamm mit PBS und 96% Ethanol im Verhältnis 1 : 1 versetzt und bei -18°C gelagert.
Für die mikroskopische Untersuchung wurden die fixierten Proben auf den Objektträger gegeben und in einer Ethanolreihe dehydriert. Anschließend hat man 8 µl Hybridisierungspuffer auf die Proben pipettiert und 1 µl Oligo-Nukleotidsonden-Lösung darin suspendiert. Für die Hybridisierung wurden die Objektträger in 50 ml Falkon-Tube mit feuchtem Laborpapier in einen Wärmeschrank bei 46°C für 1,5 h inkubiert. Durch Zugabe von 50 ml Waschpuffer in die Falkon-Tube wurden die Objektträger 20 Minuten im Wasserbad bei 48°C gewaschen, um das Formamid und die nicht gebun-denen Sonden zu entfernen.
Zur Visualisierung der Gesamtzellzahl wurde nach der Hybridisierung mit dem Fluoreszenzfarbstoff DAPI nachgefärbt. Dazu wurden in jede Aussparung 20 µl der DAPI-Lösung pipettiert und 15 min bei 4°C inku-

biert. Die Objektträger wurden zur Verringerung von Ausbleicheffekten der Fluoreszenzfarbstoffe in Citifluor AF1 (Citifluor Ltd, London, UK) oder mit Vectashield (Vector. Laboratories, Burlingame, CA) eingebettet und unter dem Mikroskop Axioplan 2 (Zeiss) und TCS Sp5 (Leica) betrachtet. Mit Axioplan 2 wurde im Institut für Wasserressourcen und Wasserversorgung an der TU Hamburg-Harburg gearbeitet und mit dem TCS Sp5 im Bereich Fließgewässerökologie am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH in Magdeburg.

Die Quantifizierung der Bakterien erfolgte mit Hilfe von Kategorien: 1 - sehr wenige Zellen, 2 - wenige Zellen, 3 - mäßig viele Zellen, 4 - viele Zellen, 5 - sehr viele Zellen.
Mehrere Gesichtsfelder jeder Probe wurden mit Hilfe des Bestimmungsschlüssels analysiert. Jedes Gesichtsfeld wurde entsprechend des Bestimmungsschlüssels einer Gruppe zugeordnet und die Werte aufaddiert. Anschließend wurde der numerische Durchschnitt aus allen Eingruppierungen gebildet (Gesamtsumme der Werte dividiert durch die Anzahl der ausgewerteten Gesichtsfelder). Der erhaltene Mittelwert zeigt die Zugehörigkeit der untersuchten Probe zu einer Gruppe des Bestimmungsschlüssels.

3.4.3 Bestimmung der Enzymaktivität

Eine Methode zur Bestimmung mikrobieller Aktivität von Mikroorganismen stellt die Bestimmung der Aktivität bestimmter Enzyme, die für die Oxidation von Substrat erforderlich sind dar. Dabei ist das eng mit dem oxydativen Substratstoffwechsel verbundene Enzym Dehydrogenase bedeutsam. Durch die Messung der in der Biomasse enthaltenen Dehydrogenase kann Aufschluss über die mikrobielle Aktivität gewonnen werden. Eine Dehydrogenase ist ein Enzym, das sein Substrat durch Abspaltung von Wasserstoffatomen oxidiert. Der abgespaltene Wasserstoff wird über Co-Enzyme wie NAD^+ oder FAD in die Atmungskette eingeschleust oder für biochemische Reduktionsschritte verbraucht (Obst, 1995).
Da die Dehydrogenasen im Enzymsystem sämtlicher Mikroorganismen vorhanden sind, gibt die Dehydrogenaseaktivität einen Aufschluss über den Stoffwechselzustand der Biomasse.

Im Rahmen dieser Studie wurde die Dehydrogenaseaktivität (DHA) nach Lopez et al. (1986) bestimmt. Dabei wurde das farblose Tetrazoliumsalz 2-p-Iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-2H tetrazoliumchlorid (INT) verwendet, das als künstlicher Elektronen-Endakzeptor diente.
Mit Hilfe der im Belebtschlamm enthaltenen Dehydrogenasen wurde INT zum roten Formazan (INTF) umgesetzt. Das INTF wurde anschließend mit Aceton aus den Mikroorganismen extrahiert und bei der Wellenlänge von 490 nm photometrisch (Photometer, Jasco V-550) bestimmt.
Die spezifische Dehydrogenaseaktivität DHA wurde in mg O_2/(gTS d) angegeben.

3.4.4 Bestimmung der Atmungsaktivität

Die Messung des Sauerstoffverbrauches ist neben der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität eine Methode zur Beurteilung der biologischen Aktivität, in dem Fall der Atmungsaktivität, im Belebtschlamm auftretender Mikroorganismen. Der Sauerstoffverbrauch wird durch die mikrobielle Oxidation eines Substrates hervorgerufen. Durch eine Verwendung eines spezifischen Substrats kann die Atmungsaktivität nitrifizierender Bakterien im Belebtschlamm ermittelt werden.
Das Prinzip dieser Untersuchung wurde von Hao et al. (2009) übernommen.

Für eine Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs nitrifizierender Bakterien wurden für jede Probe immer drei Messungen durchgeführt. Die erste erfolgte ohne Substratzugabe, um die endogene Atmung zu ermitteln, die zweite mit Zugabe einer NH_4Cl-Lösung (Substratlösung) für die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs von ammoniakoxidierenden Bakterien und die dritte Messung mit Zugabe von einer $NaNO_2$-Lösung (Substratlösung) für die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs von nitritoxidierenden Bakterien.

Die Atmungsaktivitäten von Nitrifikanten wurden anhand folgender Gleichungen bestimmt:

$$OV_{NOB} = OV_2 - OV_1 \qquad \text{(Gl. 3.4.4.1)}$$

$$OV_{AOB} = OV_3 - OV_2 \qquad \text{(Gl. 3.4.4.2)}$$

OV_{NOB} - Atmungsaktivität nitritoxidierender Bakterien [mg O_2/(gTS h)]
OV_{AOB} - Atmungsaktivität ammoniakoxidierender Bakterien [mg O_2/(gTS h)]
OV_1 - Sauerstoffverbrauch (ohne Substrat) [mg O_2/(gTS h)]
OV_2 - Sauerstoffverbrauch mit $NaNO_2$ als Substrat [mg O_2/(gTS h)]
OV_3 - Sauerstoffverbrauch mit NH_4Cl als Substrat [mg O_2/(gTS h)]

Für die Messung wurde jeweils 1 l Probe aus jedem SB-Reaktor genommen und mit einer Waschlösung zweifach gespült. Die Zusammensetzung der Waschlösung s. Tab. 3.4.4.1.
Durch die Spülung wurden die Nährstoffe aus der Probe entfernt, um die erste Messung der endogenen Atmung zu ermöglichen.
Vor Beginn der Sauerstoffmessung wurde der Belebtschlamm in einer 2 l Flasche durch Schütteln belüftet, mit dem Ziel eine hohe Anfangssauerstoffsättigung sicherzustellen. Danach wurde der Belebtschlamm in einen 300 ml Erlenmeyerkolben gegossen und durch einen Gummistopfen, in dem eine O_2-Messsonde (CellOx® 325) eingeführt war, luftdicht verschlossen.
Bei der zweiten Messung wurden zu einem gewaschenen Schlammvolumen von 500 ml 2 ml konzentrier-

te NH_4Cl-Lösung und bei der dritten Messung zu 500 ml gewaschener Probe 2 ml konzentrierte $NaNO_2$-Lösung hinzugegeben.
Während der ganzen Versuchsdauer wurde der Belebtschlamm mit ca. 200 rpm gerührt.
Die Sauerstoffkonzentrationen wurden in Funktion der Zeit digital aufgezeichnet.

Tab. 3.4.4.1 Zusammensetzung der Waschlösung

Chemischer Stoff	**Formel**	**Konzentration [mg/l]**
Natriumchlorid	NaCl	21
Kalciumchlorid	CaCl	12
Magnesiumsulphat	$MgSO_4$	6
Kaliumhydrogenphosphat	K_2HPO_4	84

Neben der Bestimmung der Atmungsaktivität nitrifizierender Bakterien wurde die Atmungsaktivität aller im Belebtschlamm auftretender Bakterien untersucht. Das Prinzip dieser Untersuchung ist analogisch der Untersuchung der Atmungsaktivität nitrifizierender Bakterien. In dem Fall erfolgte jedoch nur eine Messung ohne einen Zusatz eines Substrates und ohne eine Spülung der Biomasse.

Die Berechnung des spezifischen Sauerstoffverbrauchs OV erfolgte nach folgender Formel:

$$OV = \frac{\Delta S_{O2}}{\Delta t} \quad [mg\ O_2/(l\ h)] \qquad \text{(Gl. 3.4.4.3)}$$

ΔS_{O2} - Abnahme der Sauerstoffkonzentration [mg O_2/l]

Δt - Zeitdifferenz [h].

bezogen auf die Trockensubstanz:

$$OV_{TS} = \frac{OV}{TS} \quad [mg\ O_2/(gTS\ h)] \qquad \text{(Gl. 3.4.4.4)}$$

TS - Trockensubstanz [g/l]

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs während der kontinuierlichen Einsätze erfolgte bei einer Temperatur von 20 ± 1°C und während der Batch-Experimente bei einer Temperatur von 17 ± 1°C.

3.4.5 Bestimmung der Trockensubstanz

Um die Trockensubstanz zu bestimmen, wurden 10 bis 20 ml einer Probe filtriert.
Bei der Filtration wurden Membranfilter mit 0,45 µm Porenweite (Whatman® 42, Ashless) verwendet, die zuvor gewaschen, im Trockenschrank (Heraeus) bei 105 °C getrocknet und anschließend gewogen wurden.
Nach dem Filtrationsvorgang wurden die Membranfilter im Trockenschrank bei 105°C bis zur Massenkonstanz getrocknet. Die getrockneten Membranfilter mit Filterkuchen wurden in einem Exsikkator abgekühlt und dann ausgewogen.

Die Trockensubstanz wurde nach folgender Gleichung bestimmt:

$$TS = \frac{m_{FK} - m_L}{V_{Probe}} \quad [g/l] \qquad \text{(Gl. 3.4.5.1)}$$

m_{FK} - Masse des Filters mit Filterkuchen, getrocknet [g]
m_L - Masse des Filters, leer [g]
V_{Probe} - Filtriertes Probevolumen [l]

Das Filtrat wurde für die Bestimmung chemischer Analysen wie gelöster organisch gebundener Kohlenstoff (DOC), gelöster Stickstoff (GN), Ammonium-Stickstoff (NH_4-N) und Nitrat-Stickstoff (NO_3-N) verwendet.

3.4.6 Bestimmung des gelösten organisch gebundenen Kohlenstoffs

Zur automatisierten Analyse der Kohlenstoffverbindungen wurde ein Infrarotabsorptionsdetektor der Firma Analytik Jena (multi N/C 3000) verwendet. Zuerst wird DC (gelöster Kohlenstoff) und DIC (gelöster anorganischer Kohlenstoff) durch das Gerät bestimmt und hieraus wird DOC berechnet mit:

$$DOC = DC - DIC \qquad \text{(Gl. 3.4.6.1)}$$

Mit DOC wird die Summe des in gelösten organischen Verbindungen enthaltenen Kohlenstoffs angegeben.

Da die Proben zum Teil über Nacht oder mehrere Tage bis zur Messung gelagert werden mussten, wurde biologische Aktivität durch Ansäuern der Probe mit 1 - 2 Tropfen Phosphorsäure unterdrückt. Die Lagerung erfolgte dann bei ca. 4°C im Kühlschrank.

3.7.7 Bestimmung des Kohlenstoffabbaus

Der Kohlenstoffabbau wurde mittels DOC bestimmt. Eine Berechnung des Kohlenstoffabbaus erfolgte anhand folgender Gleichung:

$$\text{DOC-Abbau} = \frac{DOC_{ZU} - DOC_{AB}}{DOC_{ZU}} \cdot 100 \quad [\%] \qquad \text{(Gl. 3.7.7.1)}$$

DOC-Abbau - Kohlenstoffabbau bestimmt mittels DOC [%]
DOC_{ZU} - Konzentration des DOC am Zulauf des Reaktors [mg/l]
DOC_{AB} - Konzentration des DOC am Ablauf des Reaktors [mg/l]

3.7.8 Bestimmung des gelösten Stickstoffs

Gelöster Stickstoff (GN, in Folgenden N genannt) bezeichnet die Summe aller in der Probe enthaltenen Stickstoffverbindungen. N wird gleich nach DC- und DIC-Messung durch den Analyser (multi N/C 3000) bestimmt.

3.7.9 Bestimmung des Stickstoffabbaus

Berechnung des Stickstoffabbaus erfolgte anhand folgender Gleichung:

$$\text{N-Abbau} = \frac{N_{ZU} - N_{AB}}{N_{ZU}} \cdot 100 \quad [\%] \qquad \text{(Gl. 3.7.9.1)}$$

N- Abbau - Stickstoffabbau [%]
N_{ZU} - N-Konzentration am Zulauf des Reaktors [mg/l]
N_{AB} - N-Konzentration am Ablauf des Reaktors [mg/l]

3.7.10 Bestimmung des Ammonium-Stickstoffgehaltes

Der Gehalt an NH_4-N wurde in Anlehnung an die DIN 38 406-E5 bestimmt. Die Grundlage ist die Reaktion der Ammonium-Ionen bei einem pH-Wert von etwa 12,6 mit Hypochlorit-Ionen und Salicylat-Ionen zu einem blauen Farbstoff.
Für die Auswertung wurde eine Eichkurve aufgestellt und die NH_4-N-Konzentration nach der folgenden Gleichung berechnet:

$$\rho_A = \frac{(E - E_0)}{f} \cdot d \quad [mg/l] \qquad \text{(Gl. 3.7.10.1)}$$

ρ_A - Ammonium-Stickstoff-Konzentration von der Probe [mg/l]
E - spektrales Absorptionsmaß der Probe
E_0 - spektrales Absorptionsmaß der Blindprobe
f - Eichfaktor [l/mg]
d - Verdünnungsfaktor

Der Eichfaktor wurde als Steigung der Eichkurve berechnet. Dazu wurden die Massenkonzentrationen der Standardlösungen auf der Abszisse und die zugehörigen Extinktionswerte auf der Ordinate aufgetragen.

3.7.11 Bestimmung der Nitrifikationsgeschwindigkeit

Für die Quantifizierung der Aktivität nitrifizierender Bakterien ist es gelungen ein Ammonium-Batch-Experiment in Anlehnung an DIN EN ISO 9509 : 2006-D zu entwickeln. Die potentielle Aktivität wird nach der Geschwindigkeit des Substratabbaus (NH_4-N) ermittelt.

Zur Bestimmung der Nitrifikationsgeschwindigkeit wurde eine Mischung von dem beschallten und unbeschallten Belebtschlamm (insgesamt 800 ml) in Versuchsgefäße überführt und mit 50 ml konzentrierter $(NH_4)_2SO_4$-Lösung (Substratlösung), und 50 ml konzentrierter $NaHCO_3$-Lösung (Pufferlösung) versetzt. Die Proben wurden belüftet und kontinuierlich durchmischt. Anschließend wird 10 ml Probe im Abstand von 45 Minuten entnommen und filtriert. Die NH_4-N -Konzentrationen der gesammelten Proben wurden bestimmt und die spezifische Nitrifikationsgeschwindigkeit berechnet. Die wird in mg NH_4-N /(gTS h) angegeben.

3.7.12 Bestimmung des Nitrat-Stickstoffgehaltes

Die Messung des NO_3-N basierte auf der DIN 38405-D9. Die Grundlage ist die Reaktion der Nitrat-Ionen in schwefel- und phosphorsaurer Lösung 2,6-Dimethylphenol zu 4-Nitro-2,6-dimethylphenol. Eine Rotfärbung der Lösung zeigt der Anwesenheit von Nitrat-Ionen an.
Für die Auswertung wurde eine Eichkurve aufgestellt und die NO_3-N-Konzentration nach der folgenden Gleichung berechnet:

$$\rho_N = \frac{(E - E_0)}{f} \cdot d \quad [mg/l] \qquad \text{(Gl. 3.7.12.1)}$$

ρ_N - Massenkonzentration der Filtratprobe an Nitrat-Stickstoff [mg/l]
E - spektrales Absorptionsmaß (Extinktion) der Filtratprobe
E_0 - spektrales Absorptionsmaß der Blindprobe
f - Eichfaktor [l/mg]
d - Verdünnungsfaktor

Der Eichfaktor wurde als Steigung der Eichkurve ermittelt. Dazu wurden die Massenkonzentrationen der Standardlösungen auf der Abszisse und die zugehörigen Extinktionswerte auf der Ordinate aufgetragen.

3.7.13 Bestimmung der Denitrifikationsgeschwindigkeit

Für die Quantifizierung der Aktivitäten denitrifizierender Bakterien ist gelungen ein Nitrat-Batch-Experiment in Anlehnung an DIN 38405-D9-2 zu entwickeln. Die potentielle Aktivität wird nach der Geschwindigkeit des Substratabbaus (NO_3-N) ermittelt.
Zur Bestimmung der Denitrifikationsgeschwindigkeit wurde eine Mischung von dem beschallten und unbeschallten Belebtschlamm (insgesamt 800 ml) in Versuchsgefäße überführt und mit 50 ml konzentrierter KNO_3-Lösung (Substratlösung) versetzt. Die Proben wurden kontinuierlich durchmischt. Anschließend wird 10 ml Probe im Abstand von 45 Minuten entnommen und filtriert. Die NO_3-N-Konzentrationen der gesammelten Proben wurden bestimmt und die spezifische Denitrifikationsgeschwindigkeit berechnet. Die wird in mg NO_3-N/(gTS h) angegeben.

4 Versuchsaufbau

Für die Untersuchung der Abbauleistung eines biologischen Reaktors zur Abwasserreinigung wurde eine aus drei Sequencing-Batch Reaktoren (SBR) bestehende Versuchsanlage viermals kontinuierlich mit Belebtschlamm betrieben. Im ersten, zweiten und dritten Einsatz wurde die Auswirkung der Ultraschallbehandlung vom Rücklaufschlamm auf die Stoffwechselleistung der metabolisch aktiven Biomasse (Kohlenstoffabbau, Nitrifikation, Denitrifikation) untersucht. Im vierten Einsatz wurde eine gekoppelte Beschallung vom Rücklauf- und Überschussschlamm durchgeführt und die Auswirkung auf die Stoffwechselleistung der metabolisch aktiven Biomasse bestimmt.

Parallel zum Betrieb der Versuchsanlage wurde eine Reihe von begleitenden Experimenten, in Folgenden Batch-Experimente genannt, durchgeführt. Das Ziel dieser Experimente war die Untersuchung von Kurzzeiteffekten der Ultraschallbeanspruchung auf die aktive Biomasse, wie die Dehydrogenaseaktivität, die Nitrifikations- und Denitrifikationsgeschwindigkeit. Des Weiteren wurde mittels Batch-Experimente die Wirkung des Ultraschalls auf den Belebtschlamm und die Bakterien *M. parvicella* und *P. aeruginosa* untersucht.

4.1 Versuchsanlage

4.1.1 Aufbau

Die Anlage befindet sich in der Versuchshalle des Instituts für Abwasserwirtschaft an der TU Hamburg-Harburg. Die Reaktoren: R1, R2 und R3 liefen in einem parallelen Betrieb. Wobei ein Reaktor immer als Referenzbecken diente. Der Aufbau der Reaktoren s. Abb. 4.1.1.1.

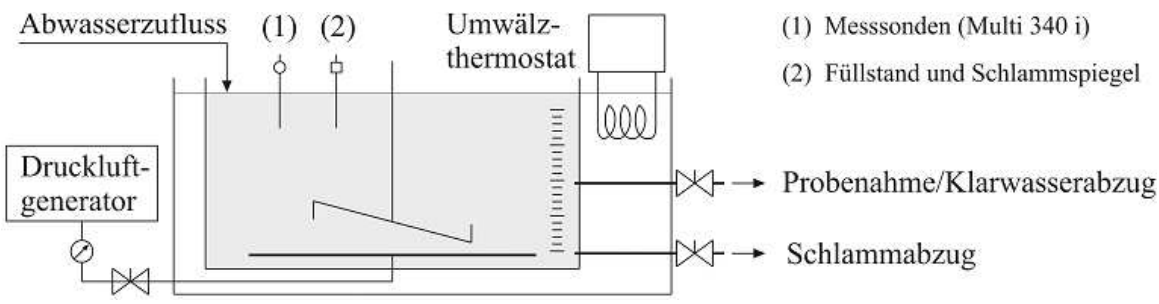


Abb. 4.1.1.1 Reaktoraufbau

Die einzelnen Reaktoren bestanden aus zwei Becken. Das äußere Becken wurde mit Deionat gefüllt und durch einen Umwälzthermostat E100 (Lauda) auf eine konstante Temperatur von 20°C erwärmt.
Das innenliegende Reaktionsbecken konnte durch einen Membranteller-Belüfter (Ø = 30 cm, Roeflex) belüftet werden.
Die Luftzufuhr wurde über den anliegenden Druck reguliert. Für eine vollständige Durchmischung im Reaktionsbecken sorgte ein Überkopfrührer (ca. 40 rpm, Heidolph).
Darüber hinaus war das innere Reaktorbecken mit zwei Abläufen ausgerüstet. Der obere Ablauf lag bei einer Füllhöhe von 10 l und diente zur Entnahme der Proben und zum Klarwasserabzug. Der Belebtschlamm für die Ultraschallbehandlung wurde über den unteren Ablauf, der bei einer Füllhöhe von ca. 1 Liter lag, abgezogen.
Die Überwachung des Füllstandes erfolgte anhand einer am äußeren Behälter aufgezeichneten Skala.
In Abb. 4.1.1.2 sind die o.g. Reaktoren dargestellt. Der linke Reaktor trägt die Bezeichnung R1, in der Mitte befindet sich der R2- und rechts der R3-Reaktor. Der Belebtschlamm in den Reaktoren R1 und R2 wurde mit unterschiedlichem Energieeintrag beschallt. R3 diente als Referenzreaktor.

Abb. 4.1.1.2 Aufbau der Versuchsanlage

4.1.2 Inbetriebnahme

Der erforderliche Belebtschlamm wurde aus dem Belebungsbecken der KA Seevetal entnommen.
Vor der Inbetriebnahme der Reaktoren wurde der Belebtschlamm zunächst gewaschen. Dazu wurden in jeden Reaktor 10 l Belebtschlamm und 10 l Wasser gefüllt und anschließend durchmischt.
Nach einer Sedimentationsphase von t_{sed} = 1,5 h wurden 10 l Überstand aus jedem Reaktor entnommen. Anschließend wurde das verbleibende Reaktorvolumen mit 17 l Wasser aufgefüllt, sodass das endgültige Reaktorvolumen V_R = 27 l betrug.

4.1.3 Betriebsphasen

Im Folgenden werden Ergebnisse zur Wirkung des Ultraschalls auf die mikrobielle Aktivität des Belebtschlammes von vier kontinuierlichen Einsätzen dargestellt.
Ein schematischer Aufbau in Abhängigkeit von der Versuchsdauer wird in der Abb. 4.1.3.1 gezeigt.
Der erste kontinuierliche Einsatz bestand aus drei Phasen. In der ersten Phase (Einfahrphase) wurden konstante Verhältnisse in den Reaktoren eingestellt. Die erste Phase dauerte 14 Tage.
Die zweite Phase (Beschallungsphase) begann mit der Teilstrombehandlung des Belebtschlammes mit Ultraschall. In der dritten Phase wurde zusätzlich die Substratzufuhr stark erhöht um einen Belastungstest durchzuführen.
Die kontinuierlichen Einsätze zwei bis vier bestanden aus je zwei Phasen. Ähnlich, wie bei dem ersten Einsatz, dienten die ersten Phasen der Einstellung konstanter Verhältnisse in den Reaktoren und dauer-

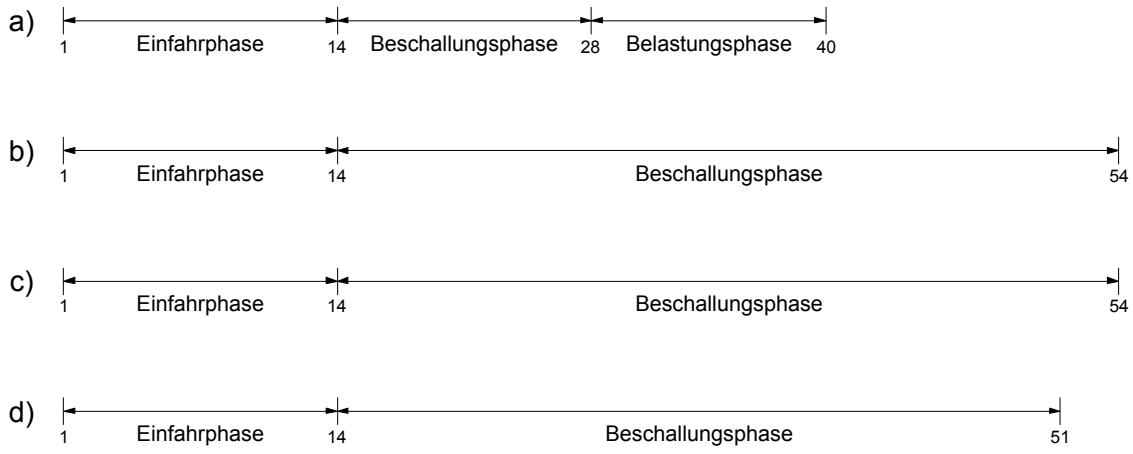


Abb. 4.1.3.1 Schematische Darstellung der kontinuierlichen Einsätze (Zahlangabe in Tagen): a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz

ten jeweils 14 Tage. Die darauf folgenden Phasen begannen mit der Teilstrombehandlung des Belebtschlammes mit Ultraschall.

Die Probenahmen, die Beschallung, der Klarwasserabzug sowie die Zugabe vom synthetischen Abwasser von den Reaktoren erfolgten werktags. Ein Zyklus betrug 24 Stunden.
Zwischen der Befüllungs- und Absetzphase sind mehrere Belüftungs- und Mischphasen abwechselnd abgelaufen. Die Sedimentationszeit t_{sed}, sowie die Zeit für Klarwasserabzug, die Zugabe von synthetischem Abwasser und die Beschallung betrug $t_{ab/zu}$ = 1 - 2 h. Für einen Zyklus ergab sich somit eine Reaktionszeit von t_R = 22 - 23 h. Diese setzte sich zusammen aus der Nitrifikationszeit von t_{aerob} = 17,5 - 13 h und der Denitrifikationszeit von t_{anox} = 4,5 - 9 h. Die Zu- und Ablaufmengen wurden so gewählt, dass nach der täglichen Probenahme das Füllvolumen V_R = 27 l betrug.
Der Zyklus begann mit der Messung von Überwachungsparametern, wie z.B. pH-Wert, Sauerstoffgehalt und Temperatur. Im Laufe des Tages wurden mehrere Proben entnommen und anschließend im Labor analysiert. Folgende Parameter wurden bestimmt: TS, DOC, GN, NH_4-N, NO_3-N, DHA, OV, Trübung und SVI. Für die Bestimmung des Schlammvolumenindex (SVI) wurde täglich 1 l Probe abgezogen und schließlich in die Reaktoren zurückgeführt.
Jeden Tag während der Beschallungsphase wurde eine bestimmte Menge der Biomasse aus den Reaktoren R1 und R2 abgezogen und eingedickt, mit einem bestimmten Energieeintrag beschallt und anschließend in die Reaktoren zurückgeführt. Die Menge der zur Beschallung bestimmten Biomasse sowie die eingesetzten Energieeinträge und die Betriebsparameter der kontinuierlichen Einsätze s. Tab. 4.1.3.1.

Tab. 4.1.3.1 Betriebsparameter von kontinuierlichen Einsätzen

Einsatz	Zyklusphasen	Verschiedenes	Reaktor	Beschallte Biomasse [%]	Energieeintrag [Wh/l]
1	Zu-Besch-Deni-Nitri-Ab	ÜSS = 2,5 l; SA = 9,5 Tage	R1	30 RS	4
			R2	20 RS	7,5
			R3	Referenz	Referenz
2	Zu-Besch-Deni-Nitri-Ab	ÜSS = 1 l; SA = 18,5 Tage	R1	50 RS	4
			R2	30 RS	7,5
			R3	Referenz	Referenz
3	Zu-Nitri-Deni-Nitri-Besch-Deni-Nirti-Deni-Ab	ÜSS = 1,0 l, SA = 18,5 Tage	R1	7,4 RS	4
			R2	7,4 RS	8
			R3	Referenz	Referenz
4	Zu-Deni-Nitri-Besch-Deni-Nitri-Deni-Nitri-Ab	ÜSS = 2 l; SA = 13,5 Tage	R1	14,8 RS + 50 ÜSS	4
			R2	14,8 RS + 50 ÜSS	8
			R3	Referenz	Referenz

Zu – Zulauf, Ab – Ablauf, Nitri – Nitrifikation, Deni – Denitrifikation, Besch – Beschallung, ÜSS – Überschuss-schlamm, SA – Schlammalter, l – Liter, R – Reaktor, RS – Rücklaufschlamm

Beim Klarwasserabzug wurde darauf geachtet, dass von der Strömung so wenig Biomasse wie möglich mitgerissen wird. Anschließend wurden die Reaktorinnenwände von Ablagerungen gereinigt.
Große Schwankungen beim pH-Wert wurden durch gezielte Dosierungen des Natriumhydrogencarbonats zum synthetischen Abwasser neutralisiert

4.1.4 Überwachung der Versuchsanlage

Betriebsparameter wie Temperatur, pH-Wert, Sauerstoffgehalt und Leitfähigkeit haben einen Einfluss auf die Abbauleistung der Belebtschlamm-Mikroorganismen. Um stabile und vergleichbare Verhältnisse in den SB Reaktoren zu gewährleisten, wurden sie optimal eingestellt und regelmäßig gemessen.

Die Betriebsparameter wurden täglich vor der ersten Probenahme gemessen. Zunächst erfolgte die Sauerstoffmessung mit einer entsprechenden Sonde. Mit der gleichen Sonde wurde ebenfalls die Temperatur gemessen und der Messwert nach ca. 10 Sekunden vom Messgerät (Universal-Taschenmessgerät Multi 340i) abgelesen.
Bei der Messung von pH-Werten sowie von der Leitfähigkeit wurden entsprechende Sonden einige Zeit in den Reaktoren eingetaucht, bis sich ein konstanter Messwert einstellte.
Die Sonden wurden in regelmäßigen Zeitabständen kalibriert.

Jeder kontinuierlicher Einsatz fing mit einer Einfahrphase an, die 14 Tage lang andauerte. Die Einfahrphase diente der Anpassung der Belebtschlamm-Biomasse an neue Labor-Bedingungen und der Stabilisierung von Messparametern. Bei der Betrachtung des Verlaufs von Betriebsparametern wurden große Schwankungen, meistens in der ersten Phase, beobachtet.

Grafiken mit dem Verlauf der Betriebsparameter während der kontinuierlichen Einsätze werden im Anhang aufgeführt.

4.1.4.1 Temperatur

Beim heterotrophen aeroben Abbau sowie der Denitrifikation steigt die Wachstumsrate zwischen 0° und 32°C an und bei Nitrifikanten nimmt sie zwischen 10° und 22°C zu (DWA, 2006). Deshalb wurde die Temperatur in den SB Reaktoren in allen kontinuierlichen Einsätzen auf 19°C eingestellt.

Im ersten und dritten Einsatz wurden große Schwankungen bei dem Temperaturverlauf beobachtet. Sie hingen mit den niedrigen bzw. hohen Außentemperaturen zusammen, die den Wärmeaustausch beeinflusst haben.
Dagegen blieben im zweiten und vierten Einsatz die Temperaturen über die gesamte Einsatzdauer bei einem Wert von ca. 19°C konstant.

4.1.4.2 Sauerstoffgehalt

Beim biologischen Abbau mit Nitrifikation sind Konzentrationen von 2 - 3 mg O_2/l im Becken erforderlich (Mudrack et al, 2003). Während der kontinuierlichen Einsätze wurde der Sauerstoffgehalt durch die Einstellung der Belüftung auf einem konstanten Niveau gehalten. Er wurde in der aeroben Phase gemessen.

Bei der Betrachtung des Gehalts an Sauerstoff während des ersten und zweiten Einsatzes erkennt man, dass trotz des konstant gehaltenen Sauerstoffangebotes der gemessene Sauerstoffgehalt große Schwankungen aufwies.
Im zweiten Einsatz zeigte nur der zweite Reaktor einen Verlauf des Sauerstoffgehaltes bei einem konstanten Wert von etwa 6,5 mg O_2/l.
Im dritten Einsatz lag der Sauerstoffgehalt überwiegend unter 2 mg O_2/l. Zwischen den 32. und 40. Zyklus stieg der an und erreichte einen maximalen Wert von 3 mg O_2/l. Der niedrige Sauerstoffgehalt hing mit der erhöhten Außentemperatur zusammen.
Im vierten Einsatz betrug der Sauerstoffgehalt während der Beschallungsphase in allen Reaktoren zwischen 7 und 9 mg O_2/l.

4.1.4.3 pH-Wert

Sowohl gewerbliche, als auch kommunale Belebtschlämme benötigen im Belebtschlamm-Wasser-Gemisch einen pH-Wert im Bereich von 6,5 - 8,5 um optimale Abbauleistungen zu erbringen (DWA, 2006). Daher ist eine Kontrolle des pH-Wertes im Belebtschlammbecken notwendig.

Für die Stabilisierung des pH-Werts wurde in kontinuierlichen Einsätzen Hydrogencarbonat-Puffer verwendet.
Der pH-Wert blieb in allen Einsätzen während der Beschallungsphase im optimalen Bereich.

4.1.4.4 Leitfähigkeit

Die Leitfähigkeit ist ein Summenparameter für die Ionenkonzentration. Beim Abwasser liegen typische Werte zwischen 700 und 1000 µS/cm (Gujer, 2007). In der Literatur wird in der Regel der Wert von 25°C angegeben. Für die Reaktortemperatur von 19°C ergaben sich nur geringfügige Unterschiede in der Leitfähigkeit.
Alle Diagramme zeigen ansteigende Leitfähigkeit während der Einfahrphase, die in der Beschallungsphase einen Wert von 1000 µS/cm überschritt.

Der Anstieg der Leitfähigkeit war durch eine Erhöhung der Konzentration von synthetischem Abwasser hervorgerufen. Die Konzentration des synthetischen Abwassers wurde mit Absicht erhöht um die TS auf 2 bis 2,5 g/l zu halten.

Insbesondere nahmen die Konzentrationen von NH_4+-, NO_3-, PO_4^{3-} und HCO-Ionen deutlich zu. Ammonium entsteht bei der Ammonifikation des synthetischen Abwassers, Nitrat bei der Oxidation von Ammonium und die zuletzt genannten Ionen entstehen bei der Dissoziation von Kaliumhydrogenphosphat und Natriumhydrogencarbonat.

Für die Durchführung des Belastungstests wurde zum Ende des ersten Einsatzes die Konzentration an synthetischem Abwasser stark erhöht. Die damit erhöhte Leitfähigkeit erreichte einen Wert von 2500 µS/cm.
Die Leitfähigkeit im zweiten Einsatz blieb während der Beschallungsphase konstant und pendelte im Bereich zwischen 1.000 und 1.250 µS/cm.
Der Verlauf der Leitfähigkeit im dritten Einsatz unterschied sich von dem in anderen Einsätzen. Er hing mit einer unterschiedlichen Zusammensetzung des Abwassers (s. Anhang) zusammen.
Die Leitfähigkeit im vierten Einsatz blieb während der Beschallungsphase konstant und pendelte im Bereich zwischen 900 und 1.200 µS/cm.

4.1.4.5 Schlammvolumenindex und Trübung

Der Schlammvolumenindex und die Trübung sind maßgebliche Parameter für die Absetzbarkeit des Belebtschlammes. Übliche Werte in Kläranlagen mit Ni- und Denitrifikation liegen nach ATV-A131 (2000) zwischen 100 und 150 ml/g.

Im Zuge eines Einsatzes wurde täglich der Schlammvolumenindex und zweimal pro Woche die Trübung des Überstandes bestimmt.
Um den Schlammvolumenindex zu bestimmen, wurde ein Imhoftichter bis zu 1.000 ml mit dem Belebtschlamm gefüllt und nach 30 Minuten das Schlammvolumen (V_S) abgelesen.
Dieses wurde anschließend durch die Trockensubstanz dividiert:

$$SVI = \frac{V_S}{TS} \quad [ml/g] \qquad \text{(Gl. 4.1.4.1)}$$

Die Trübung wurde mit einem Turbidimeter (Modell 2 100 P, HACH) bestimmt.

Erhöhter Schlammvolumenindex in der Einfahrphase der kontinuierlichen Einsätze ist dem Auftreten des Blähschlammes in der KA Seevetal zuzuschreiben.
Der Belebtschlamm aus dem Referenzbecken wies im Vergleich zu den Reaktoren, in den die Biomasse mit Ultraschall behandelt wurde, meistens bessere Absetzeigenschaften auf. Dennoch konnte im gesamten Versuchszeitraum das Absetzverhalten aller Belebtschlämme als gut bewertet werden.

Im ersten Einsatz lagen die Trübungs-Werte überwiegend unter 5 NTU, was ein sehr gutes Ergebnis darstellte. Erst mit Erhöhung der Konzentration in synthetischem Abwasser stieg die Trübung im Ablauf an und erreichte den maximalen Wert von 30 NTU.
Im zweiten Einsatz wurde der Anteil an den behandeltem Rücklaufschlamm von 20% bis auf 30% in R1 und von 30% bis auf 50% in R2 erhöht. Dadurch stiegen die Trübungswerte bis auf 10 NTU an. Die Trübung im Ablauf des Referenzbeckens blieb meistens unter 5 NTU.
Im dritten Einsatz lag die Trübung während der Beschallungsphase durchschnittlich bei 5 NTU und zeigte damit bessere Ablaufwerte als die Trübung im Ablauf des Referenzbeckens.
Der Zusatz von 3,7% des beschallten Überschussschlammes im vierten Einsatz im R2 bewirkte eine Erhöhung der Trübung im Reaktorablauf auf über 10 NTU. Die Trübungswerte im Ablauf des Referenzbeckens blieben dagegen bei 5 NTU.

4.2 Batch-Experimente

Die Batch-Experimente wurden zur Untersuchung von Kurzzeiteffekten der Ultraschallbeanspruchung auf die aktive Biomasse entwickelt. Mittels dieser Experimente wurde die Dehydrogenaseaktivität, die Nitrifikations- und Denitrifikationsgeschwindigkeit bestimmt. Des Weiteren wurde die Wirkung des Ultraschalls

auf den Belebtschlamm und die Bakterien *M. parvicella* und *P. aeruginosa* untersucht.

Zum Aufbau wurden dunkle Flaschen mit einem maximalen Füllvolumen von einem Liter verwendet, die jeweils auf einem Rührtisch platziert wurden. Während der Untersuchung wurden die Proben mittels Magnetfischen homogen durchmischt und nach Bedarf belüftet.

4.3 Beschallung von Biomasse

Die Beschallung erfolgte mit dem Sonotrodensystem „Branson 450“ bei einer Frequenz von 20 kHz. Die Schall-Abgabeleistung konnte stufenlos geregelt werden. Sie wurde während der Versuchsdauer auf 100 Watt eingestellt. Der Versuchsaufbau zur Beschallung wird in der Abb. 4.3.1 dargestellt.

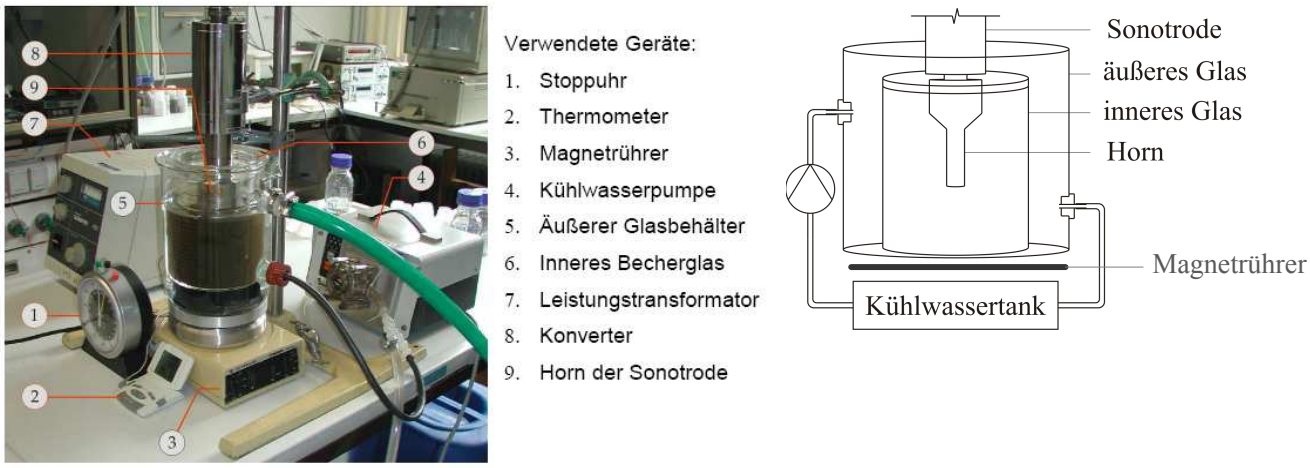


Abb. 4.3.1 Versuchsaufbau zur Beschallung der Biomasse

Das Horn der Sonotrode wurde bei der Beschallung in das mit dem Medium gefüllte innere Glas getaucht. Gleichzeitig verhinderte die Kühlwasserzirkulation im äußeren Glas einen Anstieg der Temperatur. Der Inhalt des inneren Glases wurde während der Beschallung mit einem Magnetrührer durchmischt.

Der Energieeintrag E wird mit der nachstehenden Gleichung berechnet:

$$E = \frac{\text{Leistung} \cdot \text{Zeit}}{V_{Probe}} \quad \frac{[\text{Wh}]}{[\text{l}]} \qquad \text{(Gl. 4.3.1)}$$

Der Energieeintrag wurde mit der Beschallungszeit gesteuert. Die verwendeten Energieeinträge sind in der Tab. 4.3.1 zum entnehmen.

Tab. 4.3.1 Beschallungsparameter

Energieeintrag [Wh/l]	**Leistung [W]**	**Volumen [l]**	**Zeit [min]**
2	100	1	1,2
4	100	1	2,4
5	100	1	3
7	100	1	4,2
7,5	100	1	4,5
8	100	1	4,8
9	100	1	5,4
10	100	1	6
12	100	1	7,2
20	100	1	12

5 Ergebnisse

5.1 Wirkung des Ultraschalls auf die Abbauleistung im SBR

Jeder kontinuierlicher Einsatz fing mit einer Einfahrphase an, die 14 Tage lang andauerte. Die Einfahrphase diente der Anpassung der Belebtschlamm-Biomasse an neue Labor-Bedingungen und der Stabilisierung von Messparametern. Insbesondere wurden in dieser Phase Schwankungen des Sauerstoffgehaltes, des pH-Wertes und der Temperatur beobachtet.

5.1.1 Wirkung auf Biomassewachstum

Der Biomassegehalt wird im Belebungsbecken in den meisten kommunalen Kläranlagen auf ca. 2,5 g/l eingestellt (Gujer, 2007). Aus diesem Grund wurde während der kontinuierlichen Einsätze versucht den Biomassegehalt auf 2 bis 2,5 g/l zu halten.
Die Abbildungen mit dem TS-Gehalt und dem berechneten Biomassewachstum in allen kontinuierlichen Einsätzen betreffen den TS-Gehalt im Ablauf der Reaktoren. Der Überschussschlamm hatte denselben TS-Gehalt wie der TS-Gehalt im Ablauf der Reaktoren.

In der Abb. 5.1.1.1 werden die Entwicklung des TS-Gehalts während des ersten Einsatzes dargestellt. In der zweiten Phase stellte sich ein stabiler TS-Gehalt ein. Er lag im R1 durchschnittlich bei 1,5 g/l, im R2 bei 1,7 g/l und im R3 bei 1,8 g/l. In der Belastungsphase erhöhte sich der TS-Gehalt aufgrund der erhöhten Abwasserkonzentration (s. Kap. 4.1.3).

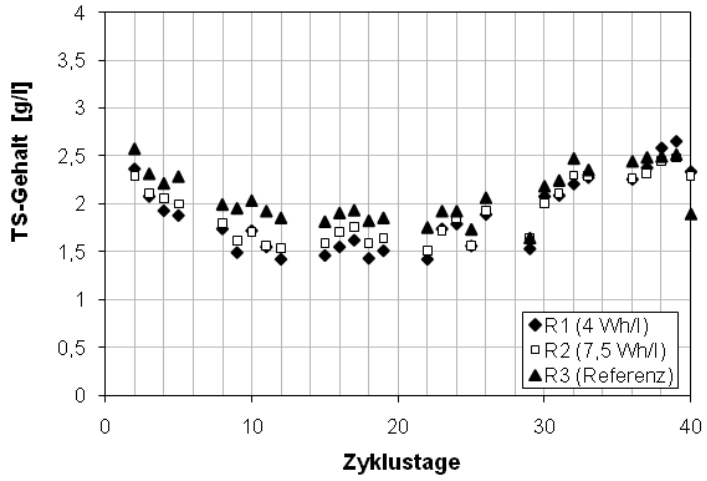


Abb. 5.1.1.1 Der TS-Gehalt während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

In der Abb. 5.1.1.2 lässt sich erkennen, dass das aus folgender Gleichung berechnete Biomassewachstum großen Schwankungen unterlag. Das mittlere Biomassenwachstum lag während der Beschallungsphase im R1 bei rund 37 mg/(l d), im R2 bei -7 mg/(l d) und im R3 bei 65 mg/(l d).

$$X_{Wachstum} = (X_{Ab,h} - X_{Zu,g}) \cdot 1000 \quad [mg/l\ d] \qquad (Gl.\ 5.1.1.1)$$

$X_{Ab,h}$ - TS-Gehalt am Anfang des Zyklus (heute) [g/l]
$X_{Zu,g}$ - TS-Gehalt am Ende des Zyklus (gestern) [g/l]

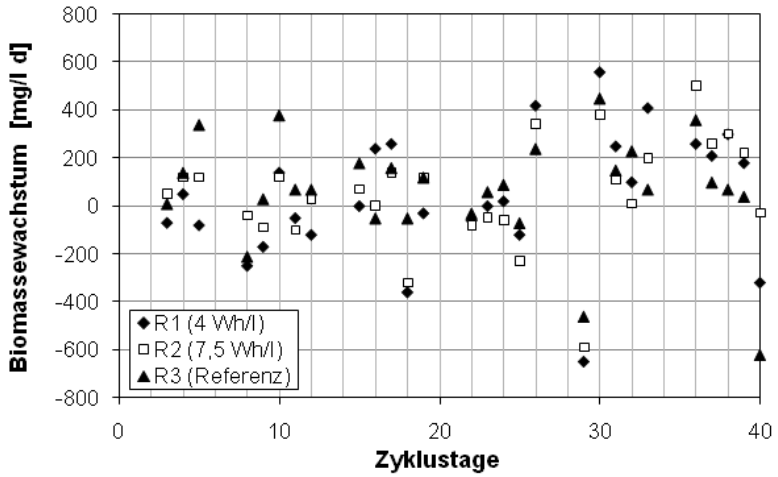


Abb. 5.1.1.2 Das Biomassewachstum während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Bei der Betrachtung der Literaturangaben bezüglich kontinuierlicher Experimente in einem SBR (s. Tab. 5.1.1.1) ist das Biomassewachstum im Referenzreaktor geringer. Setzt man einen TS-Gehalt von 1,0 g TS/l voraus, ergibt sich eine Wachstumsrate von μ_{R1} = 0,037 d^{-1}, μ_{R3} = 0,065 d^{-1} und μ_{R2} wird auf 0 d^{-1} abgerundet. Beim Vergleich der maximalen Wachstumsraten für den heterotrophen Abbau (μ_{max} = 4 d^{-1}) und den autotrophen Abbau (μ_{max} = 0,9 d^{-1}) erscheint das beobachtete Wachstum sehr gering. Der Vergleich der berechneten Wachstumsgeschwindigkeit μ mit Literaturwerten ist nur eingeschränkt möglich, da viele Aspekte unberücksichtigt bleiben. Zum Beispiel das Verhältnis von heterotrophem und autotrophem Biomassenwachstum oder der Anteil an nichtaktiver Biomasse. Mögliche Gründe für das beobachtete, geringe Wachstum:

- Die Substratkonzentration sinkt und führt relativ schnell zu geringen Wachstumsraten und verstärkt zu endogener Atmung,
- Das C:N:P-Verhältnis ist nicht optimal und hemmt das Wachstum.

Trotzdem wurde eine deutliche Reduktion des Biomassewachstums, im R1 um 43% und im R2 um 100% im Vergleich zum Referenzreaktor (R3) beobachtet. Im R1 wurde täglich 30% des Rücklaufschlammes (RS) mit einem Energieeintrag von 4 Wh/l und im R2 20% des RS mit 7,5 Wh/l behandelt.

Tab. 5.1.1.1 Literaturangaben zum Biomassewachstum*

Anteil beschallter Biomasse [%]	Energieeintrag [Wh/l]	Biomassewachstum [mg/l d]	Quelle
0	0	200	Li et al. (2008)
0	0	100	Bolle (2007)
7	400	154	Li et al. (2008)
14	3,8	100	Bolle (2007)
14	9,2	90	Bolle (2007)
14	400	104	Li et al. (2008)
21	400	3	Li et al. (2008)

Im zweiten Einsatz wurde die zur Beschallung bestimmte Menge an RS erhöht. Die eingesetzten Energieeinträge bleiben unverändert (s. Tab. 4.1.3.1).
Während der Beschallungsphase (s. Abb. 5.1.1.3) stellte sich in allen Reaktoren ein stabiler TS-Gehalt ein. Ab dem 33. Zyklus wurde im R1 eine Zunahme und im R2 eine Abnahme des TS-Gehalts im Vergleich zum TS-Gehalt im R3 beobachtet. Der TS-Gehalt lag während der Beschallungsphase im R1 durchschnittlich bei 2,7 g/l, im R2 bei 2,3 g/l und im R3 bei 2,5 g/l.

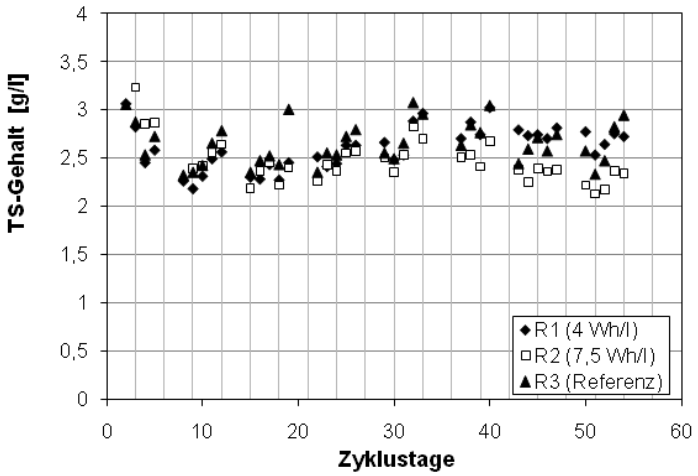


Abb. 5.1.1.3 Der TS-Gehalt während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

In der Abb. 5.1.1.4 lässt sich erkennen, dass das Biomassewachstum großen Schwankungen unterlag. Das durchschnittliche Wachstum lag während der Beschallungsphase im R1 bei rund 128 mg/(l d), im R2 bei 26 mg/(l d) und im R3 bei 64 mg/(l d). Das Wachstum der Biomasse im Referenzreaktor scheint auch-

* Die Ergebnisse wurden im Rahmen eines kontinuierlichen Experiments in einem SBR gewonnen

in diesem Einsatz niedrig zu sein. Im R1 wurde eine deutliche Erhöhung der biologischen Aktivität beobachtet. Diese ist vor allem, im Vergleich zum R3, am hohen Biomassewachstum zu erkennen. Die Dehydrogenaseaktivität und der Kohlenstoffabbau wurde ebenfalls deutlich gesteigert (die entsprechenden Ergebnisse werden im nächsten Kapitel dargestellt). Im R2 wurde eine deutliche Reduktion des Biomassewachstums um rund 59% beobachtet.

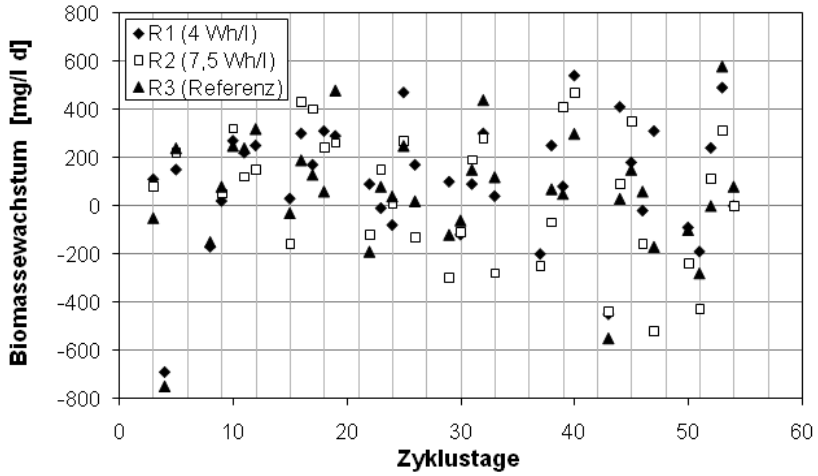


Abb. 5.1.1.4 Das Biomassewachstum während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Im dritten Einsatz wurde die Menge an den zur Beschallung bestimmten RS bis zu 7,4% reduziert. Es war zu klären, welche Auswirkung auf die Biomasseproduktion die Ultraschallbehandlung eines geringen Anteils vom RS hat.

In allen Reaktoren während des dritten Einsatzes wurde eine Zunahme des TS-Gehaltes bis zum 26. Zyklus bis auf etwa 3 g/l beobachtet. Ab diesem Zyklus nahm der TS-Gehalt in den Reaktoren bis zum Ende des Einsatzes konstant ab und erreichte dann einen durchschnittlichen Wert von 1,8 g/l.

Das Biomassewachstum wies große Schwankungen auf. Das mittlere Wachstum während der Beschallungsphase lag im R1 bei rund -14 mg/(l d), im R2 bei -204 mg/(l d) und im R3 bei -222 mg/(l d). Das Wachstum der Biomasse in allen Reaktoren, besonders im R3, zeigte eine stark abnehmende Tendenz.

Im vierten Einsatz wurde zusätzlich ein Teil des Überschussschlammes (ÜSS) behandelt und zusammen mit dem RS in den Reaktor geführt. In der zweiten Phase stellte sich ein stabiler TS-Gehalt ein. Der TS-Gehalt lag im R1 und R2 durchschnittlich bei 2 g/l. Der TS-Gehalt im Referenzreaktor betrug durchschnittlich 1,25 g/l.
Während der Beschallungsphase ist eine Undichtigkeit des R3 eingetreten. Es ist nicht möglich den Ein-

fluss dieser Störung auf den Verlauf des TS-Gehalts abzuschätzen.

Das Biomassewachstum wies hier ebenfalls große Schwankungen auf. Das durchschnittliche Wachstum während der Beschallungsphase lag im R1 bei rund 117 mg/(l d), im R2 bei 138 mg/(l d) und im R3 bei 46 mg/(l d). Ein Anstieg des Biomassewachstums im R1 und im R2 im Vergleich zum Referenzreaktor konnte durch den Zusatz von beschalltem ÜSS hervorgerufen werden.

Die entsprechenden Diagramme zum Biomassewachstum im dritten und vierten Einsatz werden im Anhang aufgeführt.

5.1.2 Wirkung auf Enzymaktivität

Die spezifische Enzymaktivität wurde in den SB Reaktoren mehrmals pro Woche gemessen. Die Messung erfolgte im Laufe des 1., 2. und 3. Einsatzes. In der Abb. 5.1.2.1 bis 5.1.2.3 wird die spezifische Enzymaktivität dargestellt.

Aus der Abb. 5.1.2.1 ist ersichtlich, dass in den Reaktoren, in denen die Biomasse mit Ultraschall behandelt wurde, schon ab dem ersten Beschallungstag die DHA deutlich gesteigert worden ist.
Während der Beschallungsphase betrug die DHA durchschnittlich im R1 rund 305 mg O_2/(gTS d) und im R2 310 mg O_2/(gTS d). Im R3 betrug sie rund 229 mg O_2/(gTS d). Die spezifische Enzymaktivität konnte im R1 um 25% und im R2 um 26% im Vergleich zum Referenzreaktor gesteigert werden.

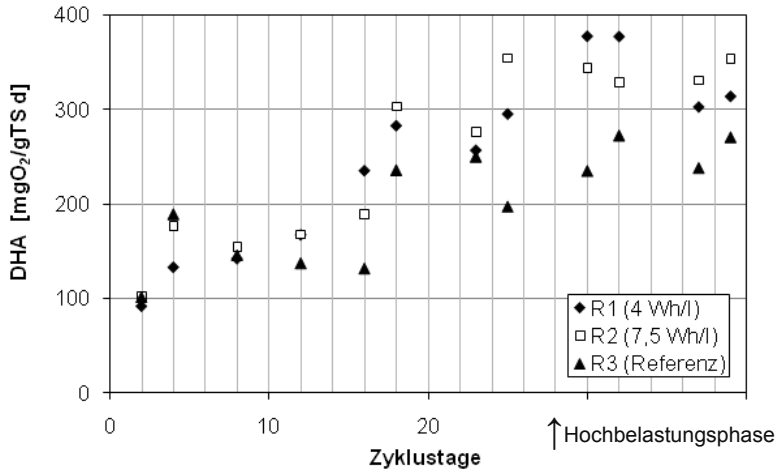


Abb. 5.1.2.1 Dehydrogenaseaktivität während des ersten Einsatzes

Beim Vergleich mit Literaturangaben in der Tab. 5.1.2.1 sind die DHA-Werte hoch, besonders während der Belastungsphase, in der die Konzentration an synthetisches Abwasser erhöht wurde.

Tab. 5.1.2.1 Literaturangaben zur Dehydrogenaseaktivität*

Energieeintrag [Wh/l]	DHA [mg O_2/gTS d]	Quelle
0	7,5 - 26	Elena (2007)
4,9	21 - 42	Elena (2007)
6,1	17 - 31	Elena (2007)
0	37	Multu (2007)
14,7	49	Multu (2007)

Die Erhöhung der zur Beschallung bestimmten Menge an RS ergab im zweiten Einsatz (s. Abb. 5.1.2.2), in den mit Ultraschall behandelten Reaktoren, noch deutlichere Steigerung der DHA.
Während der Beschallungsphase betrug die DHA im R1 rund 203 mg O_2/(gTS d) und im R2 194 mg O_2/(gTS d). Im R3 betrug sie rund 139 mg O_2/(gTS d). Die spezifische Enzymaktivität konnte im R1 um 32% und im R2 um 28% gesteigert werden. Die Messwerte sind ebenfalls als hoch zu sehen.

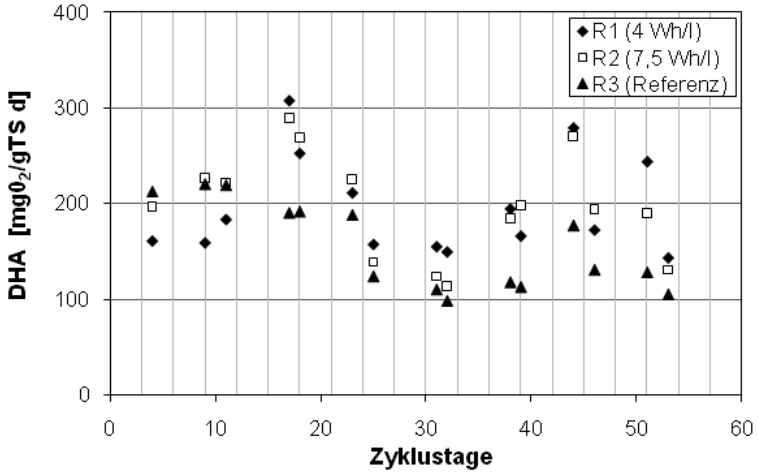


Abb. 5.1.2.2 Dehydrogenaseaktivität während des zweiten Einsatzes

Die spezifische Enzymaktivität im dritten Einsatz (Abb. 5.1.2.3) wies in allen Reaktoren stabile Messwerte auf. Der DHA lag während der Beschallungsphase im R1 bei rund 62 mg O_2/(gTS d), im R2 bei 74 mg O_2/(gTS d) und im R3 bei 68 mg O_2/(gTS d).
Die deutlich niedrigere DHA während des dritten Einsatzes im Vergleich zum ersten und zweiten Einsatz konnte auf das Substratangebot während der Messzeit zurückzuführen werden. Im ersten und im zweiten

* Versuchsergebnisse wurden im Rahmen eines Batch-Experiments (Belebtschlamm aus KA Seevetal) gewonnen

Einsatz betrug das DOC-Angebot entsprechend ca. 100 und 50 mg/l, und das N-Angebot entsprechend ca. 80 und 75 mg/l. Im dritten Einsatz betrug das Substratangebot während der Messzeit nur 5 mg DOC/l und 20 mg N/l. Darüber hinaus wurde im R1 und R2 eine geringe Menge von 7,4% des RS mit Ultraschall behandelt. Unter diesen Bedingungen konnte im R2 eine Erhöhung der DHA um 8% direkt nach der Beschallung erreicht werden (s. Tab. 4.1.3.1, Seite 39).

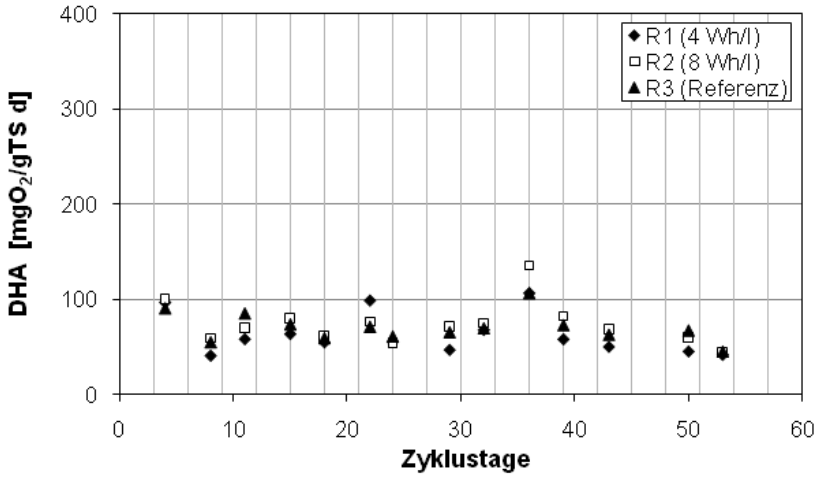


Abb. 5.1.2.3 Dehydrogenaseaktivität während des dritten Einsatzes

Aus der Entwicklung der spezifischen Enzymaktivität in kontinuierlichen Einsätzen lässt sich ein positiver Effekt der Behandlung mit Ultraschall erkennen. Beachtenswert ist, dass gleichzeitig zu einer Erhöhung der biologischen Aktivität eine Reduktion der Biomasseproduktion eintritt.

5.1.3 Wirkung auf Atmungsaktivität

Die Messung des Auerstoffverbrauchs erfolgte im Laufe des ersten und zweiten Einsatzes, um die bereits festgestellte Erhöhung der Stoffwechselaktivität (mittels Bestimmung der DHA) in mit Ultraschall behandelten Reaktoren zu bestätigen. Die Messung erfolgte einmal pro Woche.

In der Abb. 5.1.3.1 wird der Sauerstoffverbrauch von Belebtschlamm-Mikroorganismen im ersten kontinuierlichen Einsatz dargestellt.
Während der Beschallungsphase betrug der Sauerstoffverbrauchs durchschnittlich im R1 rund 53 mg O_2/(gTS h) und im R2 57 mg O_2/(gTS h). Im R3 betrug er rund 48 mg O_2/(gTS h). Die spezifische Atmungsaktivität konnte im R1 um 9% und im R2 um 16% erhöht werden.

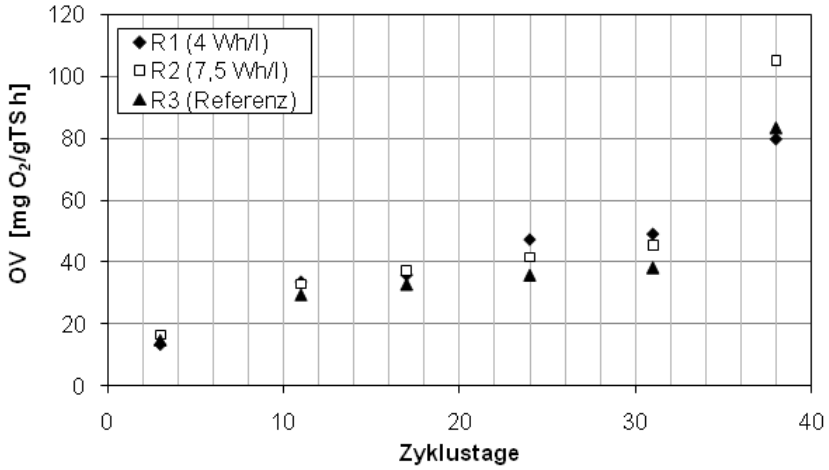


Abb. 5.1.3.1 Sauerstoffverbrauch während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Die gemessenen Werte in der zweiten Phase stimmen mit den Literaturangaben aus der Tab. 5.1.3.1 überein. Erhöhte Messwerte in der Belastungsphase waren der erhöhten Substratzufuhr zuzuschreiben.

In der Abb. 5.1.3.2 wird der Sauerstoffverbrauch von den Belebtschlamm-Bakterien im zweiten kontinuierlichen Einsatz dargestellt.
Während der Beschallungsphase betrug der Sauerstoffverbrauch durchschnittlich im R1 rund 49 mg O_2/(gTS h) und im R2 48 mg O_2/(gTS h). Im R3 betrug er rund 44 mg O_2/(gTS h). Die spezifische Atmungsaktivität konnte im R1 um 10% und im R2 um 8% erhöht werden. Die in der zweiten Phase durchschnittlichen Werte stimmen mit den Literaturangaben überein.

Tab. 5.1.3.1 Literaturangaben zu Sauerstoffverbrauch

Sauerstoffverbrauch [mg O_2/g TS h]	**Quelle**
25 - 41	Mudrak und Kunst, 2003
7,5 - 30	Rei et al., 2004
12 - 44	Liu et al., 2007
9 - 13	Sun, 2006

Bei der Betrachtung beider Abbildungen ist ersichtlich, dass der Sauerstoffverbrauch am Anfang jedes Einsatzes unter 20 mg O_2/(gTS h) lag. Im Laufe der Einsatzdauer stieg jedoch der Sauerstoffverbrauch in allen Reaktoren an. Der Sauerstoffverbrauch während der ersten Messung ist der durchschnittlichen Atmungsaktivität (s. Tab. 5.1.3.1) von Belebtschlamm-Mikroorganismen in KA Seevetal zuzuschreiben.
Im ersten und im zweiten kontinuierlichen Einsatz war im R1 und im R2 die Biomasse aktiver im Vergleich

zur Biomasse aus dem Referenzreaktor. Aus der Entwicklung des Sauerstoffverbrauches ließ sich ein positiver Effekt der Behandlung mit Ultraschall erkennen.

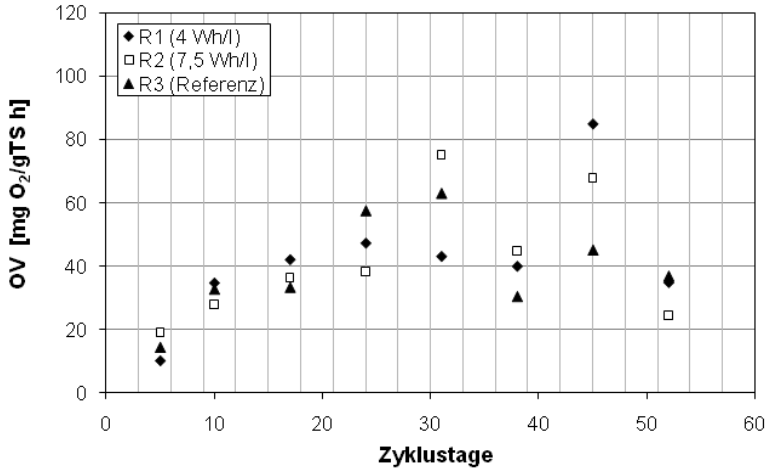


Abb. 5.1.3.2 Sauerstoffverbrauch während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Durch Messung des Sauerstoffverbrauches konnte eine Erhöhung der anhand der Bestimmung der Bestimmung der DHA festgestellten Stoffwechselaktivität bestätigt werden.

5.1.4 Wirkung auf Kohlenstoffabbau

Für die Einleitungsstelle ins Gewässer nach Anhang 1 der Abwasserverordnung (AbwV, 2004) wurden Mindestanforderungen an Abwasserbehandlungsanlagen gestellt. Von großer Bedeutung ist hier der Abbau von Kohlenstoffverbindungen. In der AbwV ist der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) als Parameter für die Bestimmung der Kohlenstoffverbindungen angegeben. Die Anforderungen an den CSB sind maximal 75 bis 150 mg/l je nach Größenklasse der Abwasserbehandlungsanlagen festgelegt.

Zur Beobachtung des Kohlenstoffabbaus wurden im Rahmen dieser Arbeit die DOC-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der SB Reaktors untersucht.*

Die im ersten Einsatz gemessenen DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen werden in der Abb. 5.1.4.1 dargestellt.
Die Zulaufkonzentrationen lagen überwiegend zwischen 100 und 150 mg/l. In der ersten und zweiten Phase ließ sich ein Schema ablesen, in dem die DOC-Konzentrationen immer nach dem Wochenzyklus niedriger waren. In der dritten Phase waren die DOC-Konzentrationen aufgrund der Substratzufuhr erwar-

* Das Verhältnis zwischen den CSB und den DOC im eingesetzten für die Experimente synthetischen Abwasser betrug etwa 3

tungsgemäß angestiegen.

Die DOC-Konzentrationen im Ablauf wiesen in der ersten und zweiten Phase einen Verlauf bei einem konstanten Wert von rund 8 mg/l auf. Die DOC-Werte stiegen ebenfalls während der Belastungsphase an.

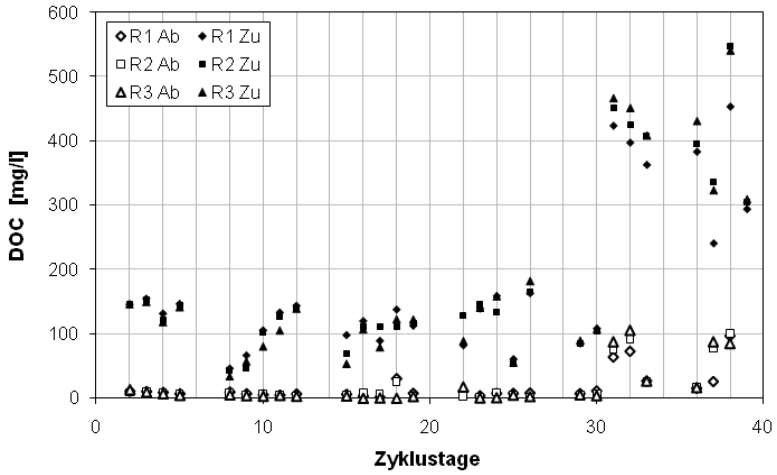


Abb. 5.1.4.1 DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Der anhand der Abb. 5.1.4.2 berechnete, durchschnittliche DOC-Abbau betrug während der Beschallungsphase im R1 und im R2 rund 87%, im R3 89%.

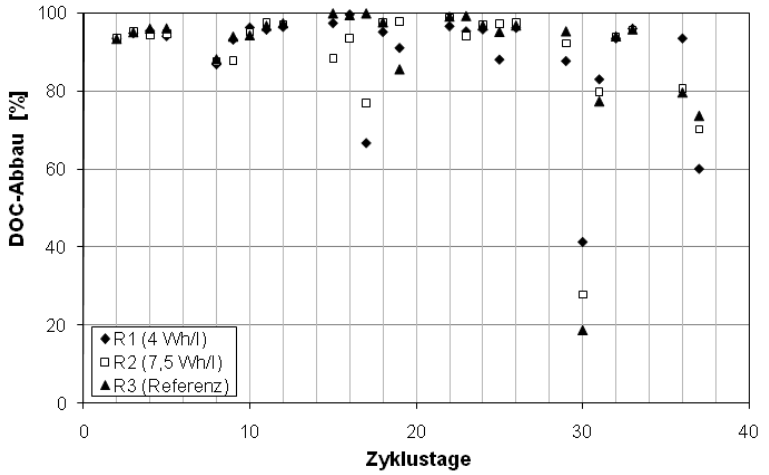


Abb. 5.1.4.2 Kohlenstoffabbau während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Die im zweiten Einsatz gemessenen DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen werden im Anhang dargestellt. Bis zum 29. Zyklus liegen keine verlässlichen DOC-Werte im Zulauf vor. Aus diesem Grund wird hier der Kohlenstoffabbau ab dem 29. Zyklus diskutiert. Die Zulaufkonzentrationen lagen überwiegend zwischen 40 und 60 mg/l. Die Ablaufwerte blieben während der Beschallungsphase unter einer Konzentration von 5

mg/l, Ausreisser bis zu 30 mg/l traten jedoch auf.
Der anhand der Abb. 5.1.4.3 berechnete, durchschnittliche DOC-Abbau betrug während der Beschallungsphase im R1 rund 92%, im R2 77% und im R3 89%.

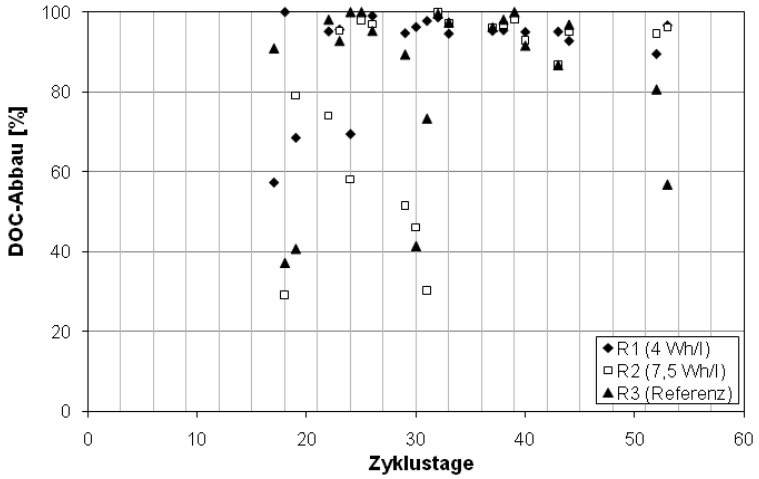


Abb. 5.1.4.3 Kohlenstoffabbau während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Die DOC-Konzentrationen im dritten Einsatz werden im Anhang dargestellt.
Die Zulaufwerte wiesen in allen Reaktoren große Schwankungen auf. Bis zum 22. Zyklus lagen sie zwischen 45 und 105 mg/l und ab dem 30. Zyklus zwischen 15 und 85 mg/l. Während der gesamten Einsatzdauer ließ sich im Ablauf ein Schema ablesen, in dem die im Ablauf gemessenen DOC-Konzentrationen immer nach dem Wochenzyklus höher waren. Eine durchschnittliche DOC-Konzentration in allen Reaktoren im Ablauf betrug etwa 6,5 mg/l.
Der anhand der Abb. 5.1.4.4 berechnete, durchschnittliche DOC-Abbau betrug während der Beschallungsphase im R1 rund 84%, im R2 87% und im R3 84%.

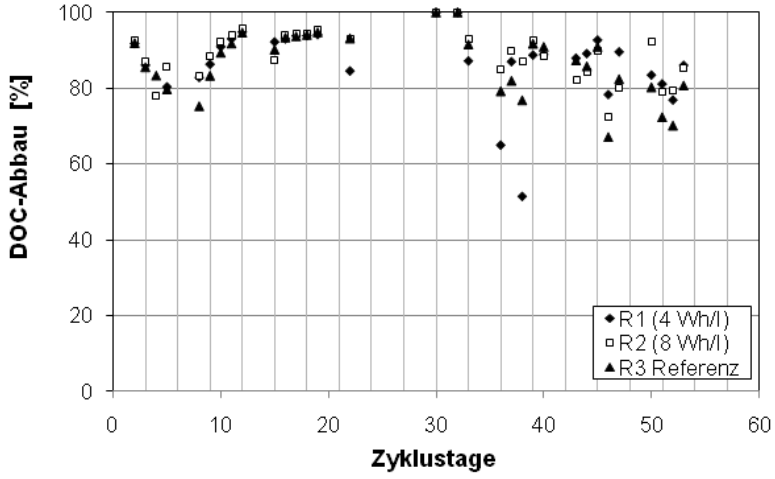


Abb. 5.1.4.4 Kohlenstoffabbau während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

Die DOC-Konzentrationen im vierten Einsatz werden im Anhang dargestellt.
Die Zulaufwerte wiesen in allen Reaktoren besonders große Schwankungen auf. Die Ablaufwerte charakterisiert dagegen ein Verlauf bei einem konstanten Wert von etwa 3 mg/l.
Abb. 5.1.4.5 zeigt den Abbau des DOC im vierten kontinuierlichen Einsatz.
Abgesehen von der Einfahrphase pendelte der DOC-Abbau knapp unter 100%. Er betrug im R1 rund 98%, im R2 97% und im R3 98%.

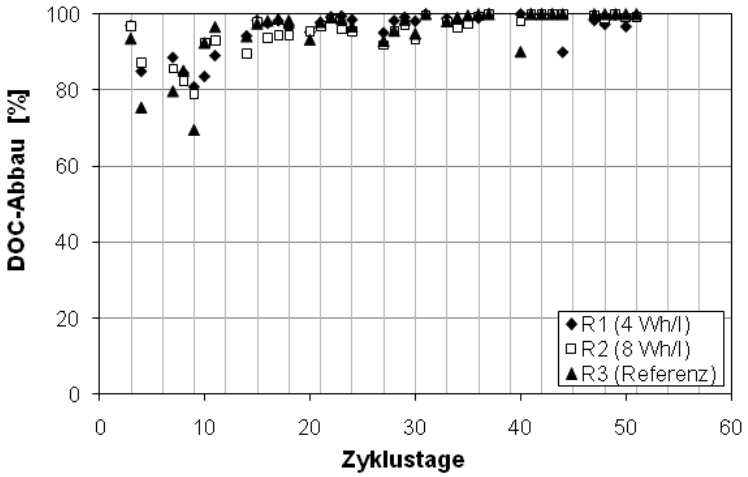


Abb. 5.1.4.5 Kohlenstoffabbau während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

Im ersten Einsatz war die DOC-Abbaurate hoch und betrug 87% bis 89%. Im zweiten Einsatz wurde eine Optimierung des Kohlenstoffumsatzes im R1 um 3,4% im Vergleich zum Referenzreaktor festgestellt. Im dritten Einsatz konnte eine Steigerung des DOC-Abbaus im R2 um 3,6% im Vergleich zum Referenzreaktor berechnet werden. Im letzten Einsatz war die DOC-Abbaurate sehr hoch und betrug 97% bis 98%.

5.1.5 Wirkung auf Stickstoffabbau

Die AbwV stellt auch Anforderungen an Abwasserbehandlungsanlagen bezüglich der Stickstoffverbindungen an der Einleitungsstelle ins Gewässer. In Abhängigkeit der Ausbaugröße der Abwasserbehandlungsanlage liegt der Gesamtstickstoff bei 13 mg/l, für eine Anlage von mehr als 100.000 Einwohnerwert (EW) und 18 mg/l bei einer Ausbaugröße 10.000 - 100.000 EW.
Ein Anforderungswert für NH_4-N ist auf 10 mg/l festgelegt. NO_3-N ist in der Summe der Stickstoffverbindungen (TN) enthalten und als Grenzwert in Abhängigkeit der Anlagengröße mit 13 bzw. 18 mg/l vorgeschrieben.

Zur Beobachtung des Stickstoffabbaus wurden in Rahmen dieser Arbeit die N-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der SB Reaktors gemessen. Für eine detaillierte Analyse des Stickstoffabbaus wurde im ersten Einsatz die Nitrifikations- und Denitrifikationsgeschwindigkeit bestimmt. In weiteren Einsätzen wurden die NH_4-N- und NO_3-N-Konzentrationen im Zu- und Ablauf der SB Reaktors bestimmt.

Die N-Zu- und Ablaufwerte im ersten Einsatz werden im Anhang dargestellt.
Der anhand der Abb. 5.1.5.1 berechnete durchschnittliche N-Abbau erreichte während der Beschallungsphase im R1 rund 23%, im R2 24% und im R3 22%. Die Leistung der Nitrifikation und der Denitrifikation unterlag während der gesamten Einsatzdauer großen Schwankungen. Die Verbesserung des biologischen Prozesses konnte nicht konstant hoch gehalten werden.

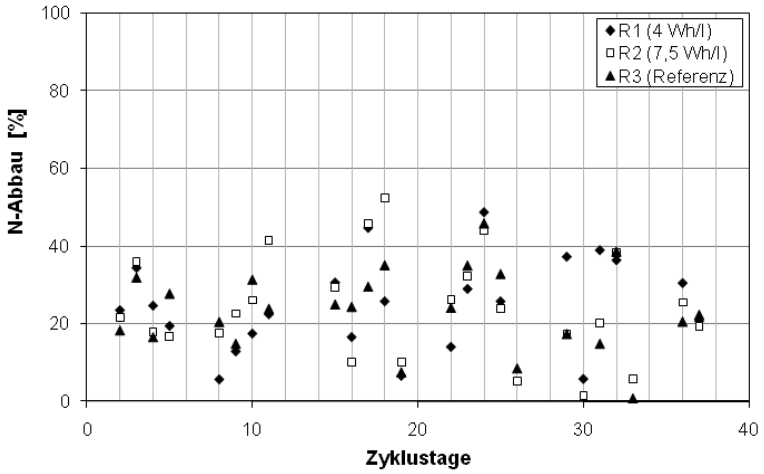


Abb. 5.1.5.1 Stickstoffabbau während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

In der Tab. 5.1.5.1 werden Nitrifikationsgeschwindigkeiten von Belebtschlämmen aus der Literatur im Bereich zwischen 0,6 und 5,5 mg NH_4-N/(gTS h) angegeben. Die in der Beschallungsphase ermittelten Nitrifikationsgeschwindigkeiten (6,0 im R1; 4,0 im R2 und 4,4 im R3) stimmen mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (s. Abb. 4.1.5.2).

Tab. 5.1.5.1 Literaturangaben zur Nitrifikationsgeschwindigkeit

Substrat	**Nitrifikationsgeschwindigkeit [mg NH_4-N/gTS h]**	**Quelle**
Abwasser (KA Leinburg, 8.000 EW)	2,1	Aust et al. (2005)
Abwasser (Nürnberg, 1.100.000 EW)	5,5	Aust et al. (2005)
Laborversuch	0,6 – 2,7	Görges (2007)

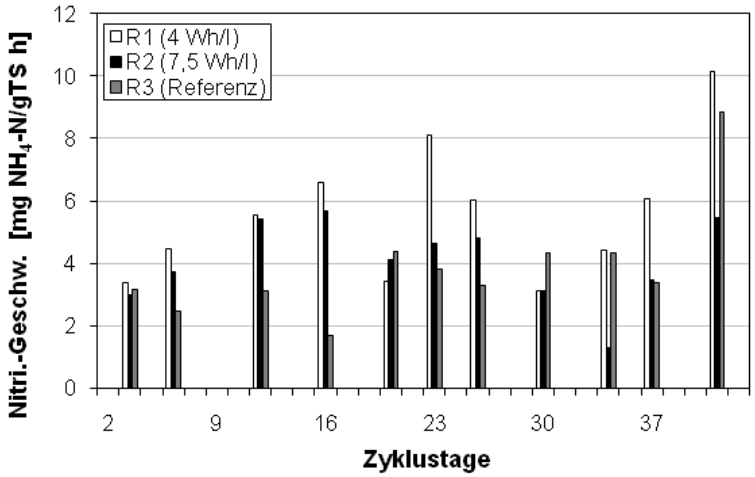


Abb. 5.1.5.2 Nitrifikationsgeschwindigkeiten während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Die typischen Denitrifikationsgeschwindigkeiten wurden in der Tab. 4.1.5.2 mit 0,4 - 17,2 mg NO_3-N/(gTS h) angegeben. Dieser Wertebereich entspricht den Denitrifikationsgeschwindigkeiten von 0,7 - 6,7 mg NO_3-N/(gTS h), die während der Beschallungsphase ermittelt wurden (s. Abb. 5.1.5.3).

Aufgrund fehlender Messung von NH_4-N und NO_3-N konnte nicht festgestellt werden, ob die Nitrifikation oder die Denitrifikation in diesem Einsatz unvollständig war. Das selbe synthetische Abwasser wurde ebenfalls im zweiten und vierten Einsatz verwendet. Aus der Auswertung des zweiten und vierten Einsatzes ging hervor, dass die hohen NO_3-N-Konzentrationen für hohe N-Konzentrationen im Ablauf verantwortlich waren. Die Denitrifikation war nicht vollständig.

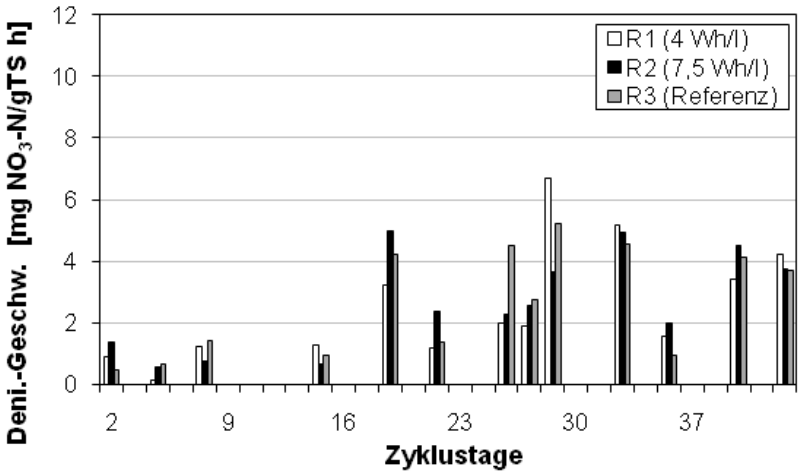


Abb. 5.1.5.3 Denitrifikationsgeschwindigkeiten während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Um die Umsatzrate der Denitrifikation zu steigern, muss das Kohlenstoffangebot möglichst hoch sein. Das Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnis soll dabei möglichst zwischen 100 : 10 und 100 : 5 liegen.

Wird der Wert von 100 : 40 unterschritten, findet der Denitrifikationsprozess nur eingeschränkt statt (Mudrack und Kunst 2003).

Tab. 5.1.5.2 Literaturangaben zur Denitrifikationsgeschwindigkeit

Substrat	Denitrifikationsgeschwindigkeit [mg NO_3-N/gTS h]	Quelle
Desintegrierter Klärschlamm	3,0 - 4,8	Kunz und Wörne (1998)
Kommunales Abwasser	0,4 - 4	Henze und Bundgaard (1982)
Essigsäure	3,9	Kunz und Wörne (1998)
Methanol	10 - 14	Henze und Bundgaard (1982)
Laborversuch	3,8 - 17,2	Görges (2007)

Ein Teil der nicht reduzierten NO_3-N wurde zusammen mit dem Rücklaufschlamm in den Zulauf des nächsten Zyklus verlegt und somit stiegen noch zusätzlich die N-Konzentrationen im Zulauf an. Das DOC/N-Verhältnis im Abwasser an der einleitenden Stelle betrug 140 : 100. Aufgrund eines ungünstiges DOC/N-Verhältnisses im Abwasser an der einleitenden Stelle war es nicht möglich die vorhandenen Stickstoffverbindungen vollständig abzubauen. Das gleiche Schema hat sich in allen kontinuirliechen Einsätzen wiederholt.

Die während der Beschallung von Biomasse freigesetzten DOC-Mengen waren nicht ausreichend um den erforderlichen Gehalt an Kohlenstoff anzuliefern. Die freigesetzten Mengen an DOC und weitere relevante Parameter wird in der Tab. 5.1.5.3 aufgeführt.

Tab. 5.1.5.3 Freisetzung des DOC durch Ultraschall

Einsatz	Zyklusphasen	Reaktor	Beschallte Biomasse [%]	Energie-eintrag [Wh/l]	DOC-Freisetzung [mg/gTS]*	Anteil an DOC [%]*	DOC/N-Verhältnis*
1	Zu-Besch-Deni-Nitri-Ab	R1	30 (RS)	4	nicht gemessen	–	130 : 100
		R2	20 (RS)	7,5			145 : 100
		R3	Referenz	Referenz			130 : 100
2	Zu-Besch-Deni-Nitri-Ab	R1	50 (RS)	4	9,22	23,4	100 : 200
		R2	30 (RS)	7,5	9,82	23,9	100 : 210
		R3	Referenz	Referenz			100 : 220
3	Zu-Nitri-Deni-Nitri-Besch-Deni-Nirti-Ab	R1	7,4 (RS)	4	3,35	31,8	100 : 110
		R2	7,4 (RS)	8	4,34	19,4	170 : 100
		R3	Referenz	Referenz			100 : 100
4	Zu-Deni-Nitri-Besch-Deni-Nitri-Ab	R1	14,8 (RS) + 50 (ÜSS)	4	nicht messbar	–	100 : 900
		R2	14,8 (RS) + 50 (ÜSS)	8	3,88	55,2	100 : 650
		R3	Referenz	Referenz	–	–	145 : 100

* Anfang einer Denitrifikationsphase, in der ein Desintegrat zugegeben wurde

Die N-Zu- und N-Ablaufwerte im zweiten Einsatz werden im Anhang aufgeführt.
In der Abb. 5.1.5.4 ist der Stickstoffabbau im zweiten kontinuierlichen Einsatz dargestellt.
Der N-Abbau erfolgte während der Beschallungsphase durchschnittlich im R1 in rund 9%, im R2 in 18% und im R3 in 15%.

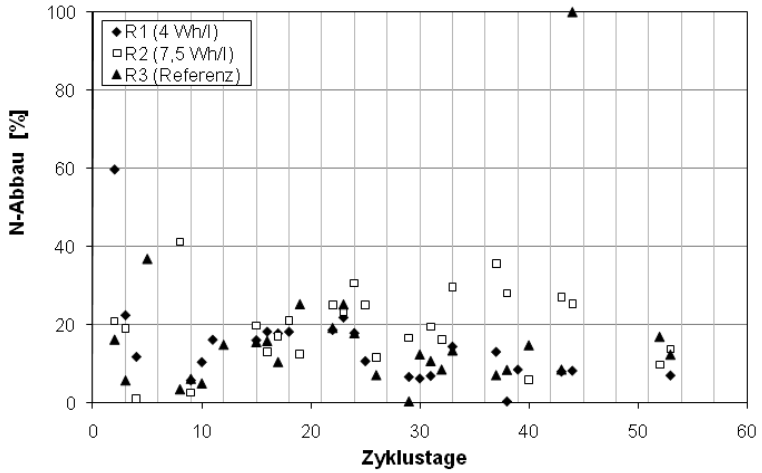


Abb. 5.1.5.4 Stickstoffabbau während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Die NH_4-N-Ablaufkonzentrationen in allen Reaktoren wiesen bis zum 32. Zyklus große Schwankungen auf. Ab diesem Zyklus pendelten sich die NH_4-N-Konzentrationen in allen Reaktoren um den Null-Wert ein (s. Abb. 5.1.5.5).

Durchschnittliche NO_3-N-Ablaufkonzentrationen wiesen ebenfalls große Schwankungen in allen Reaktoren auf. Die durchschnittliche NO_3-N-Konzentration lag während der Beschallungsphase im R1 bei 75,7 mg/l, im R2 bei 53,2 mg/l und im R3 bei 71,0 mg/l. Entsprechende Abbildung wird im Anhang dargestellt.

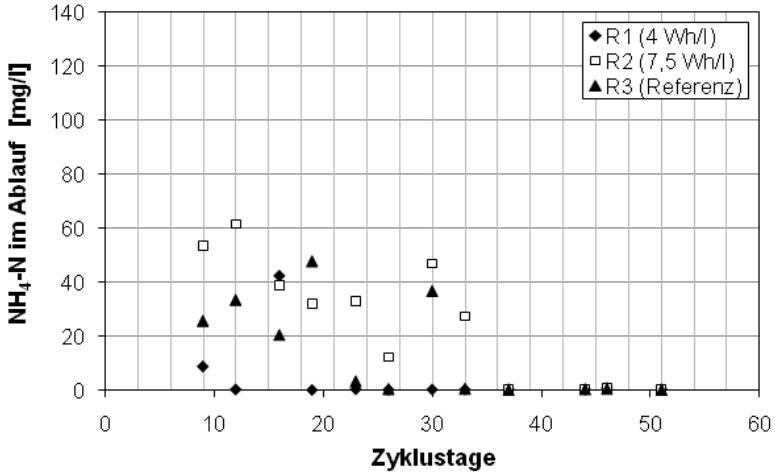


Abb. 5.1.5.5 NH_4-N-Konzentrationen im Ablauf während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Das DOC/N- Verhältnis im Abwasser betrug an der einleitenden Stelle 100 : 170, was ungünstige Bedingungen für die Denitrifikation darstellte. Die Mengen des während der Beschallung von der Biomasse freigesetzten DOC waren nicht ausreichend um die benötigte Menge an Kohlenstoff zuliefern.

In der Abb. 5.1.5.6 sind die N-Zu und Ablaufwerte im dritten kontinuierlichen Einsatz dargestellt.
Die N-Zulaufkonzentrationen lagen bis zum 32. Zyklus zwischen 40 und 60 mg/l. Ab diesem Zyklus sanken sie und blieben bis Ende des Einsatzes im Bereich zwischen 30 und 45 mg/l. Die N-Ablaufkonzentrationen lagen bis zum 32. Zyklus unter einem Wert von 10 mg/l. Ab diesem Zyklus stiegen sie und erreichten 25 mg/l.
Der Stickstoff wurde während der Beschallungsphase im R1 in rund 60%, im R2 in 71% und im R3 in 64% abgebaut. Entsprechende Abbildung wird im Anhang aufgeführt.

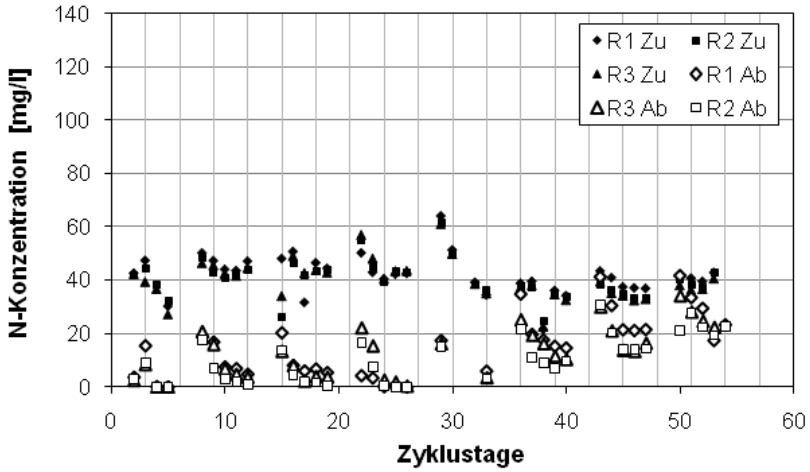


Abb. 5.1.5.6 N-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

Der NH_4-N-Gehalt im Ablauf betrug während der gesamten Einsatzdauer etwa 2 mg/l (Abb. s. Anhang). Parallel zu steigenden N-Konzentrationen im Ablauf wurden steigende Konzentrationen an NO_3-N beobachtet. Im Laufe des Einsatzes stiegen sie von 2 mg/l auf 20 mg/l an. Die NO_3-N-Konzentrationen im Ablauf während des dritten Einsatzes werden in der Abb. 5.1.5.7 gezeigt.

Der Verlauf der N-Werte im Zu- und Ablauf im vierten kontinuierlichen Einsatzzeigte ein ähnliches Verlaufsschema wie die N-Konzentrationen im dritten Einsatz. Die N-Zulaufkonzentrationen lagen bis zum 22. Zyklus zwischen 60 und 100 mg/l (Abb. s. Anhang). Ab diesem Zyklus sanken sie und blieben bis Ende des Einsatzes im Bereich zwischen 60 und 80 mg/l. Die N-Ablaufkonzentrationen lagen während der Beschallungsphase überwiegend unter einem Wert von 60 mg/l. Der Stickstoff wurde während der zweiten Phase im R1 in rund 22%, im R2 in 18% und im R3 in 24% abgebaut (Abb. s. Anhang).

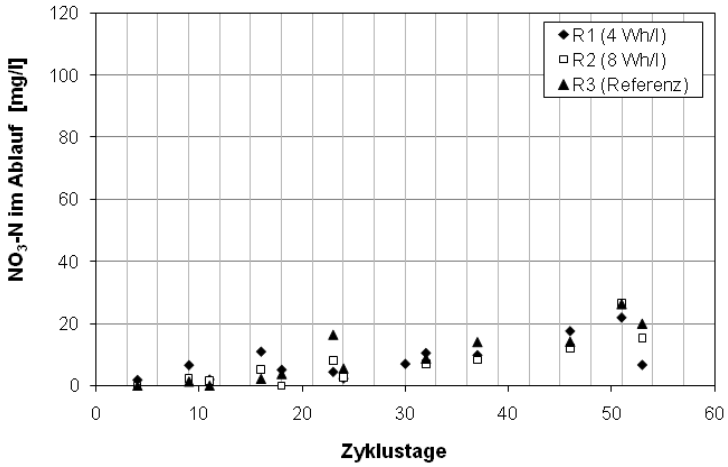


Abb. 5.1.5.7 NO_3-N-Konzentrationen im Ablauf während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

Die NH_4-N-Konzentrationen im Ablauf wiesen wenige Schwankungen in der Einfahrphase auf (Abb. 5.1.5.8). Während der Beschallungsphase pendelten sie um den Null-Wert.

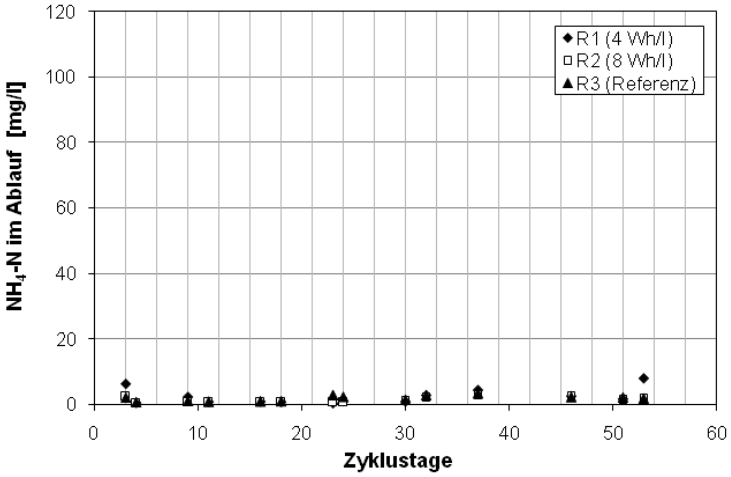


Abb. 4.1.5.8 NH_4-N-Konzentrationen im Ablauf während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

Die NO_3-N-Konzentrationen wiesen im Ablauf aller Reaktoren große Schwankungen auf (Abb. 5.1.5.9). Dennoch ließ sich ab dem 36. Zyklus eine konstante Abnahme der NO_3-N-Konzentrationen in den Reaktoren erkennen. Die NO_3-N-Konzentration betrug durchschnittlich im R1 24,6 mg/l, im R2 39,6 mg/l und im R3 33,2 mg/l.

Im ersten, zweiten und vierten Einsatz war die N-Abbaurate niedrig (bis zu 24%). Dennoch wurde eine Optimierung des Stickstoffumsatzes im ersten Einsatz im R1 um 4,5% und im R2 um 9,1% im Vergleich zum Referenzreaktor festgestellt.
Im zweiten Einsatz konnte eine Steigerung des N-Abbaus im R2 um 20% im Vergleich zum Referenzre-

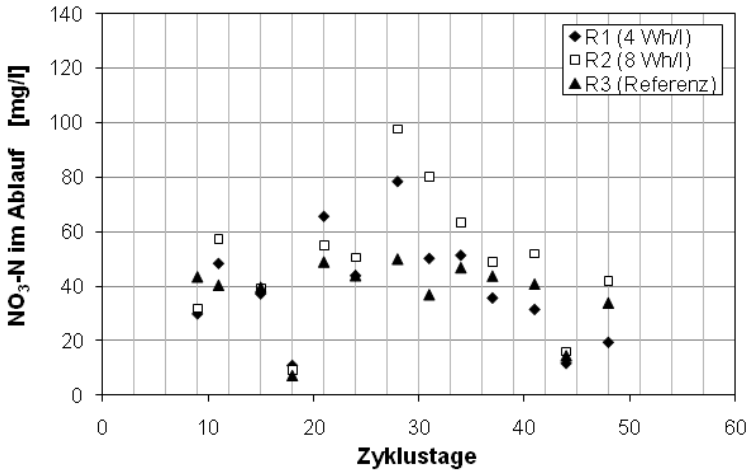


Abb. 5.1.5.9 NO_3-N-Konzentrationen im Ablauf während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

aktor berechnet werden.

Die N-Abbaurate lag im dritten Einsatz zwischen 60% und 71% und war somit hoch. Besonders im R2 wurde eine Optimierung des Stickstoffumsatzes um 11% erreicht. Im letzten Einsatz erfolgte der DOC-Abbau zwischen 18% und 24%. Ein Zusatz des behandelten ÜSS hat in diesem Einsatz keine Verbesserung des N-Abbaus gebracht.

Eine Berechnung des NH_4-N und NO_3-N im Verhältnis zum gesamten Stickstoff im Ablauf zeigte, dass der organische Stickstoff im ersten, zweiten und vierten Einsatz (Einsätze mit nidriger N-Abbaurate) nicht vollständig abgebaut wurde.

Bei jedem Einsatz zu einer bestimmten Denitrifikationsphase wurde ein Teil des Rücklaufschlammes bzw. des Überschussschlammes beschallt um die Stoffwechselleistung der Belebtschlamm-Biomasse zu steigern. Die während der Beschallung freigesetzten Substanzen sollten als Elektrondonatoren für die denitrifizierenden Bakterien dienen und gleichzeitig sollte das DOC/N-Verhältnis verbessert werden.

Die relativ kleinen Mengen an freigesetzten Substanzen waren nicht ausreichend, um das ungünstige DOC/N-Verhältnis zu optimieren. Trotzdem wurde in vier von sechs Reaktoren, wo ein Teil des RS behandelt wurde, eine Verbesserung der Denitrifikation beobachtet. Eine konstante Abnahme der NO_3-N-Konzentration im Ablauf des ersten und zweiten Reaktors im vierten Einsatz hat ebenfalls einen Hinweis für eine Optimierung der Denitrifikationsphase geliefert.

Die entsprechenden DOC/N-Verhältnisse wurden in der Tab. 5.1.5.3 (s. Seite 60) aufgeführt.

5.2 Wirkung des Ultraschalls auf die Abbauleistung in Batch-Experimenten

5.2.1 Wirkung auf Enzymaktivität

Der Einfluss einer Ultraschallbehandlung auf die Dehydrogenaseaktivität im Belebtschlamm wurde zusätzlich in Batch-Experimenten untersucht.

In den Abb. 5.2.1.1 und 5.2.1.2 wird die spezifische Enzymaktivität im Belebtschlamm in Abhängigkeit vom eingesetzten Energieeintrag und dem Anteil der beschallten Biomasse dargestellt.
Die Dehydrogenaseaktivität wurde sofort nach der Probenvorbereitung und zusätzlich nach einer und nach zwei Stunden (in der Grafik entsprechend Probenahme 1, 2 und 3) gemessen.

Eine Behandlung des Belebtschlammes mit Ultraschall hatte anfangs eine Abnahme der Dehydrogenaseaktivität zur Folge (s. Abb. 5.2.1.1). Eine Stunde nach der Beschallung stieg die DHA in mit den Ultraschall behandelten Proben im Vergleich zur Referenzprobe deutlich an. Zwei Stunden nach der Beschallung wurde eine erhöhte DHA in Proben, in den mindestens 30% der Biomasse beschallt wurde, beobachtet.

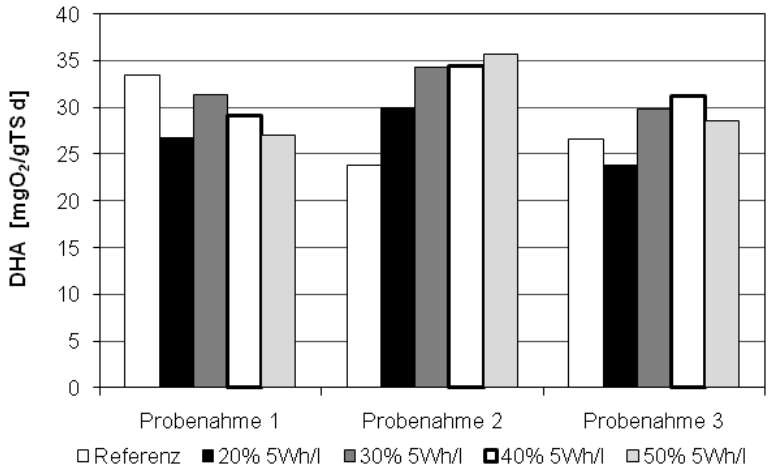


Abb. 5.2.1.1 Dehydrogenaseaktivität in einem Batch-Experiment (behandelt mit 5 Wh/l)

Im zweiten Experiment hatte die Behandlung mit einem Energieeintrag von 7 und 9 Wh/l sofort eine leichte Steigerung der DHA zufolge (s. Abb. 5.2.1.2). Eine Stunde nach der Beschallung wurde eine erhöhte DHA in mit 9 Wh/l behandelten Proben beobachtet. Zwei Stunden nach der Beschallung zeigte eine Probe, in der 30% der Biomasse mit dem Energieeintrag von 9 Wh/l behandelt wurde, eine erhöhte Aktivität.

Die in dem Batch-Experiment gewonnenen Ergebnisse stimmen mit den Literaturangaben aus der Tab. 5.1.2.1 überein.

Es wurde festgestellt, dass eine Ultraschallbehandlung mit dem Energieeintrag von 5 Wh/l die Biomasseaktivität gesteigert hat. Dagegen bewirkte eine Behandlung mit dem Energieeintrag von 7 und 9 Wh/l nur eine leichte Erhöhung der DHA, die nach zwei Stunden von der Beschallung in den meisten Proben nachgelassen hatte.

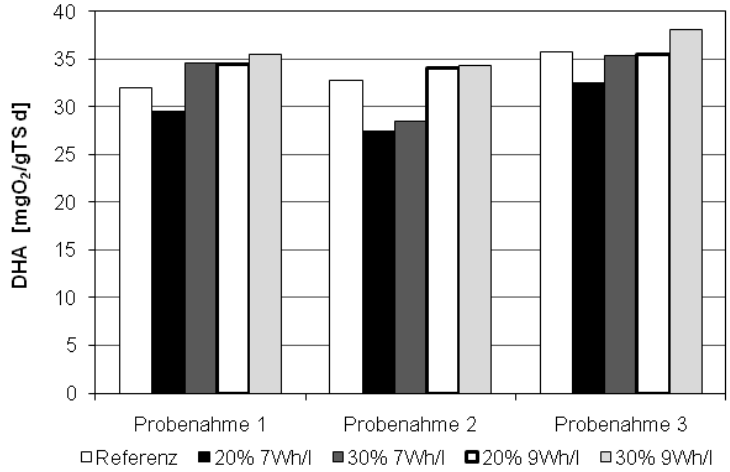


Abb. 5.2.1.2 Dehydrogenaseaktivität in einem Batch-Experiment (behandelt mit 7 Wh/l und 9 Wh/l)

Im Vergleich zu den gewonnenen Ergebnissen im SBR, ist die Steigerung der DHA in Batch-Experimenten gering und nimmt meistens nach zwei Stunden wieder ab. Diese Beobachtung erlaubt den Schluss, dass eine kontinuierliche Beschallung notwendig ist, um eine signifikante Erhöhung der mikrobiellen Stoffwechselaktivität zu erreichen.

5.2.2 Wirkung auf Atmungsaktivität

Der Einfluss des Ultraschalls auf die Atmungsaktivität der Belebtschlamm-Mikroorganismen wurde ebenfalls in einem Batch-Experiment untersucht. Die Messung des Sauerstoffverbrauchs erfolgte unmittelbar nach der Probenvorbereitung.

Die Abb. 5.2.2.1 zeigt den Sauerstoffverbrauch von Belebtschlamm-Mikroorganismen in Abhängigkeit vom eingesetzten Energieeintrag und einem Anteil beschallter Biomasse.
Aus den Grafikdaten erkennt man, dass eine Behandlung mit dem Energieeintrag von bis zu 20 Wh/l und mit dem Anteil beschallter Biomasse von bis zu 100% eine Erhöhung der mikrobiellen Aktivität der Belebt-

schlamm-Mikroorganismen im Vergleich zu der Referenzprobe zur Folge hatte.
Aufgrund einer Fehlmessung ist der Wert von 5 [Wh/l]; 5,15 [mg O_2 /gTS h] nicht verwendbar.

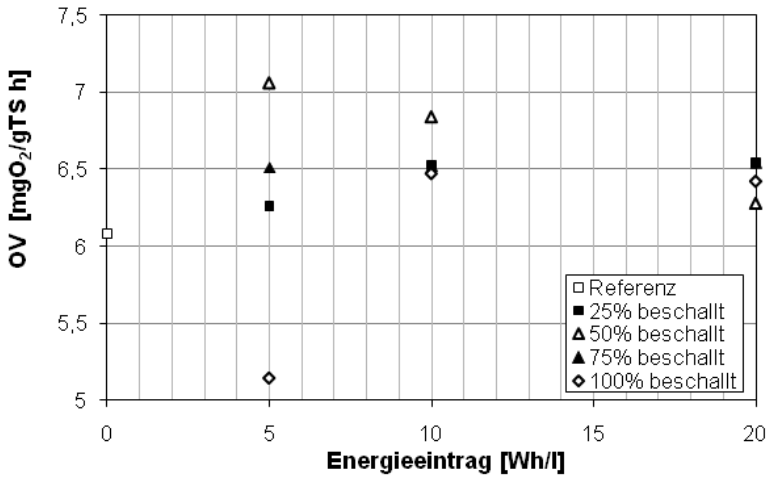


Abb. 5.2.2.1 Sauerstoffverbrauch in einem Batch-Experiment

Bei der Betrachtung der in der Tab. 5.1.3.1 aufgeführten Referenzwerte aus der Literatur kann man erkennen, dass der Sauerstoffverbrauch in der Referenzprobe niedrig ist. Durch eine Behandlung von 50% der Biomasse mit dem Energieeintrag von 5 Wh/l konnte dennoch die Atmugsaktivität von Mikroorganismen um etwa 16% gesteigert werden. Die Ergebnisse bestätigen, dass infolge der Beschallung der Weg für den Sauerstofftransport innerhalb der Belebtschlammflocke verkürzt wird und somit die mikrobielle Aktivität gesteigert werden kann.

4.2.3 Wirkung auf Denitrifikation

Eine Untersuchung der Wirkung des Ultraschalls auf die Aktivität denitrifizierender Bakterien erfolgte im Rahmen eines Batch-Experimentes mittels der Geschwindigkeitsmessung des Substratverbrauchs (NO_3^-). Hierfür wurden diverse Belebtschlammproben (unterschiedliche zur Beschallung bestimmte Biomasseanteile und Energieeinträge) in Batch-Experimenten untersucht.

Die Denitrifikationsgeschwindigkeit der Belebtschlammproben wird in der Abb. 5.2.3.1 dargestellt.
Aus der Grafik ist ersichtlich, dass das Substrat nach einer Behandlung mit dem Energieeintrag von 5 Wh/l und dem Anteil der beschallten Biomasse von 30% und 50% deutlich effektiver abgebaut wurde. Die Denitrifikationsgeschwindigkeit betrug in den Proben 1,7 mg NO_3-N/(gTS h).
Eine Beschallung mit dem Energieeintrag von 9 Wh/l und dem Anteil beschallter Biomasse von 30% hat

sich ebenfalls als positiv auf die Geschwindigkeit des Substratabbaus mit 1,6 mg NO_3-N/(gTS h) ausgewirkt. Eine Beschallung der Belebtschlamm-Biomasse mit dem Energieeintrag von 12 und 20 Wh/l wirkte sich dagegen negativ auf die Abbaugeschwindigkeit des Substrates aus.

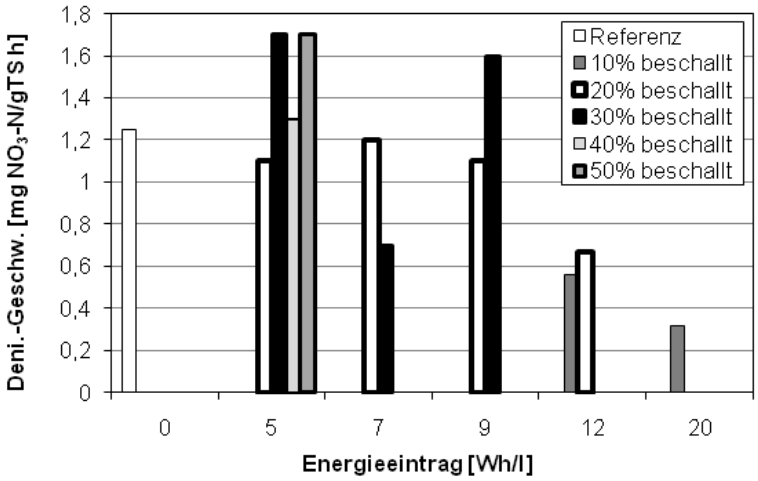


Abb. 5.2.3.1 Denitrifikationsgeschwindigkeit in einem Batch-Experiment

In der Tab. 5.1.5.2 wurden typische Denitrifikationsgeschwindigkeiten in Belebtschlämmen mit 0,4 - 17,2 mg NO_3-N/(gTS h) angegeben.
Die während des Experimentes ermittelten Werte von 0,3 - 1,7 mg NO_3-N/(gTS h) sind eher niedrig. Infolge der Beschallung wurde eine Optimierung der Denitrifikationsgeschwindigkeit auf bis zu 36% ermöglicht (Anstieg der Denitrifikationsgeschwindigkeit von 1,25 bis auf 1,7 mg NO_3-N/(gTS h)).
Die Beschallung sorgte für eine Zerlegung der Flocken. Durch diese Zerlegung wurde ein Zugang des Substrates zu denitrifizierenden Bakterien verbessert.

Ein weiterer Grund für die o.g. Verbesserung ist eine gezielte Verwendung der bei der Beschallung freigesetzten Substanzen als Wasserstoffquelle bzw. Elektronendonatoren für die Denitrifikation.

5.3 Wirkung des Ultraschalls auf die aktive Biomasse

5.3.1 Wirkung auf Belebtschlamm

5.3.1.1 Erkenntnisse aus dem SBR

Wirkung des Ultraschalls auf die Belebtschlamm-Biomasse wurde mittels verschiedener mikroskopischer Techniken, wie Lichtmikroskopie, REM, TEM und chemischer Analysen. Freisetzung von DOC und N, DHA wurden untersucht.

Eine REM-Untersuchung der Belebtschlammprobe aus KA Seevetal bestätigt unregelmäßige Flocken mit zahlreichen Filamenten (s. Abb. 5.3.1.1.1a), die innerhalb der Flocken lagen, aber auch aus den Flocken herausragten. Bei einer 20.000-fachen Vergrößerung (Abb. 5.3.1.1.1b) sind in die EPS-Matrix eingebettete stäbchenförmige und coccoide Bakterien noch kaum zu erkennen. Bedingt durch die für REM notwendige Trocknung der Präparate erscheint die EPS fadenförmig. In hydriertem Zustand sind die Zellen von diesem Material gelartig umgeben.

a) b)

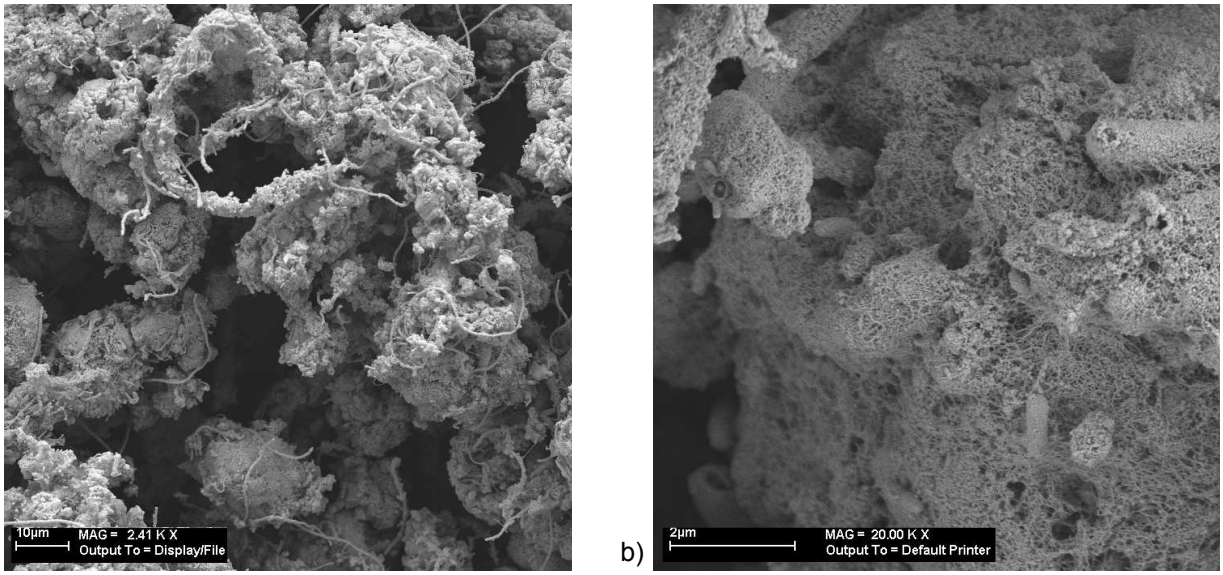
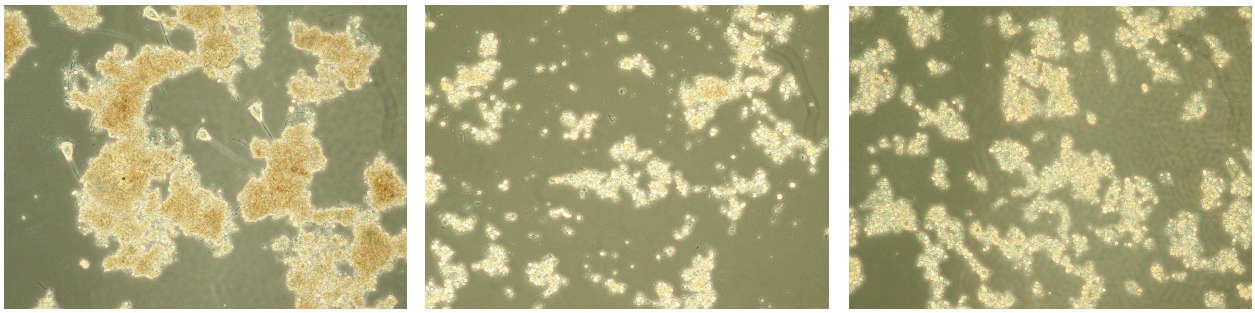


Abb. 5.3.1.1.1 REM-Aufnahme des Belebtschlammes aus KA Seevetal (unbehandelt): a) Übersichtsaufnahme, b) Nahaufnahme

Die durch Ultraschallbehandlung hervorgerufene Veränderung der Flockenstruktur des Belebtschlammes ließ sich auch während der kontinuierlichen Einsätze in der Versuchsanlage mikroskopisch beobachten. Die lichtmikroskopische Untersuchung des Schlammes wurde während des dritten und vierten Einsatzes durchgeführt. Ergebnisse dieser Untersuchung werden im Anhang dargestellt.

Während des dritten Einsatzes wurden im R1 und im R2 kleine bis mittlere Flocken beobachtet. Sie hatten eine Größe von 50 bis 150 µm und eine unregelmäßige Form. Andererseits waren sie bis zu 500 µm groß und durch eine kompakte und abgerundete Struktur gekennzeichnet. Im Referenzreaktor wurden vor allem Flocken von der Größe 150 bis 500 µm beobachtet. Die Flockenstruktur war meistens kompakt und abgerundet. Die Anwesenheit von Protozoen (*Chilodonella* spp*., Cephalodella* spp*., Philodina* spp*., Epistylis* spp*., Zoothamnium* spp*., Vorticella convallaria*, Nematoden) im Referenzreaktor und in der mit Ultraschall behandelten Reaktoren war vergleichbar. Schalenamöben wurden jedoch im R1 und R2 nicht beobachtet.

Im vierten Einsatz ist es im R1 und im R2 zu einer rasanten Reduktion der Flockengröße gekommen. Diese Reduktion ist in der Abb. 5.3.1.1.2 zu erkennen. Flocken aus diesen Reaktoren hatten eine Größe von 50 bis 150 µm und eine unregelmäßige Form. Dagegen waren die Schlammflocken im Referenzbecken groß (bis über 500 µm) bis mittelgroß (100 bis 150 µm) und durch eine kompakte und abgerundete Struktur gekennzeichnet. Vergleichsanalysen des Belebtschlammes aus dem Referenzbecken und aus der KA Seevetal zeigen nur kleine quantitative und qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung des Schlammes.



Referenzbecken | Ultraschallbecken (4 Wh/l) | Ultraschallbecken (8 Wh/l)

Abb. 5.3.1.1.2 Lichtmikroskopische Phasenkontrastaufnahme der Flockenstruktur aus SBR in nativem Präparat. 100-fache Vergrößerung

Im R1 und im R2 ist die Zahl der Protozoen zurückgegangen. In dem Einsatz wurde 14,8% des RS kontinuierlich behandelt. Der Schlammalter betrug 13,5 Tage. Dagegen wurde im Referenzbecken eine deutlich größere Protozoen-Vielfalt beobachtet, ähnlich deren aus der KA Seevetal (*Chilodonella* spp*., Cepha-*

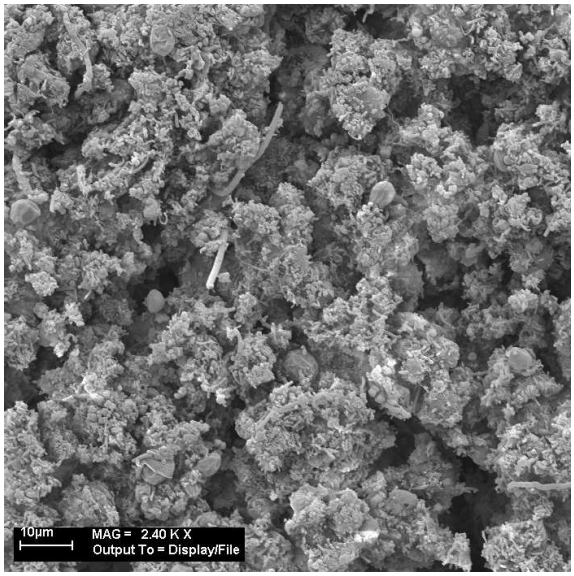
Iodella spp.*, Philodina* spp.*, Epistylis* spp.*, Zoothamnium* spp.*, Vorticella convallaria*, Nematoden, Schalenamöben).
Das Auftreten von höheren Mikroorganismen in kontinuierlichen Einsätzen ist in der folgenden Tabelle schematisch abgebildet.

Tab. 5.3.1.1.1 Auftreten der höheren Mikroorganismen im Belebtschlamm während der kontinuierlichen Einsätze

Schlammprobe	**3. Einsatz**	**4. Einsatz**
KA Seevetal	zahlreiches Vorkommen	zahlreiches Vorkommen
R 1	zahlreiches Vorkommen	wenige Mikroorganismen
R 2	zahlreiches Vorkommen	wenige Mikroorganismen
R 3	zahlreiches Vorkommen	zahlreiches Vorkommen

Die anschließende REM-Untersuchung der Belebtschlamm-Biomasse aus den SB Reaktoren bestätigt eine Reduktion der Flockengröße in den Reaktoren, in denen Ultraschall eingesetzt wurde. Sie deutet ebenfalls auf eine Unterdrückung des Wachstums fadenförmiger Bakterien (s. Abb. 5.3.1.1.3a) an.
Die Wirkung des Ultraschalls auf die fadenförmige Bakterien wird ausführlich im Kapitel 5.3.2 dargestellt.

Des Weiteren ergibt die REM-Untersuchung des Belebtschlammes aus den SB Reaktoren, dass die EPS-Matrix mit inneren, eingebetteten Bakterien während der Beschallung immer wieder zerfiel und im Laufe des Reinigungszyklus (24 h) durch Belebtschlamm-Bakterien aufgebaut wurde.

a) 

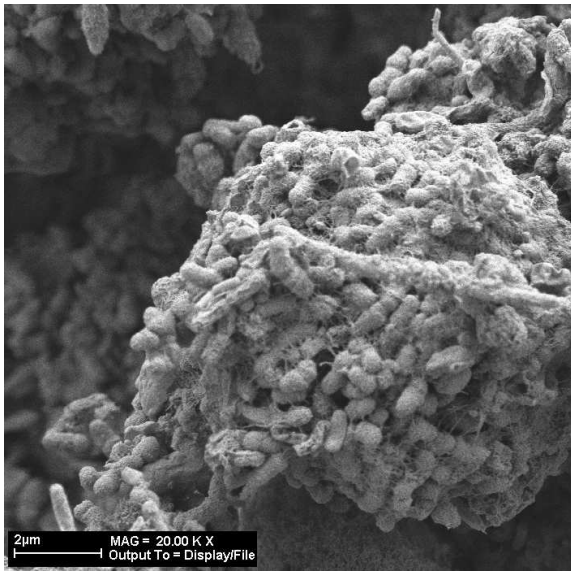
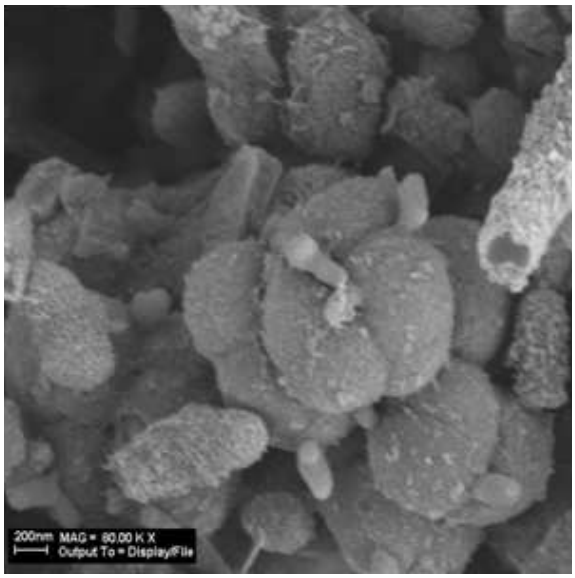
b) 

Abb. 5.3.1.1.3 REM-Aufnahme des Belebtschlammes aus dem SBR (4 Wh/l): a) Übersichtsaufnahme, b) Nahaufnahme

Die Abb. 5.3.1.1.3b stellt eine Schlammflocke aus dem SBR dar, in der die Bakterien in einem dünnen EPS-Mantel eingebettet sind. Siehe auch eine Nahaufnahme einer Schlammflocke aus der KA Seevetal in der Abb. 5.3.1.1.1b.

Darüber hinaus zeigt die REM-Untersuchung, dass *Nitrospira*-Bakterien bei einer kontinuierlichen Teilstrombehandlung des RS von 50% mit einem Energieeintrag von 4 Wh/l langfristig nicht negativ beeinflusst wurden. Die Abb. 5.3.1.1.4a stellt eine REM-Aufnahme einer *Nitrospira*-Mikrokolonie aus dem SBR dar. Die Tetraden kommen unverletzt vor. Nur ein geringer Teil der umgehenden Kapsel der Mikrokolonie wurde infolge der Beschallung aufgelöst.
Eine Belastbarkeit von *Nitrospira*-Zellen gegen Ultraschall konnte durch das Vorkommen in Mikrokolonien und Einkapseln erklärt werden. Die typische Zusammensetzung einer *Nitrospira*-Mikrokolonie ist sehr gut in der TEM-Aufnahme abgebildet (Abb. 5.3.1.1.4b).

a) 

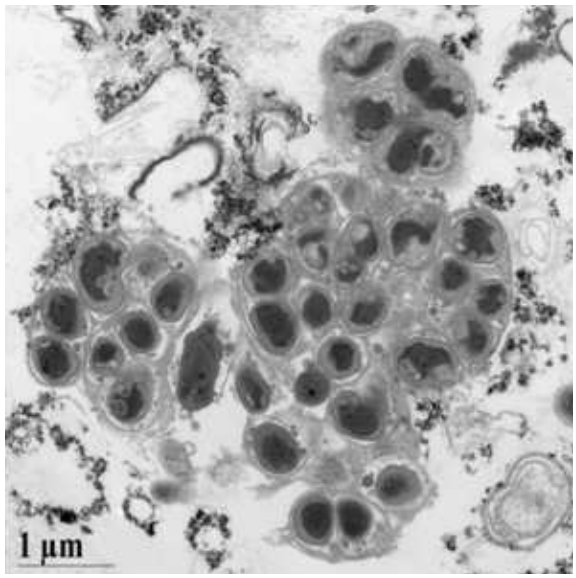
b) 

Abb. 5.3.1.1.4 *Nitrospira*-Mikrokolonie in einer Belebtschlammprobe: a) REM-Aufnahme aus dem SBR (behandelt mit 4 Wh/l), b) TEM-Aufnahme aus der KA Seevetal (behandelt mit 10 Wh/l)

5.3.1.2 Erkenntnisse aus Batch-Experimenten

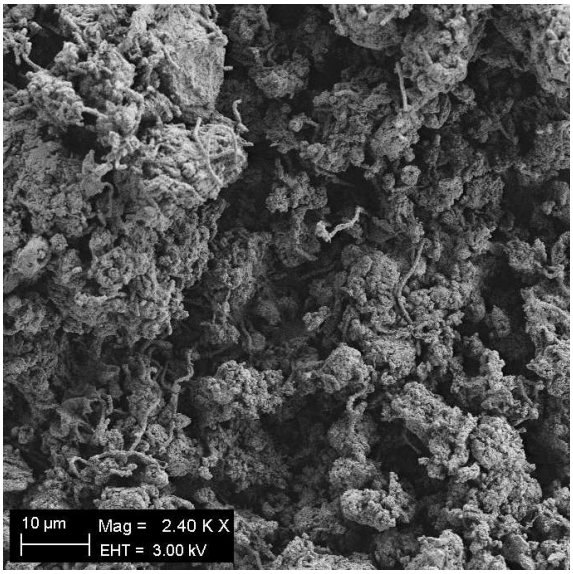
Um die Wirkung des Ultraschalls auf den Belebtschlamm zu untersuchen wurde eine 1 l Probe aus der KA Seevetal (TS des Schlammes betrug 4,24 g/l) mit einem Energieeintrag von 2, 5, 10 und 20 Wh/l beschallt. Die Belebtschlammproben wurden mit Hilfe der REM-Technik und chemischer Analysen bewertet.

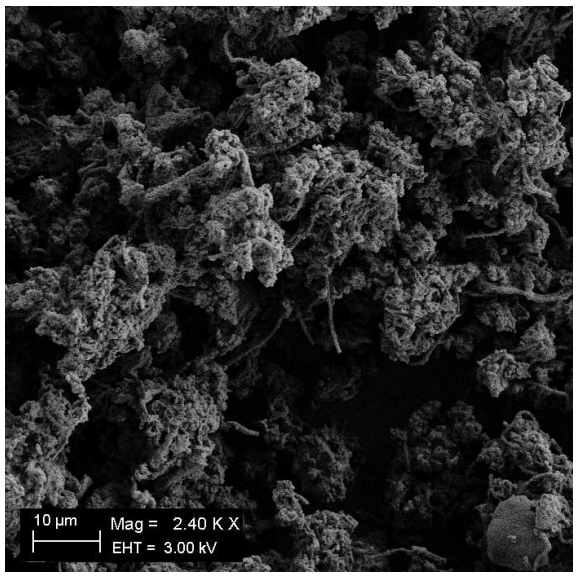
Die entsprechenden REM-Aufnahmen werden in der Abb. 5.3.1.2.1 gezeigt.

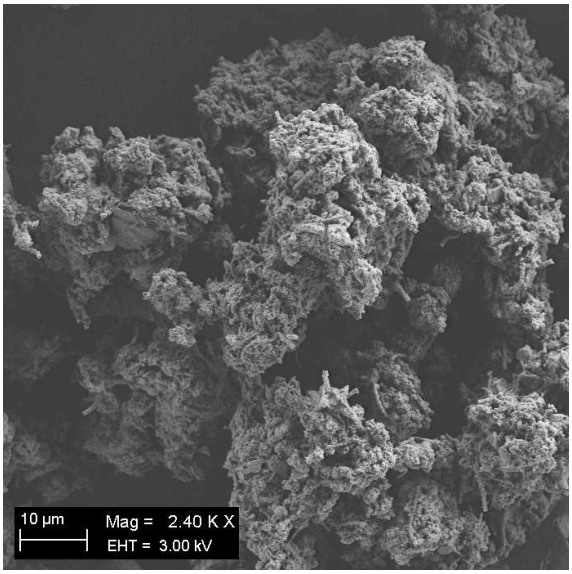
Die Abb. 5.3.1.2.1a stellt den unbehandelten Belebtschlamm dar. Siehe auch eine Aufnahme der Referenzprobe in der Abb. 5.3.1.1.1a.

Bei einem Energieeintrag von 2 Wh/l wurde eine geringe Beanspruchung der Flockenstruktur beobachtet. In der Abb. 5.3.1.2.1b sind ebenfalls unregelmäßige Schlammflocken und zahlreiche fadenförmige Organismen zu sehen.

Erst bei 10 Wh/l wurde die ausgeprägte Flockenstruktur des Belebtschlammes zerstört. Von den fadenförmigen Organismen sind nur kurze Fragmente erkennbar (s. Abb. 5.3.1.2.1c).

a) 

b) 

c) 

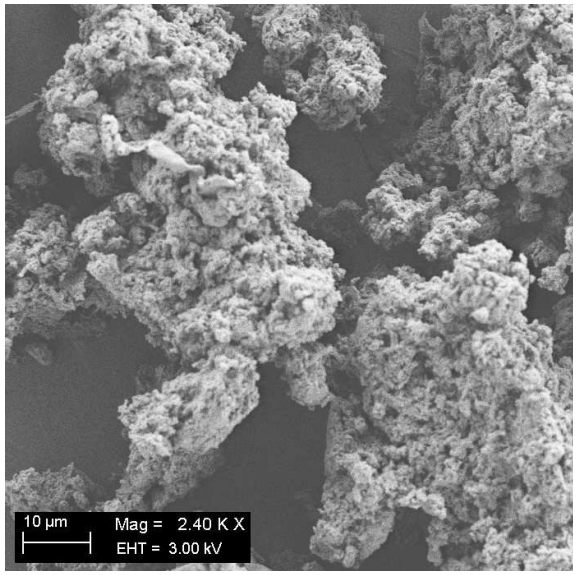
d) 

Abb. 5.3.1.2.1 REM-Aufnahmen des Belebtschlammes aus KA Seevetal: a) unbehandelt, b) behandelt mit 2 Wh/l, c) behandelt mit 10 Wh/l, d) behandelt mit 20 Wh/l, 2.400-fache Vergrößerung

Bei 20 Wh/l wurde die Flockenstruktur vollständig zerstört (Abb. 5.3.1.2.1d) und die Bakterienzellen freigelegt. Die freigelegten Zellen sind erst bei einer 20.000-fachen Vergrößerung erkennbar (s. Abb. 5.3.1.2.2). In dieser Probe wurden keine Filamente mehr gefunden.

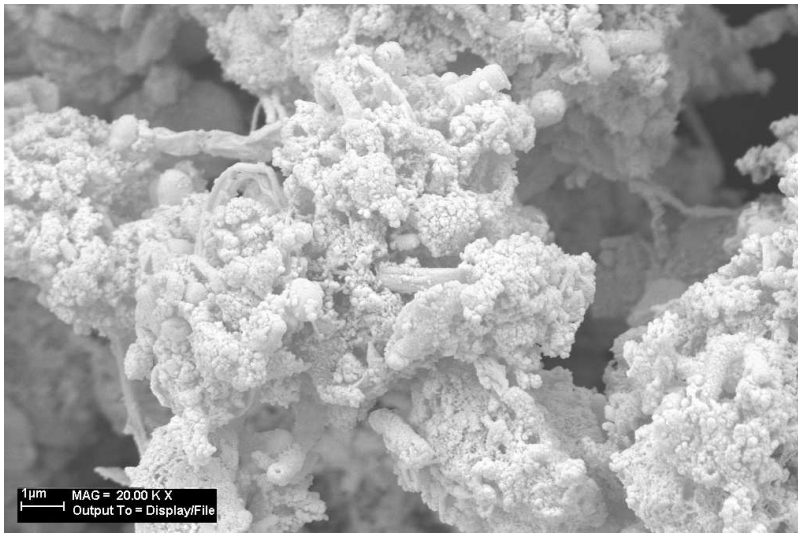


Abb. 5.3.1.2.2 REM-Aufnahme des Belebtschlammes aus KA Seevetal (behandelt mit 20 Wh/l), 20.000-fache Vergrößerung

Die REM-Untersuchungen zeigen, dass mit zunehmender Behandlungsdauer die EPS zerschlagen und homogenisiert wurde. Somit kann der Ultraschall die EPS wirkungsvoll freisetzen, und dadurch ihre Bioverfügbarkeit steigern.

Anhand dieser Untersuchungen lässt sich jedoch nicht feststellen, wann (bei welchem Energieeintrag) die in der EPS-Matrix eingebetteten stäbchenförmigen und coccoiden Bakterien aufgeschlossen werden.

Als Maß für die Desintegration durch Ultraschall kann die Freisetzung von organischer Substanz herangezogen werden.
In der folgenden Abbildung ist die DOC- und N-Freisetzung aus Belebtschlamm in Abhängigkeit des steigenden Energieeintrags dargestellt. Die Grafik zeigt deutlich, dass durch Ultraschall der DOC und Stickstoff freigesetzt wurde und zwar schon bei geringem Energieeintrag. Der freigesetzte DOC und Stickstoff kommt von aufgeschlossenen Zellen, vermutlich von Fadenbakterien und von den EPS. Wie die REM-Aufnahmen zeigen, sind die Fadenbakterien besser zugänglich für die explodierenden Kavitationsblasen. Bei höherem Energieeintrag kommen die freigesetzte organische Substanzen von in der EPS-Matrix eingebetteten stäbchenförmigen und coccoiden Bakterien.
Bei der Annahme, dass 1 gTS einer Bakteriumzelle 20% des Kohlenstoff enthält, kann theoretisch maximal 0,2 g Kohlenstoff freigesetzt werden. Bei einem Energieeintrag von 10 Wh/l wurde etwa 30 mg des

DOC durch Ultraschall freigesetzt. Dividiert man den Wert durch TS des Belebtschlammes (4,24 g/l), bekommt man etwa 7 mg DOC /gTS. Das macht rund 1/29 der maximalen theoretischen Freisetzung des Kohlenstoffs aus. Trotz der Tatsache, dass die kleinen Mengen an freigesetztem DOC das C/N-Verhältnis im SBR nicht verbessern konnten, wurde eine Intensivierung des N-Abbaus erreicht. Die Ursache für diese Erscheinung soll mittels folgender Untersuchungen ermittelt werden.
Die organischen Substanzen (DOC und N) wurden bei einem Energieeintrag von 10 Wh/l aus Belebtschlamm im Verhältnis 3 : 1 freigesezt. Der sehr geringe Anteil an Stickstoff kann das C/N-Verhältnis nicht negativ beeinflussen.

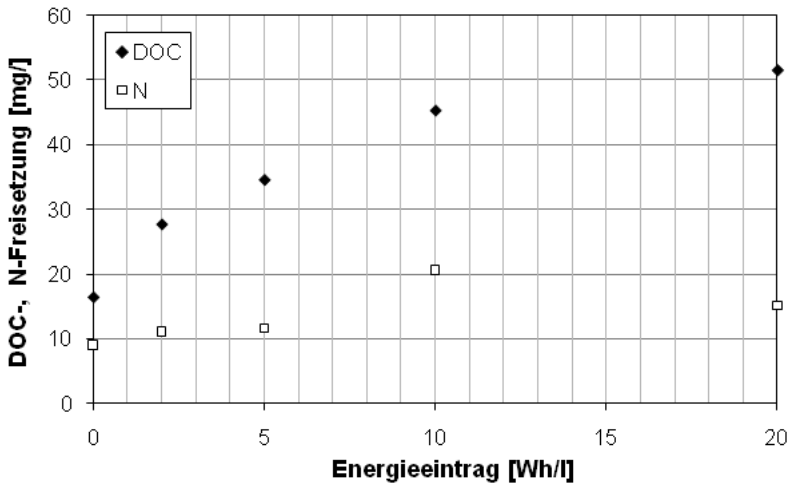


Abb. 5.3.1.2.3 DOC-, N-Freisetzung aus dem Belebtschlamm durch Ultraschall

Für dieselben Proben wird in der Abb. 5.3.1.2.4 die DHA im Belebtschlamm-Biomasse in Abhängigkeit des steigenden Energieeintrages dargestellt.
Bei Betrachtung der Grafik erkennt man, dass der Ultraschall schon bei einem geringen Energieeintrag eine Abnahme der DHA im Belebtschlamm bewirkte. Dabei muss beachtet werden, dass der Anteil der beschallten Biomasse in der Probe 100% betrug.

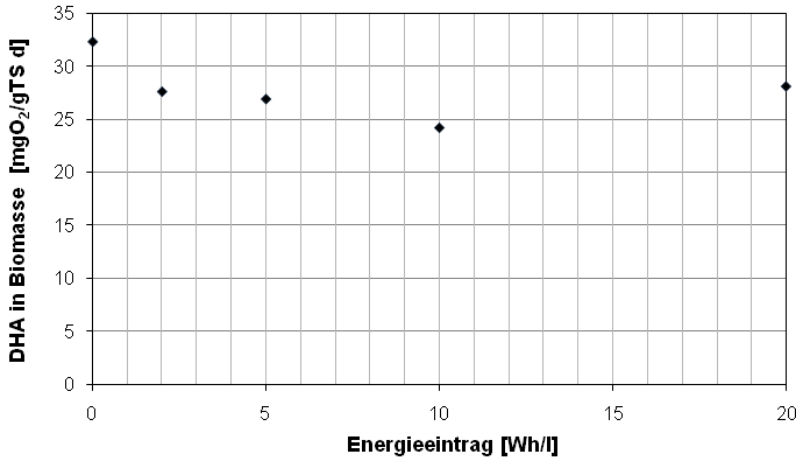


Abb. 5.3.1.4 DHA in der Biomasse nach der Ultraschallbehandlung

5.3.2 Wirkung auf fadenförmige Bakterien

5.3.2.1 Erkenntnisse aus dem SBR

Im Belebtschlamm aus der KA Seevetal im Januar 2010 wurden zahlreiche Filamente, die innerhalb der Flocken lagen, freischwammen, aber auch aus den Flocken herausragten, beobachtet. Als dominierende Fadenbakterien wurden *M. parvicella* und Eikelboom Typ 0041/0675 eingestuft. Als untergeordnete Fadenbakterien wurden *Nostocoida limicola* II und *Isosphaera* spp. eingestuft. Diese Belebtschlammprobe diente für den Einsatz, der in der Tab. 4.1.3.1 (s. 39) als 4 dargestellt wird.

Im Belebtschlamm aus der KA Seevetal vom Juni 2010 wurden ebenfalls zahlreiche Filamente, die innerhalb der Flocken lagen, freischwammen, aber auch aus den Flocken herausragten, beobachtet. Als dominierende Fadenbakterien wurden *Nostocoida limicola* III und Eikelboom Typ 0041/0675 eingestuft. Als untergeordnete Fadenbakterien wurden *M. parvicella* und Fadenpilze eingestuft. Diese Belebtschlammprobe diente für den Einsatz, der in der Tab. 4.1.3.1 (s. Seite 39) als 3 dargestellt wird.
Die während des dritten Einsatzes durchgeführte lichtmikroskopische Untersuchung zeigt in den mit Ultraschall behandelten Reaktoren, kurze, in der Flocke liegende Fragmente von *Nostocoida limicola* III-Filamenten. Diese wurden durch die Beschallung deutlich geschädigt und waren weniger anzutreffen. Die - Zahl anderer Fadenbakterienarten ist ebenfalls zurückgegangen.
Der Vergleich des Belebtschlammes aus dem Referenzbecken und aus der KA Seevetal zeigt quantitati-

ve Unterschiede in der Zusammensetzung von Fadenbakterien. Vor allem ist das Auftreten von *Nostocoida limicola* III zurückgegangen.
Die während des vierten Einsatzes durchgeführte lichtmikroskopische Untersuchung zeigt in mit Ultraschall behandelten Reaktoren hauptsächlich in der Flocke liegende Fadenbakterien. Die aus der Flocke herausragenden Bakterien, wie *M. parvicella,* wurden durch die Beschallung geschädigt und waren weniger anzutreffen. Darüber hinaus wurde im R1 und im R2 ein erhöhtes Wachstum an *Isosphaera* spp. beobachtet. Sie hat sich mit ihrer kugeliger Zellform am besten angepasst.
Die *Isosphaera* spp. wird in kommunalen Kläranlagen identifiziert und zu den untergeordneten Fadenakterien eingestuft (Schade, 2006).
Der Vergleich von Belebtschlamm aus dem Referenzbecken und aus der KA Seevetal zeigte nur geringe quantitative und qualitative Unterschiede in der Zusammensetzung von Fadenbakterien.

Das Auftreten von Fadenbakterien in kontinuierlichen Einsätzen ist schematisch in der folgenden Tabelle dargestellt.

Tab. 5.3.2.1 Auftreten der Fadenbakterien im Belebtschlamm während der kontinuierlichen Einsätze

Schlammprobe	**3. Einsatz**	**4. Einsatz**
KA Seevetal	in der Flocke liegende, freischwimmende und aus der Flocke herausragende	in der Flocke liegende, freischwimmende und aus der Flocke herausragende
R 1	vor allem in der Flocke liegende	vor allem in der Flocke liegende, *Isosphaera* spp. als dominantes Fadenbakterium
R 2	vor allem in der Flocke liegende	vor allem in der Flocke liegende, *Isosphaera* spp. als dominantes Fadenbakterium
R 3	in der Flocke liegende, freischwimmende und aus der Flocke herausragende	in der Flocke liegende, freischwimmende und aus der Flocke herausragende

In mit Ultraschall behandelten SB Reaktoren wurde erwartungsgemäß eine signifikante Reduktion der Anzahl sowie der Länge der fadenförmigen Bakterien festgestellt. Die Ergebnisse mikroskopischer Untersuchungen zeigen, dass eine kontinuierliche Beschallung mit einem Energieeintrag von 4 Wh/l zu einer optimalen Unterdrückung des Wachstums fadenförmiger Bakterien führt.
Einfluss des Ultraschalls auf *M. parvicella* wird in Details im Kapitel 5.1.4 beschrieben.

5.3.3 Wirkung auf nitrifizierende Bakterien

5.3.3.1 Populationsstruktur nitrifizierender Bakterien

In der Abb. 5.3.3.1.1 wird die Zusammensetzung ammoniakoxidierender Bakterien und in der Abb. 5.3.3.1.2 nitritoxidierender Bakterien dargestellt, die in Kategorien (s. Kap. 3.4.2) unterteilt wurden. Mikroskopische Aufnahmen aus der FISH-Untersuchung werden im Anhang aufgeführt.

Aus folgenden Abbildungen ist ersichtlich, dass *Nitrosospira* spp. als dominierende Gattung der AOB und *Nitrospira* spp. als dominierende Gattung der NOB in der KA Bünde eingestuft wurden. In der KA Seevetal wurde *Nitrosomonas* spp. als dominierende Gattung der AOB und *Nitrobacter* spp. als dominierende Gattung der NOB eingestuft.

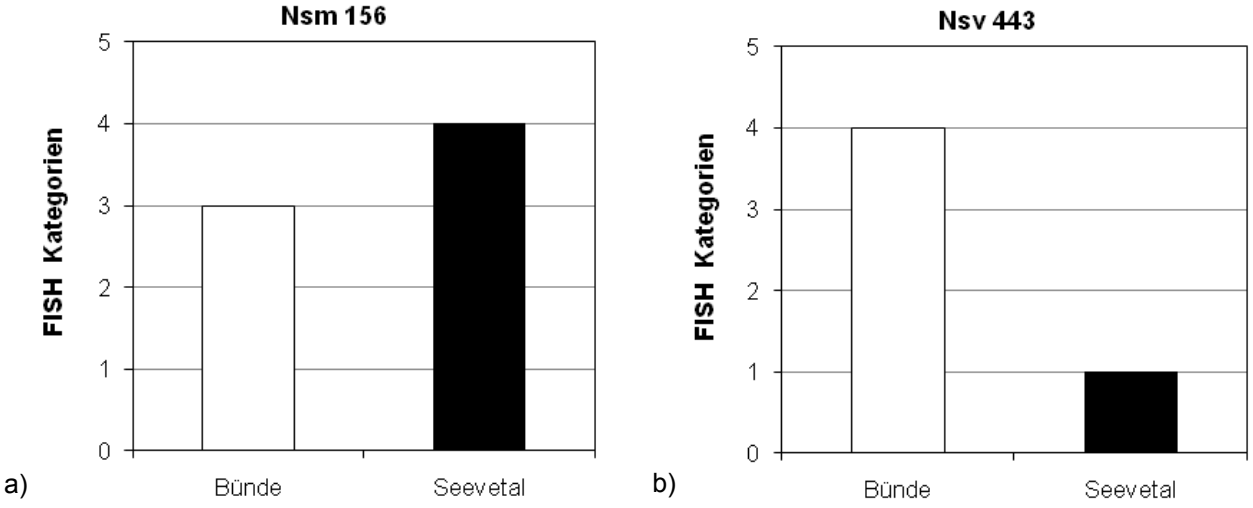


Abb. 5.3.3.1.1 Populationsstruktur AOB in der KA Bünde und KA Seevetal dargestellt mittels spezifischer Oligonukleotidsonden: a) Nsm 156 (*Nitrosomonas*), b) Nsv 443 (*Nitrosospira*)

In meisten kommunalen Kläranlagen wird *Nitrosomonas* spp. als dominierender Vertreter der AOB (Wagner et al., 1995; Mobarry et al., 1996; 26, Stephen et al., 1996) und *Nitrospira* spp. als dominierender Vertreter der NOB identifiziert (Juretschko et al., 1998; Daims et al., 2001; Wagner und Loy, 2002). Hiorns et al. (1995), Stephen et al. (1996) und Kowalchuk et al. (1997) beobachteten *Nitrosospira* spp. anstatt *Nitrosomonas* spp. in natürlichen Systemen (mit niedrigen Konzentrationen von Ammonium). Kreuzinger et al. (2003) fand dagegen *Nitrosospira* spp. in industriellen Kläranlagen mit unvollständiger Nitrifikation.

Bei der Betrachtung chemischer Parameter von der KA Bünde und KA Seevetal erkennt man, dass die Konzentration von Ammonium im Zulauf der KA Seevetal mit 60 g/l zweifach die Konzentration von Am-

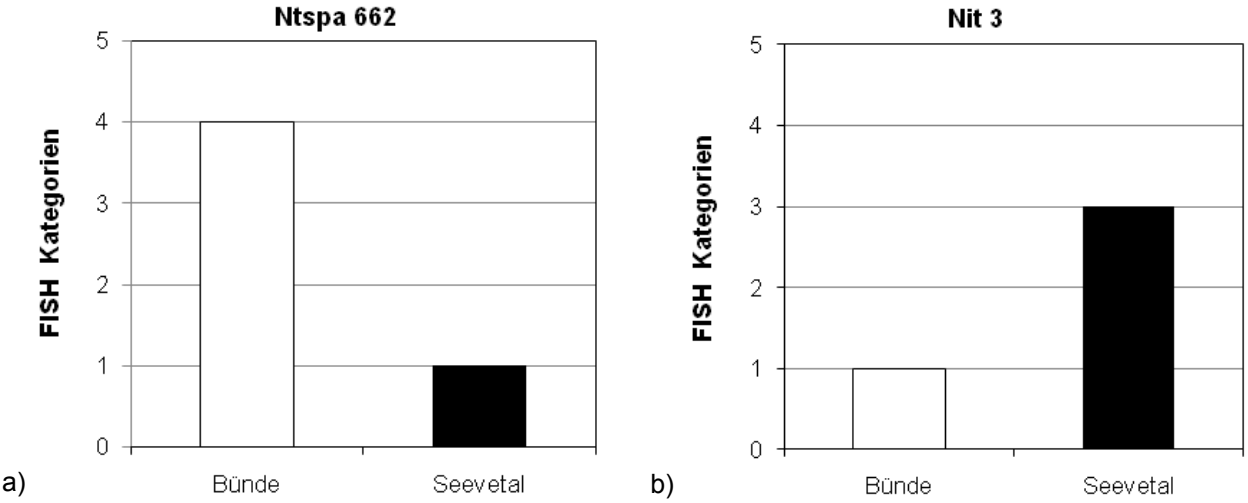


Abb. 5.3.3.1.2 Populationsstruktur NOB in der KA Bünde und KA Seevetal dargestellt mittels spezifischer Oligonukleotidsonden: a) Ntspa 662 (*Nitrospira*), b) Nit 3 (*Nitrobacter*)

monium im Zulauf der KA Bünde überragt.* Im Allgemeinen liegt Konzentration von Ammonium im Zulauf von kommunalen Kläranlagen bei etwa 45 mg/l (Gujer, 2007). Aufgrund unterschiedlicher Belastung beider Kläranlagen und fehlender detaillierter Zusammensetzung des Abwassers (wie Anwesenheit der Hemmstoffe) kann nicht eindeutig festgestellt werden, ob die Zusammensetzung nitrifizierender Bakterien in der KA Bünde dem Ultraschall zuzuschreiben ist.

5.3.3.2 Erkenntnisse aus dem SBR

Im Rahmen der Untersuchung der Abbauleistung im SBR wurde die Wirkung des Ultraschalls auf die Aktivität nitrifizierender Bakterien mittels Messung des Sauerstoffverbrauchs bestimmt.

In der Tab. 5.3.3.2.1 wird die Einstufung für den Sauerstoffverbrauch nitrifizierender Bakterien im Belebtschlamm von Kreuzinger et al. (2003) dargestellt. Sie wird für die Bewertung der Aktivität nitrifizierender Bakterien in dieser Studie eingesetzt.

Tab. 5.3.3.2.1 Einstufung für den Sauerstoffverbrauch nitrifizierender Bakterien im Belebtschlamm in mg O_2/(gTS h) bei 20°C (Kreuzinger et al., 2003)

0 - 0,5	0,5 - 1,5	1,5 - 5	5 - 10	10
sehr niedrig	niedrig	durchschnittlich	hoch	sehr hoch

* Eine Zusammenstellung der Kennwerte in der KA Bünde und KA Seevetal wurde in der Tab. 3.1.1 aufgeführt

Die Abb. 5.3.3.2.1 liefert Informationen darüber, wie sich der Sauerstoffverbrauch von AOB im Laufe des ersten kontinuierlichen Einsatzes verändert hat.
Die spezifische Atmungsaktivität von AOB war im R1 und R2 bis zum 24. Zyklus „hoch“. Der Verbrauch des Sauerstoffs von AOB erreichte während der Beschallungsphase einen durchschnittlichen Wert im R1 von 6,3 und im R2 von 5,6 mg O_2/(gTS h). Im R3 betrug der Sauerstoffverbrauch etwa 3,4 mg O_2/(gTS h) Dennoch ist seit der starken Erhöhung der Substratzufuhr (s. Kapitel 4.1.3) die Aktivität der AOB in allen Reaktoren zurückgegangen.

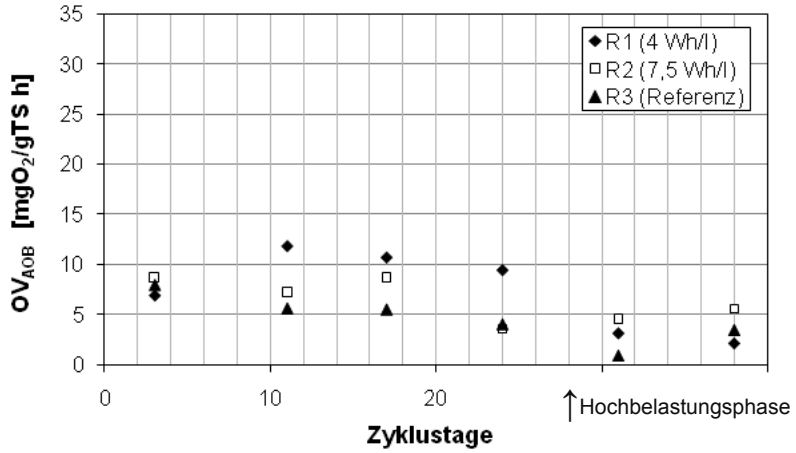


Abb. 5.3.3.2.1 Sauerstoffverbrauch von AOB während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

Aus den Grafikdaten konnte festgestellt werden, dass eine Ultraschallbehandlung eine positive Auswirkung auf die Aktivität der AOB in diesem Einsatz hatte.

Der Verlauf des Sauerstoffverbrauchs der NOB in erstem Einsatz wird in der Abb. 5.3.3.2.2 dargestellt. Bei der Betrachtung der Grafik erkennt man, dass der Sauerstoffverbrauch von NOB im R1 während der gesamten Beschallungsphase „sehr niedrig“ war und lag durchschnittlich bei 0,4 mg O_2/(gTS h).
Die Atmungsaktivität der NOB war im R2 und R3 bis zum 17. Zyklus „durchschnittlich“. Der Sauerstoffverbrauch ist ab diesem Zyklus im R2 und R3 stark gestiegen und wurde als „sehr hoch“ bezeichnet. Während der Beschallungsphase betrug er im R2 durchschnittlich 8,6 und im R3 9,3 mg O_2/(gTS h).

Bei der Betrachtung des Sauerstoffverbrauchs von AOB und NOB im ersten kontinuierlichen Einsatz erkennt man, dass eine starke Erhöhung der Substratzufuhr eine Abnahme der Atmungsaktivität von AOB und gleichzeitig eine Steigerung der Aktivität von NOB hervorgebracht hat. Die AOB wurden vermutlich durch eine große Belastung von Ammonium und von im Abwasser enthaltenen organischen Substanzen gehemmt. Die Aktivität von NOB wurde in diesem Zusammenhang begünstigt. Eine Abnahme der Aktivität

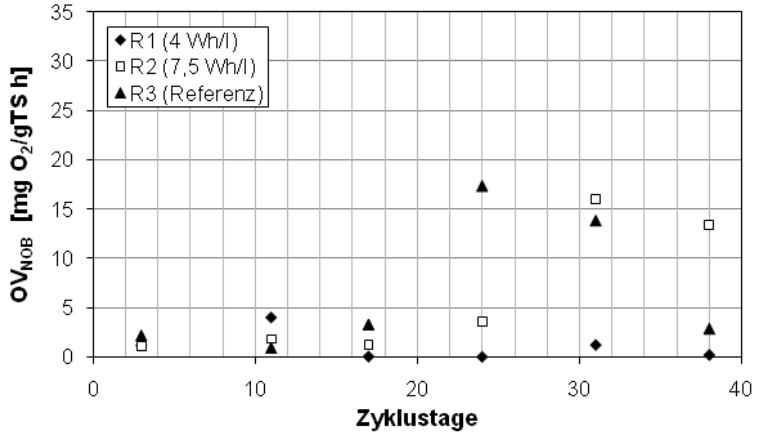


Abb. 5.3.3.2.2 Sauerstoffverbrauch von NOB während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

von AOB könnte auch durch die Behauptung einer Populationsverschiebung von *Nitrosomonas* spp. (dominierende AOB in der KA Seevetal) in der Richtung *Nitrosospira* spp. erklärt werden.

Abb. 5.3.3.2.3 zeigt den Sauerstoffverbrauch der AOB im zweiten kontinuierlichen Einsatz.
Während der Einfahrphase wurde ein Anstieg der Atmungsaktivität von AOB in allen Reaktoren beobachtet. Während der Beschallungsphase wurde die Atmungsaktivität als „hoch“ und „sehr hoch“ eingestuft. Der Sauerstoffverbrauch betrug dann durchschnittlich im R1 16,7 mg O_2/(gTS h), im R2 mg O_2/(gTS h) und im R3 11,9 mg O_2/(gTS h).

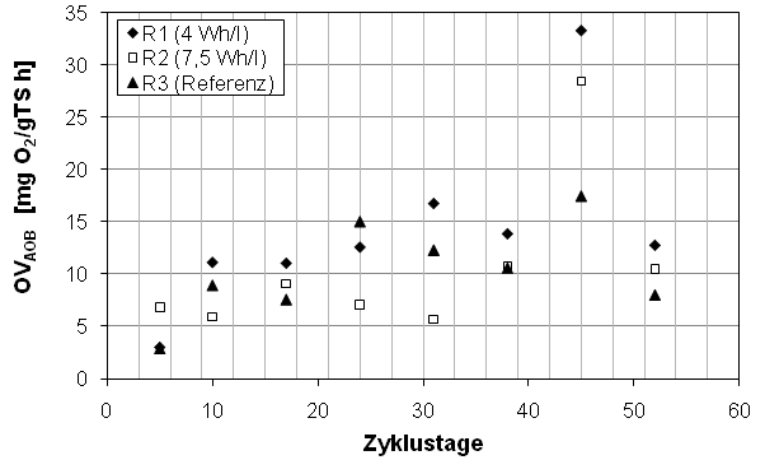


Abb. 5.3.3.2.3 Sauerstoffverbrauch von AOB während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Aus der Abb. 5.3.3.2.4 ist ersichtlich, dass die Atmungsaktivität von NOB während der Beschallungsphase in allen Reaktoren als „durchschnittlich“ bis „hoch“ eingestuft sein konnte. Ab den 17. Zyklus konnte im R2 eine Abnahme der Atmungsaktivität beobachtet werden. Der Sauerstoffverbrauch betrug während der zweiten Phase durchschnittlich im R1 9,1, im R2 2,9 und im R3 5,9 mg O_2/(gTS h).

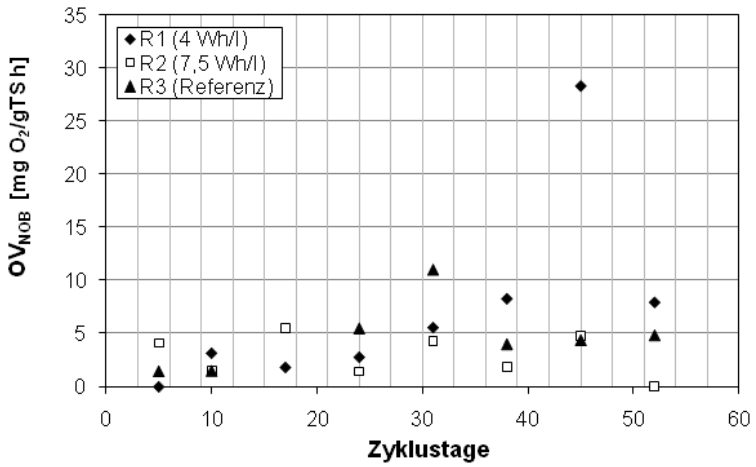


Abb. 5.3.3.2.4 Sauerstoffverbrauch von NOB während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

Im dritten Einsatz wiesen ab der ersten Messung sowohl AOB als auch NOB niedrige Atmungsaktivität auf. Der Sauerstoffverbrauch von AOB erreichte in der zweiten Phase einen durchschnittlichen Wert im R1 von 0,2, im R2 0,1 und im R3 0,3 mg O_2/(gTS h). Der Sauerstoffverbrauch von NOB betrug im R1 0,1, im R2 0,6 und im R3 0,1 mg O_2/(gTS h). Die Atmungsaktivität von AOB und NOB war „sehr niedrig“.
Da die Atmungsaktivität von AOB und NOB in anderen Einsätzen wesentlich höher lag, lässt es feststellen, dass der Impfschlamm eine Population nitrifizierender Bakterien mit einer geringen Stoffwechselaktivität enthalten hat. Während des gesamten Einsatzes blieb ihr Verhalten unverändert.
Abbildungen mit dem Sauerstoffverbrauch von AOB und NOB im dritten kontinuierlichen Einsatz werden im Anhang aufgeführt.

In der Abb. 5.3.3.2.5 und Abb. 5.3.3.2.6 wird der Sauerstoffverbrauch entsprechend von AOB und NOB im vierten kontinuierlichen Einsatz dargestellt.

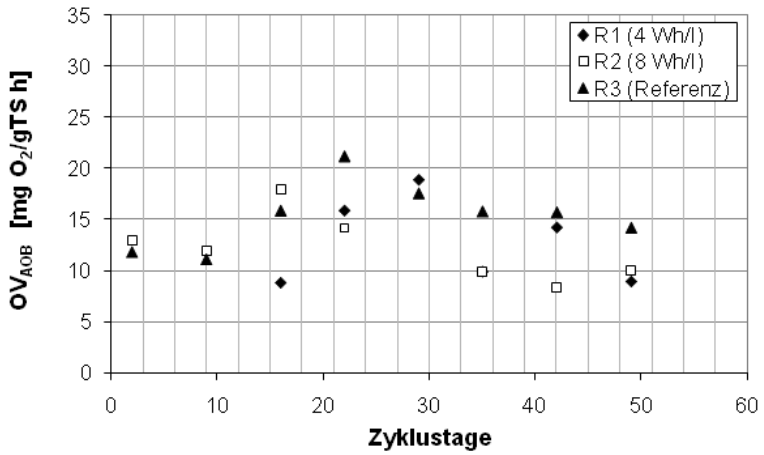


Abb. 5.3.3.2.5 Sauerstoffverbrauch von AOB während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

Anhand Grafikdaten konnte festgestellt werden, dass die Atmungsaktivität nitrifizierender Bakterien überwiegend „hoch“ bis „sehr hoch“ war. Der Sauerstoffverbrauch von AOB erreichte in der zweiten Phase einen durchschnittlichen Wert im R1 von 13,0, im R2 17,5 und im R3 16,7 mg O_2/(gTS h).
Der Sauerstoffverbrauch von NOB war ebenfalls „sehr hoch“und betrug durchschnittlich im R1 13,4, im R2 11,4 und im R3 17,5 mg O_2/(gTS h).

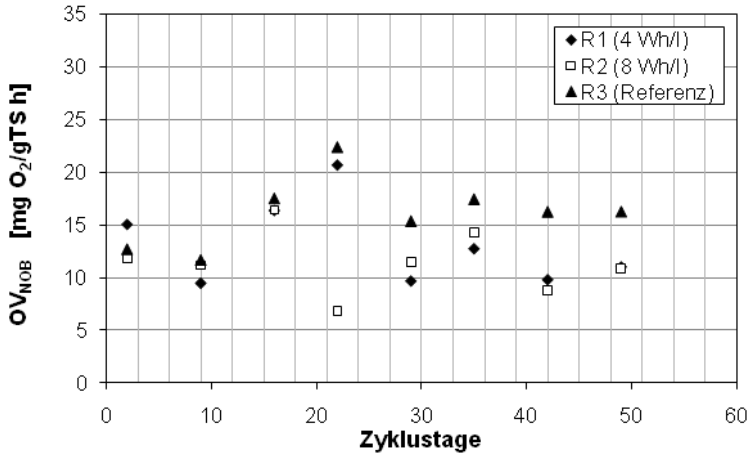


Abb. 5.3.3.2.6 Sauerstoffverbrauch von NOB während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

5.3.3.3 Erkenntnisse aus Batch-Experimenten

Die Wirkung des Ultraschalls auf die Atmungsaktivität nitrifizierender Bakterien im Belebtschlamm wurde zusäzlich in Batch-Experimenten untersucht.

Die Abb. 5.3.3.3.1 beschreibt den Sauerstoffverbrauch von AOB in Abhängigkeit des eingesetzten Energieeintrages und dem Anteil der beschallten Biomasse.
Bei der Betrachtung der Grafik erkennt man, dass die Aktivität der AOB in der KA Seevetal gleich dem Null-Wert ist (Referenzprobe). Eine Beschallung mit einem Energieeintrag von 5 Wh/l hatte jedoch eine Erhöhung der Atmungsaktivität der AOB zur Folge.
Bei dem Einsatz von 10 Wh/l kam es zu einer Abnahme der Stoffwechselaktivität der AOB in den Proben bei einem Anteil der behandelten Biomasse von 25% und 50%. Dennoch war die Aktivität der AOB in diesen Proben höher im Vergleich zur Aktivität der AOB in der Referenzprobe.
Die Behandlung von 25% und 75% der Biomasse mit dem Energieaufwand von 20 Wh/l hatte ebenfalls eine Erhöhung der Atmungsaktivität der AOB zur Folge.

Eine Beschallung von 100% der Biomasse zeigte keine positive Wirkung auf die Atmungsaktivität der AOB.

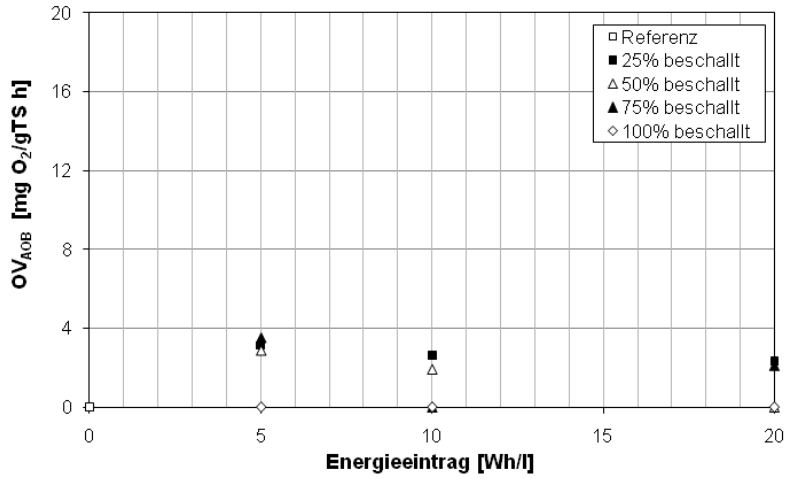


Abb. 5.3.3.3.1 Sauerstoffverbrauch der AOB im Batch-Experiment

In der Abb. 5.3.3.3.2 wird der Sauerstoffverbrauch von NOB in Abhängigkeit vom eingesetzten Energieeintrag und dem prozentuellen Anteil beschalteter Biomasse dargestellt.
Aus der Grafik ist ersichtlich, dass die Aktivität der NOB in der KA Seevetal, ähnlich wie bei AOB, nahe dem Null-Wert lässt (Referenz). Eine Beschallung mit einem Energieeintrag von bis zu 20 Wh/l und einem Anteil beschalteter Biomasse von bis zu 100% zeigte eine positive Auswirkung auf die Stoffwechselaktivität der NOB. Auffallend ist, dass eine Behandlung mit 5 und 10 Wh/l und einem Anteil der behandelten Biomasse entsprechend von 100% und 75% am effektivsten für die Erhöhung der Aktivität von NOB war.

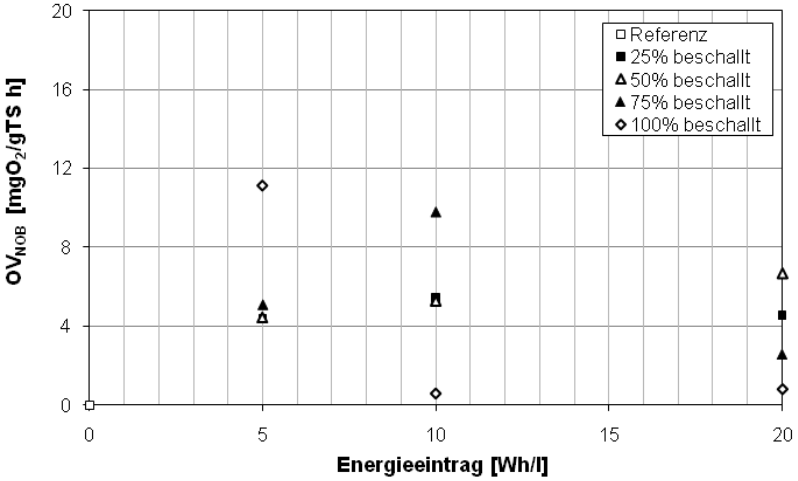


Abb. 5.1.3.2.2 Sauerstoffverbrauch der NOB im Batch-Experiment

Bei Betrachtung der Tab. 5.3.3.2.1 erkennt man, dass die Atmungsaktivität der AOB von Null an „durchschnittlich“ und die Atmungsaktivität der NOB von Null an „sehr hoch“ gesteigert wurde.
Das Experiment erlaubt festzustellen, dass eine Erhöhung der Atmungsaktivität dieser Bakterien durch eine Zerlegung der Schlammflocken und damit verbundene Begünstigung der Zugänglichkeit des Substrates hervorgerufen wurde.

Die Grafikdaten erlauben festzustellen, dass die AOB eine höhere Empfindlichkeit gegenüber dem Ultraschall in diesem Experiment aufgewiesen haben. Laut Jubany et al. (2009) sind die NOB anfälliger auf sich wechselende Umweltbedingungen (pH-Wert, Temperatur, Sauerstoffgehalt).

Da die Nitrifikation eine wichtige Funktion in künstlichen Systemen wie Kläranlagen hat, sollten die anschließenden kontinuierlichen Einsätze in einem optimalen Bereich für beide Gruppen nitrifizierender Bakterien durchgeführt werden. D.h. bis zu 50% der Belebtschlamm-Biomasse darf mit einem Energieeintrag bis zu 10 Wh/l behandelt werden.

5.3.4 Wirkung auf Reinkulturen

5.3.4.1 Wirkung auf *Microthrix parvicella*

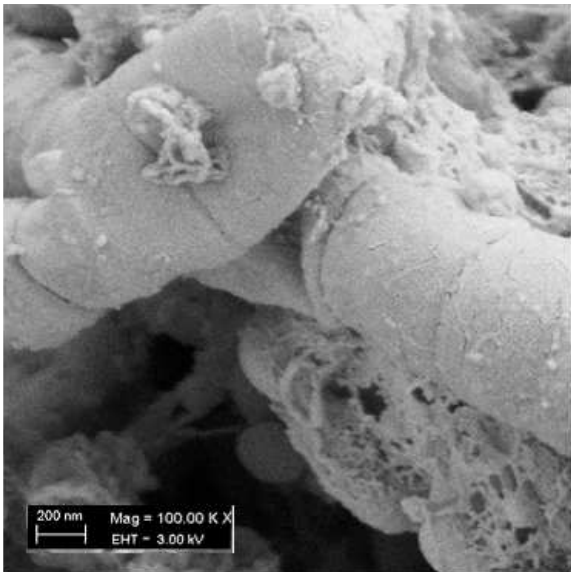
Wirkung des Ultraschalls zusätzlich auf die *M. parvicella*-Suspension bestimmt. Für diesen Zweck wurde sie mit einem Energieeintrag von 2, 5, 10, 20 Wh/l behandelt. Zur Beobachtung morphologische Änderungen von Zellen wurde eine visuelle Betrachtung von REM- und TEM-Aufnahmen eingeschlossen.

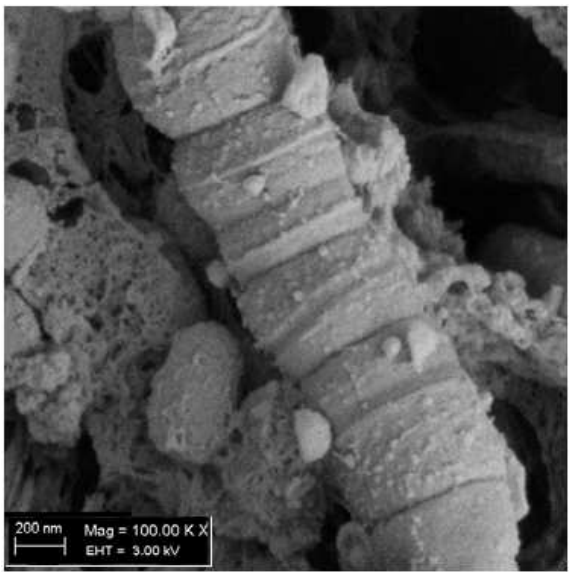
Das Wachstum in R2A-Flüssigmedium der *M. parvicella*-Reinkulturen war gering. Dabei bildete sich neben mehreren kleinen Flöckchen stets eine einzige große Flocke aus *M. parvicella*-Filamenten, deren Größe im Verlauf des Wachstums ständig zunahm.
Eine Quantifizierung des Wachstums durch Bestimmung der optischen Dichte der Zellsuspension war aufgrund der Flockenbildung nicht möglich. Die hierzu notwendige homogene Verteilung der Zellen hätte eine mechanische Homogenisierung der Flocken erfordert und damit die Ergebnisse des Batch-Experiments erheblich beeinflusst.

Da *M. parvicella* als eine Reinkultur schwierig konstant zu halten ist (Blackall et al., 2006; Wagner und Loy 2002), ist in diesem Fall zu einer Verunreinigung gekommen. Deshalb sind auf den REM-Aufnahmen die coccoiden Begleitorganismen zu erkennen.

Unter einem Lichtmikroskop ist es nicht möglich die morphologische Merkmale der *M. parvicella*-Zellen zu erkennen. Die REM-Untersuchungen lassen erkennen, dass *M. parvicella*-Filamente keine Scheide aufweisen und aus stabil aufgebauten Zellen mit einem Durchmesser von ca. 0,5 - 0,7 µm bestehen. Die Septen sind gut erkennbar. Die Abb. 5.3.4.1.1 liefert Informationen über dem Wirkungsmechanismus des Ultraschalls auf *M. parvicella*-Filamente.

In der mit einem Energieeintrag von 2 Wh/l behandelten Probe mit der *M. parvicella*-Suspension wirkten die Zellen unverletzt (Abb. 5.3.4.1.1b), dennoch wurden einige davon kürzer. Diese Erscheinung konnte anhand der Übertragung der durch Ultraschallwellen hervorgerufenen Mikroströmungen auf die flüssige

a) 

b) 

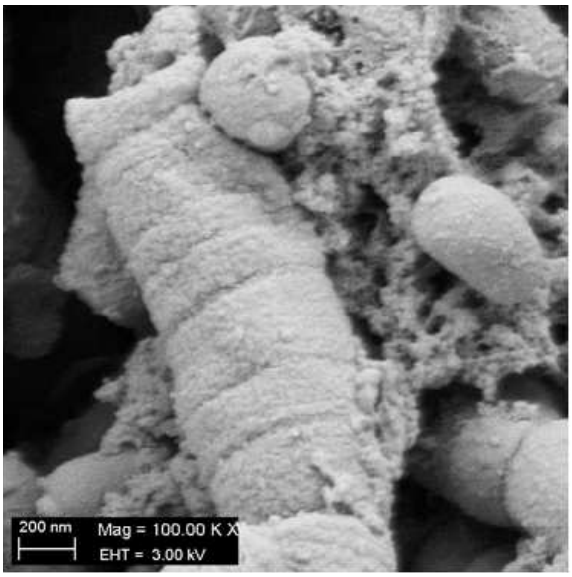
c) 

Abb. 5.3.4.1.1 REM-Aufnahme von *M. parvicella*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 2 Wh/l, c) behandelt mit 5 Wh/l

Phase innerhalb der Zelle erklärt werden.
Bei 5 Wh/l wurde die Zellwand durch Ultraschall beansprucht und schien deutlich rauer zu sein (Abb. 5.3.4.1.1c). Die Mureinschicht wurde vermutlich abgebaut. Darüber hinaus wurden die Zellen deutlich verformt und eingedellt im Vergleich zu den Referenzaufnahmen. Des Weiteren weisen ausgefranste Ränder an der Bruchstelle der Zellmembran auf, dass es zu einer Druckerhöhung innerhalb der Zelle kommen musste und infolge dessen die Zelle explodierte. Bei dem Energieeintrag von 5 Wh/l wurden die Filamente in kurze Fragmente zerlegt.

Die TEM-Untersuchungen zeigen, dass die Bruchstellen in der Zellmembran sich meistens in der Nähe der Septen befinden. Dies wird in der Abb. 5.3.4.1.2 dargestellt. Diese zeigt zwei leere Zellen mit durchbrochener Zellmembran in der Nähe der Septen.

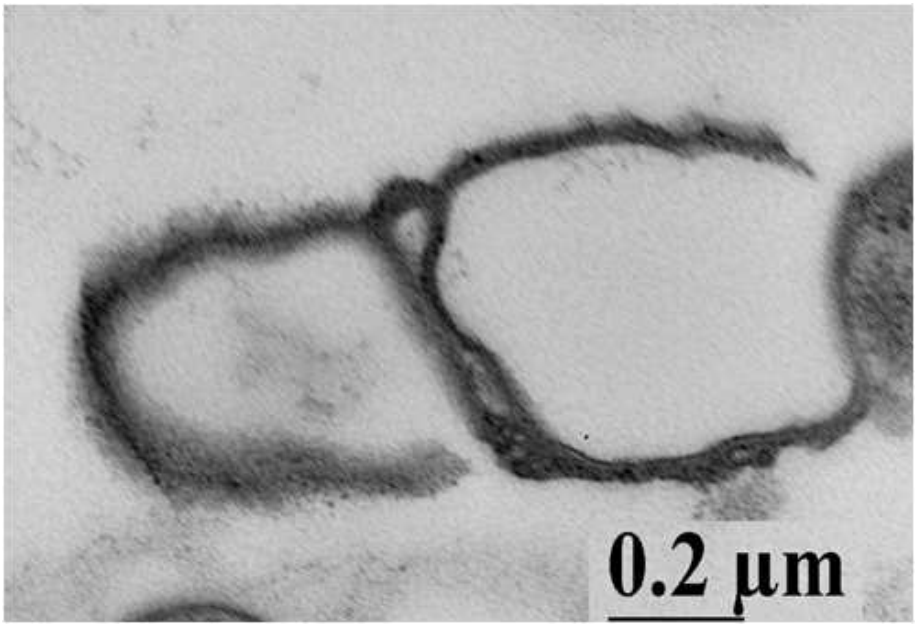


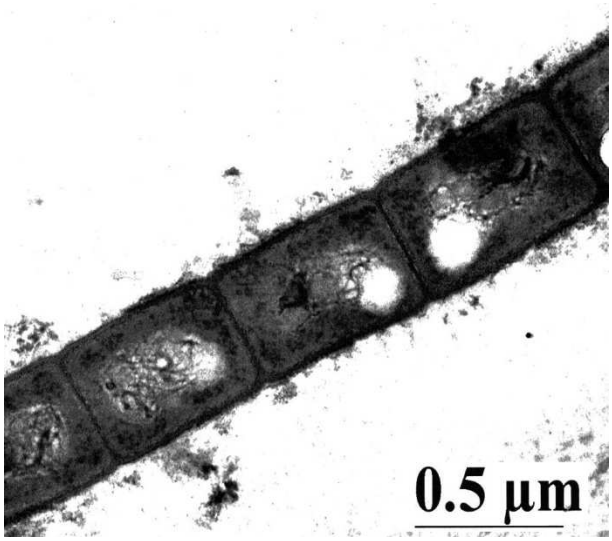
Abb. 5.3.4.1.2 TEM-Aufnahme von *M. parvicella*, behandelt mit 10 Wh/l

Die Abb. 5.3.4.1.3 stellt aus der KA Seevetal stammende *M. parvicella*-Filamente dar. In der Abb. 5.3.4.1.3a ist ein aus der unbehandelten Probe stammendes Filament mit stabil aufgebauten, rechteckigen Zellen zu sehen. In der Abb. 5.3.4.1.3b sind die Unregelmäßigkeiten der Zellen und die Bruchstellen in der Nähe der Septen deutlich zu erkennen. Diese Belebtschlammprobe wurde mit einem Energieeintrag von 10 Wh/l behandelt.

Anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen wurde festgestellt, dass bei einem niedrigen Energieeintrag von 2 Wh/l das Zytoplasma in Folge des Ultraschalls angegriffen wurde, ohne dabei die Zellwand zu

schädigen. Ein Energieeintrag in Höhe von 5 Wh/l resultierte einer Zerstörung der Zellwand der *M. parvicella*-Filamente.

Die Unterdrückung des Wachstums *von M. parvicella* in mit Ultraschall behandelten Reaktoren (ab 4 Wh/l) hat eine Bestätigung in durchgeführten Batch-Experimenten gefunden. Hier wurde eine zerstörende Wirkung des Ultraschalls auf *M. parvicella*-Filamente bei 5 Wh/l beobachtet. Die Ursache hierfür ist ein aus der Flocke herausragendes Wachstum dieser Fadenbakterien. Dadurch sind die Fadenbakterien besser für die implodierenden Kavitationsblasen zugänglich. Auch die Entbehrung einer Scheide bei diesen Fadenbakterien ist ein Grund für die Anfälligkeit der *M. parvicella* auf Ultraschallwellen.

a) 

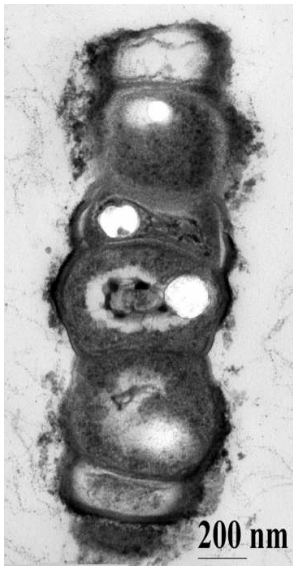
b) 

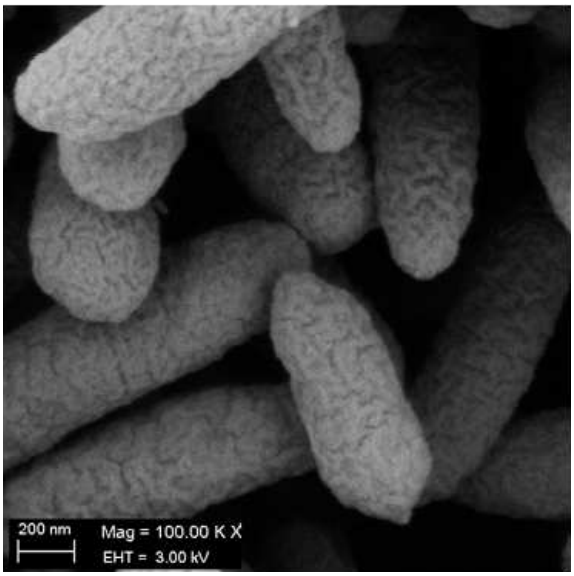
Abb. 5.3.4.1.3 TEM-Aufnahme von *M. parvicella* aus der KA Seevetal: a) unbehandelt, b) behandelt mit 10 Wh/l

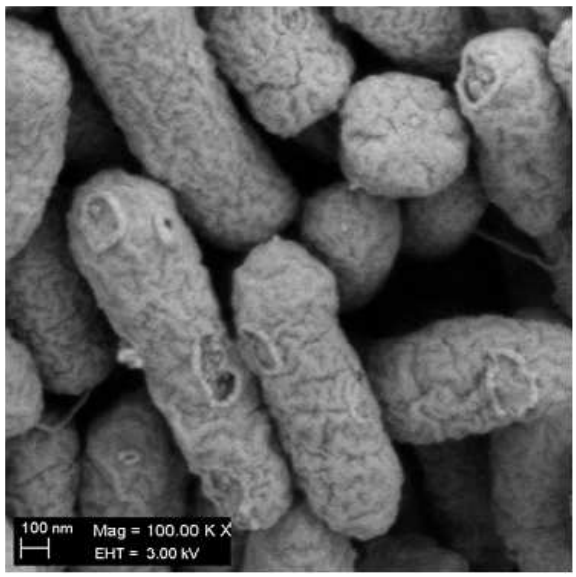
4.3.4.2 Wirkung auf *Pseudomonas aeuruginosa*

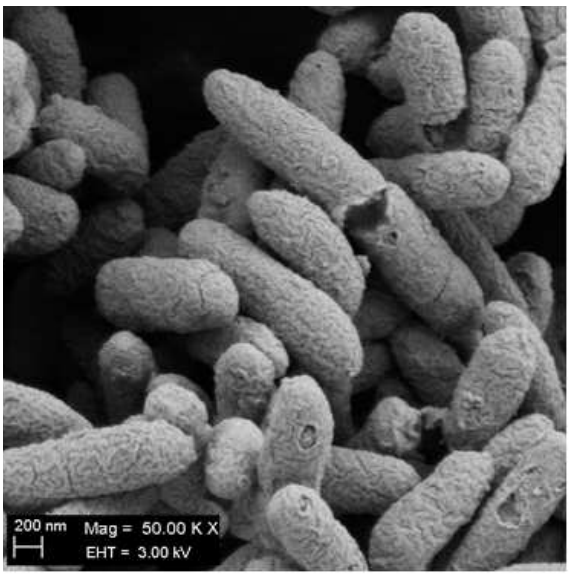
Im flüssigen LB-Medium wächst *P. aeuruginosa* unter Bildung einer sogenannten Kahmhaut vorwiegend an der Oberfläche. Der Keim setzt einen metallisch-grün glänzenden Farbstoff frei. Charakteristisch ist dabei ein süßlicher Geruch.
Die optische Dichte OD_{600} der *P. aeruginosa*-Suspension betrug in einer 1 : 1 verdünnten Probe 0,91.

Die Abb. 5.3.4.2.1 beschreibt die Wirkung des Ultraschalls auf *P. aeruginosa*-Zellen in Abhängigkeit des steigenden Energieeintrages.

Die REM-Aufnahmen zeigen die *P. aeruginosa*-Zellen als 1 bis 2 µm lange Stäbchen, teilweise mit Flagellen und mit Haftfimbrien versorgt (Abb. 5.3.4.2.1a). In einer 100.000-fachen Vergrößerung lässt sich die charakteristische gramnegative äußere Zellmembran sehr gut erkennen.
Erst bei der mit einem Energieeintrag von 5 Wh/l behandelten *P. aeruginosa*-Suspension waren mehrere Zellen mit runden abgerissenen Flächen auf der äußeren Zellmembran zu erkennen. Bei wenigen Zellen wurde auch die Zellmembran durchgestochen (Abb. 5.3.4.2.1b).
Mit steigendem Energieeintrag wurden immer mehr beschädigter bzw. zerstörter Zellen erkannt. Die Abb. 5.3.4.2.1c zeigt *P. aeruginosa*-Suspension nach einer Behandlung mit 10 Wh/l.

a) 

b) 

c) 

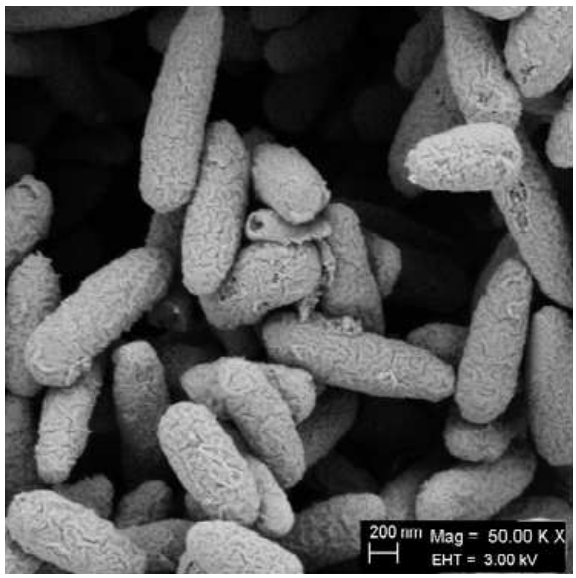
d) 

Abb. 5.3.4.2.1 REM-Aufnahme von *P. aeruginosa*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 5 Wh/l, c) behandelt mit 10 Wh/l, d) behandelt mit 20 Wh/l

Aufgrund der niedrigen Bakterien-Konzentration, der kleinen Bakterien-Größe (ca. 0,5x2 µm) und damit resultierender begrenzter „Trefferwahrscheinlichkeit“ von implodierenden Kavitationsblasen, wurden bei einem Energieeintrag von 20 Wh/l nicht immer alle Zellen aufgeschlossen bzw. beschädigt (Abb. 5.3.4.2.1d). Anhand der REM-Untersuchung ist eine Quantifizierung der Wirkung des Ultraschalls auf *P. aeruginosa*-Zellen nicht möglich.

Mittels TEM-Untersuchung kann nicht eindeutig bestätigt werden, dass, wie bei *M. parvicella*, der Ultraschall das Zytoplasma angreift ohne die Zellwand zu schädigen. Es gibt jedoch Hinweise, dass in Folge der Ultraschallbehandlung, jedoch bei geringem Energieaufwand der Nucleoid ausgefällt wird. Die Zellwand bleibt dabei intakt.
Die Abb. 5.3.4.2.2 stellt Quer- (a, b) und Längsschnitte (c, d) einer P. aeruginosa-Zelle vor und nach der Behandlung entsprechend mit 20 Wh/l und mit 5 Wh/l dar.

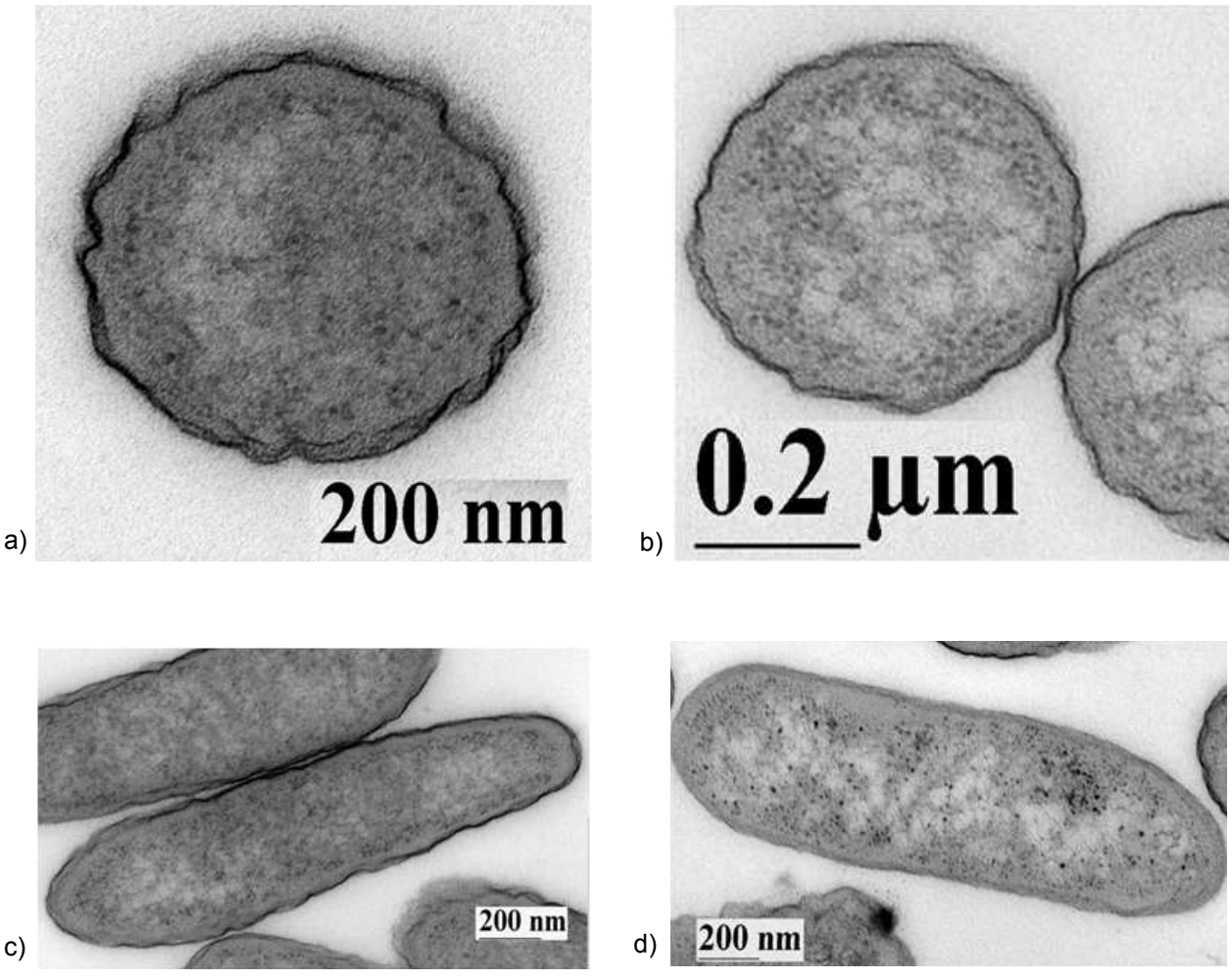


Abb. 5.3.4.2.2 TEM-Aufnahme von *P. aeruginosa*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 20 Wh/l, c) unbehandelt, d) behandelt mit 5 Wh/l

Die in Batch-Experimenten ermittelte Wirkung des Ultraschalls auf *P. aeruginosa* ist eingeschränkt auf die gramnegative Bakterien im Belebtschlamm übertragbar. Dabei ist die Bakteriengröße und die Tatsache einer Einbettung in der EPS-Matrix sehr wichtig.

Als Maß für die Desintegration bakterieller Suspensionen mit Ultraschall wurde die Freisetzung von Stickstoff bestimmt.

Die N-Freisetzung bezogen auf den Anfangsgehalt wird in Abhängigkeit des eingesetzten Energieeintrages in der Abb. 5.3.4.6 dargestellt. Die Messung erfolgte in der Wasserphase.
Durch den Zellaufschluss wurden zellinnere Proteine (u.a. Enzyme, Ribosomenproteine) sowie membrangebundene Transportproteine als Stickstoffquelle freigesetzt. Infolge der Beschallung wurden auch EPS-Fragmente freigesetzt, die in großem Teil aus Proteinen bestehen (Bolle, 2008).
In beiden Bakteriensuspensionen stieg der Gehalt an Stickstoff mit steigendem Energieeintrag an. Das lässt auf einen fortschreitenden Zellaufschluss schließen.

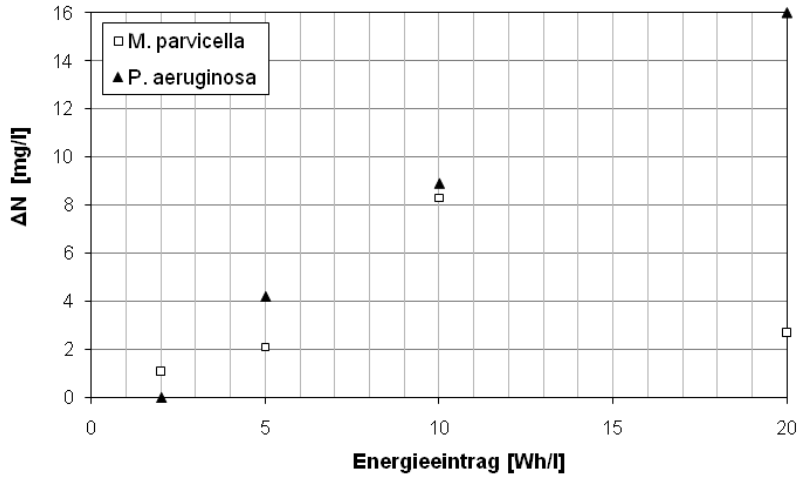


Abb. 5.1.4.6 N-Freisetzung bezogen auf den Anfangsgehalt aus der Bakteriensuspension durch Ultraschall

Die Grafikdaten deuten darauf hin, dass die Desintegration beider Zellsuspensionen mit ähnlichem Abschluss verlief. Die Ursache dafür stellt die unterschiedliche Bakteriengröße von *M. parvicella* und *P. aeruginosa* dar. Die stäbchenförmigen Bakterien hatten eine Größe von ca. 0,5x2 µm, während die rechteckigen *M. parvicella*-Zellen eine Größe von ca. 0,7x2 µm aufwiesen. Die daraus resultierenden Volumina unterschieden sich stark (stäbchenförmige Zellen: 0,38 μm^3, rechtseckige Zellen: 0,98 μm^3, ein Filament bestehend aus 100 Zellen: 980 μm^3), sodass die „Trefferwahrscheinlichkeit“ von implodierenden Kavitationsblasen bei einzelnen rechteckigen Zellen ca. zweieinhalbmal so groß war, wie bei stäbchenförmigen Zellen. Bei einem Filament, bestehend aus 100 Zellen, war die „Trefferwahrscheinlichkeit“ entsprechend

250-mal so groß, wie die von einzelnen stäbchenförmigen Zellen. Außerdem können größere Zellen die Ultraschallwellen besser absorbieren als kleinere, wodurch sie ein geringeres Widerstandsvermögen aufweisen (Ahmed et al., 1975).

6 Diskussion

Die Abbauleistung der SBR-Anlage ist in der Tab. 6.1 zusammenfasst. Die Angaben wurden auf die aus der Beschallungsphase gewonnenen Ergebnisse begrenzt.

Tab. 6.1 Abbauleistung in der verwendeten SBR-Anlage

Einsatz	Ultraschall-Energieeintrag [Wh/l]*	Anteil beschallter Biomasse [%]	DHA [mg O_2/gTS d]	N-Abbau [%]	DOC-Abbau [%]	Biomasse-wachstum [mg/l d]
1.1	4	30 (RS)	305	23	87	37
1.2	7,5	20 (RS)	310	24	87	-7
1.3	Referenz		229	22	89	65
2.1	4	50 (RS)	203	9	92	128
2.2	7,5	30 (RS)	194	18	77	26
2.3	Referenz		139	15	89	63
3.1	4	7,5 (RS)	62	60	84	-14
3.2	8	7,5 (RS)	74	71	87	-203
3.3	Referenz		68	64	84	-222
4.1	4	14,8 (RS) + 50 (ÜSS)	-	22	98	117
4.2	8	14,8 (RS) + 50 (ÜSS)	-	18	97	137
4.3	Referenz		-	24	98	45

RS - Rücklaufschlamm, ÜSS - Überschussschlamm, DHA - Dehydrogenaseaktivität, N - Stickstoff, DOC - organischer gelöster Kohlenstoff

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass die biologische Aktivität im Belebtschlamm durch dessen Behandlung mit niedrigem Energieeintrag wesentlich gesteigert wird. Eine deutliche Erhöhung der spezifischen Enzymaktivität (hier Dehydrogenaseaktivität) im Belebtschlamm wurde in den SB Reaktoren, in denen die Biomasse mit Ultraschall behandelt wurde, nachgewiesen (s. Einsatz 1.1, 1.2, 2.1, 2.2 und 3.2). Die Untersuchungen zeigen, dass die spezifische Enzymaktivität mit zunehmendem Energieeintrag (4 → 8 Wh/l) sinkt (s. Abb. 6.1). Aus der Erhöhung der spezifischen Enzymaktivität resultierte im Einsatz 2.2 und 3.2 eine relevante Steigerung des Stickstoffabbaus. Zu diesem Zweck wurde im ersten Fall 30% und im zweiten 7,5% des Rücklaufschlammes behandelt. An dieser Stelle muss man be-

* TS während der Beschallung betrug durchschnittlich 4 g/l

achten, dass das DOC/N-Verhältnis im Abwasser (im Einsatz drei) verbessert wurde. Dieses erlaubt folgendes festzustellen: je ungünstiger DOC/N-Verhältnis im Abwasser, desto mehr von der Biomasse muss behandelt werden, um eine Optimierung des Stickstoffumsatzes zu erreichen. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die Intensivierung des Stickstoffabbaus mit dem steigenden Energieeintrag zunimmt (s. Abb. 6.1). Die für die Beobachtung der nitrifizierenden Biozönose FISH-Analysen konnten nicht quantifiziert werden. Denoch wurden Hinweise bezüglich der Verschiebung nitritoxidirender Bakterien von *Nitrobacter* in Richtung *Nitrospira* in mit Ultraschall behandelten Reaktoren gefunden, die eine Intensivierung des Stickstoffabbaus erklären konnten.

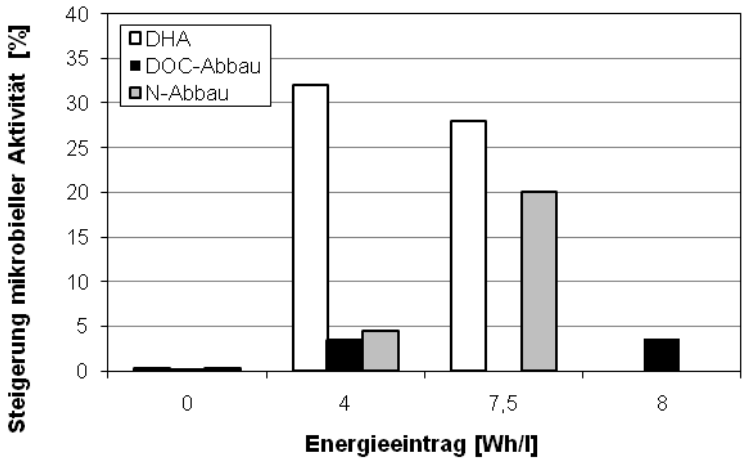


Abb. 6.1 Entwicklung der mikrobiellen Aktivität im SBR

Die Abbauleistung des Kohlenstoffs konnte ebenfalls gesteigert werden (s. Einsatz 2.1 und 3.2). Trotz der unterschiedlichen Energieeinträge, konnte der Kohlenstoffabbau um etwa 3,5% optimiert werden (s. Abb. 6.1). In übrigen Einsätzen hat die Behandlung mit Ultraschall keinen negativen Einfluss auf den Prozess des Kohlen- und Stickstoffabbaus gehabt. Eine kombinierte Behandlung des Rücklauf- und Überschussschlammes hatte jedoch eine Zunahme der Biomasseproduktion im Einsatz drei zur Folge.

Die ermittelten Ergebnisse mit der SBR-Anlage gelten als reproduzierbar. Die Ergebnisse aus dem Einsatz eins, zwei und vier sind miteinander vergleichbar. Die im dritten Einsatz ermittelten Ergebnisse bezüglich des Stickstoffabbaus und des Biomassewachstums hängen mit der unterschiedlichen Zusammensetzung des synthetischen Abwassers zusammen. Die niedrigeren Werte der Dehydrogenaseaktivität werden durch Messungen unter ungünstigen Substratverhältnissen erklärt.

Laut Rai et al. (2004); Li et al. (2007) konnten neben der gesteigerten biologischen Aktivität, einer Beschleunigung des Substratabbaus eine verringerte Biomassenproduktion erreicht werden. Der positive Effekt lässt sich auch im Rahmen dieser Forschungsarbeit über einen längeren Zeitraum bestätigen. Die

Biomasseproduktion wurde im Einsatz 1.1, 1.2 und 2.2 bedeutend verringert. Eine Abhängigkeit von dem eingesetzten Energieeintrag lässt sich auch hier beobachten (s. Abb. 6.2).

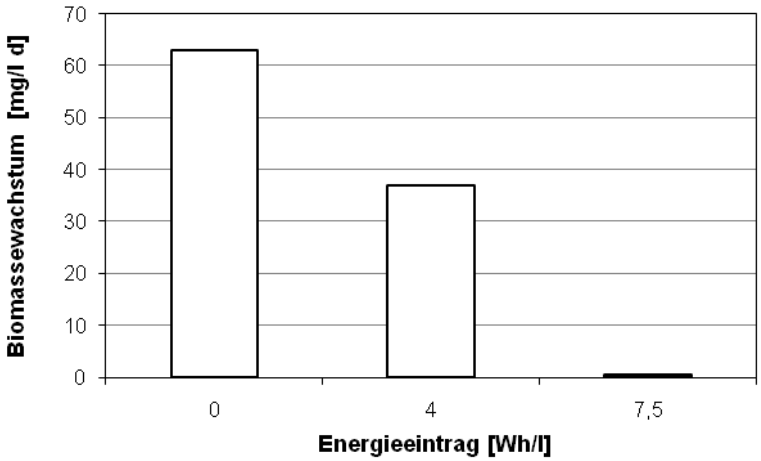


Abb. 6.2 Entwicklung des Biomassewachstums im SBR

Die Verringerung der Biomassenproduktion wird mit Auflösung eines Teils des Belebtschlammes, hier mit Ultraschall und anschließende Veratmung der Zellbestandteile (cryptic growth) erklärt werden. In der Abb. 6.3 wird schematisch der Desintegrationseffekt auf die Biomasseproduktion im Belebtschlammprozess gezeigt. Besonders im Einsatz eins und zwei wird dieses deutlich. Hier wurde zusammen mit der Reduktion überschüssiger Biomasse eine Steigerung des Stickstoffabbaus festgestellt. Es deutet darauf hin, dass die durch die Beschallung freigesetzten Stoffe für den Prozess der Denitrifikation verwendet wurden. Der Energiestoffwechsel wird durch eine gesteigerte Verfügbarkeit von organischem Substrat intensiviert und die Kinetik des biologischen Nährstoffabbaus verändert. In gezielten Experimenten zur Ermittlung der Aktivität denitrifizierender Bakterien wurde eine Geschwindigkeitserhöhung des Substratabbaus nachgewiesen (s. Abb. 6.4). Die Intensivierung des Substratabbaus konnte jedoch im SBR über eine längere Zeit nicht konstant hoch gehalten werden.

Die Überlegung, dass eine gesteigerte Verfügbarkeit von organischem Substrat und Sauerstoff infolge der Flockenzerlegung die Intensivierung des Energiestoffwechsels begünstigt, bestätigen auch Rai et al. (2004) und Liu et al. (2007) in ihren Untersuchungen. Die von Liu et al. (2005) aufgestellte Hypothese, dass die gesteigerte Aktivität durch eine Abwehrreaktion der Organismen entsteht, die durch den mechanischen Stress der Beschallung hervorgerufen wurde, scheint ebenfalls zutreffen.

Die Erhöhung der biologischen Aktivität wurde auch in gezielten Experimenten mit nitrifizierenden (AOB und NOB) Bakterien beobachtet. Die Geschwindigkeit des Sauerstoffverbrauchs wurde gesteigert. Die Abb. 6.4 zeigt, dass die Erhöhung der mikrobiellen Aktivität mit dem eingesetzten Energieeintrag zusam-

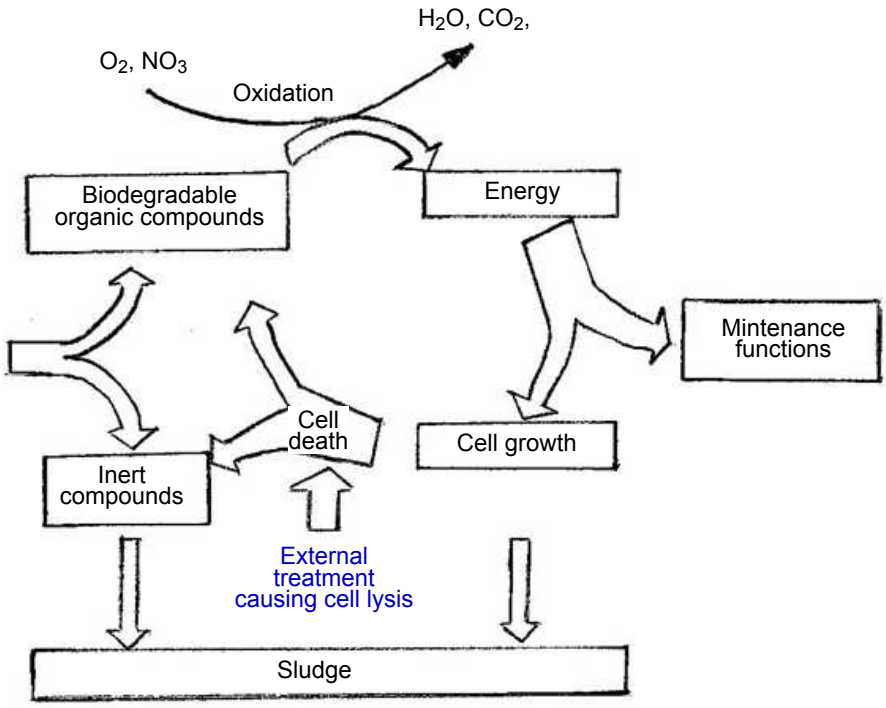


Abb. 6.3 Desintegrationseffekt auf die Biomasseproduktion im Belebtschlamm (Foladori et al., 2010)

men hängt. Zuerst wird nach der Ultraschalleinwirkung die mikrobielle Aktivität erhöht und ab einem Energieeintrag von ca. 5 Wh/l nimm sie ab. Des Weiteren haben die Untersuchungen ergeben, dass nur Vollstrombehandlung keine Aktivierung der Belebtschlamm-Biomasse bringt.
Besonders für die Aktivitätssteigerung gramnegativer Bakterien ist eine Behandlung mit Ultraschall von großer Bedeutung. Die spezifisch gefaltete, äußere Zellmembran kann aufgrund potenziell größeren Zellwandoberfläche mehr von dem freigestellten Substrat bzw. Sauerstoff aufnehmen.

Die während der Beschallung (mit einem niedrigen Energieeintrag!) freigesetzten Stoffe können das ungünstige DOC/N-Verhältnis im Zulauf der Reaktoren für die vollständige Denitrifikation nicht genügend ausgleichen. Trotzdem erfolgt eine Intensivierung des Substratabbaus, zeigen die durchgeführten kontinuierlichen Experimente. Der Ultraschall wirkt auf die Belebtschlamm-Bakterien stimulierend.
Christi (2003) geht bei der Interpretation der Wirkung von Ultraschall noch weiter. Er zitiert Quellen, die durch Einsatz von Ultraschall eine verbesserte Membrandurchlässigkeit und eine Beschleunigung enzymatischer Reaktionen nachgewiesen haben.

Die Forschungsgruppe Zang et al. (2007) erreichte eine Minimierung des ÜSS um etwa 91% in dem etwa 21% des RS täglich mit Ultraschall behandelt wurde. Die CSB-Elimination betrug 81% und der N-Abbau lag zwischen 17% und 66%.

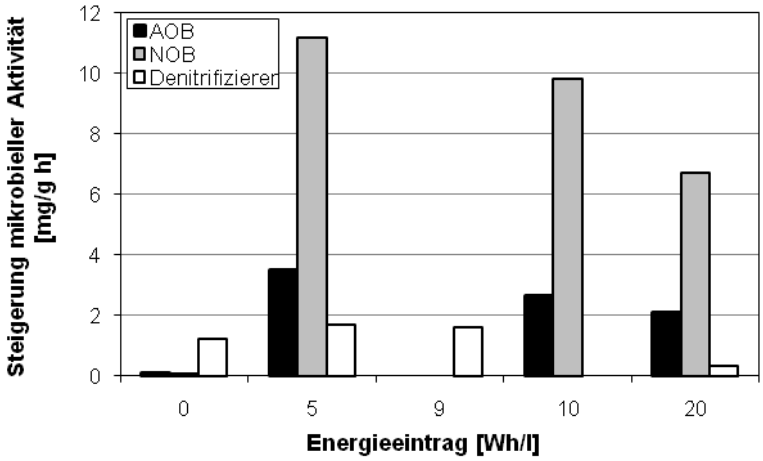


Abb. 6.4 Entwicklung der mikrobiellen Aktivität in Batch-Experimenten

Li et al. (2008) erreichten eine Minimierung des ÜSS um etwa 59% in dem 14% des RS täglich behandelt wurde. Der CSB im Ablauf betrug zwischen 60 und 90 mg/l und der Gesamtstickstoff lag im Ablauf unter 15 mg/l. Die eingesetzten Energieeinträge betrugen entsprechend 30 Wh/l und 44 Wh/l (TS während der Beschallung von ca. 1 g/l) bei einer Frequenz von 25 kHz. Die oben beschriebenen Ergebnisse sind mit denen von Zang et al. (2007) und Li et al. (2008) vergleichbar. Darüber hinaus konnten sie mit deutlich niedrigerem Energieaufwand erzielt werden. Dabei muss noch beachtet werden, dass Zang et al. (2007) und Li et al. (2008) die Denitrifikation nicht untersucht haben.

Die untersuchte Wirkung des Ultraschalls auf die aktive Biomasse wird in der Tab. 6.2 zusammenfasst. Ergebnisse von Ansätzen, in deren Anteil der beschallten Biomasse 100% beträgt wurden im Rahmen der Batch-Experimente gewonnen.

Infolge der Behandlung mit Ultraschall werden die Flocken zahlreicher, kleiner und kompakter. Das Wachstum fadenförmiger Bakterien wurde nach einer kontinuierlichen Beschallung mit einem Energieeintrag von 4 Wh/l gesenkt. Die Untersuchungen mit *M. parvicella*-Suspension zeigen bei einem Energieeintrag von 2 Wh/l eine Beeinflussung des Zytoplasmas. Die Zellwand blieb dabei unverletzt. Diese Erscheinung kann durch eine Übertragung der Mikroströmungen auf die flüssige Phase der Zelle erklärt werden. Eine Erhöhung der eingesetzten Energie auf 5 Wh/l hatte ein Zerfallen der Filamente zur Folge. D.h., die Behandlung des Belebtschlammes mit diesem Energieeintrag wird bei den kurzfristigen betrieblichen Störungen, wie z.B. das Auftreten von Blähschlamm, wirkungsvoll eingesetzt, um einen ordnungsgemäßen Betriebsablauf zu sichern.

Die Erkenntnis über eine Schädigung des Zytoplasmas findet sich auch bei der Untersuchung von Wasserpilzen (eigene unpublizierte Daten). Nach einem Energieeintrag von 5 Wh/l wurden Zellen mit stark

beanspruchtem Zytoplasma mikroskopiert, die Zellwand blieb intakt. Mit steigendem Energieeintrag wurde zusätzlich zu dieser Erscheinung eine Schädigung der Zellinhaltstoffe beobachtet.

Tab. 6.2 Einfluss des Ultraschalls auf die Biomasse

Medium	Energieeintrag [Wh/l]	Anteil beschallter Biomasse [%]	Ergebnis
Belebtschlamm aus KA Seevetal	5	100	Beanspruchung der Flockenstruktur
	10	100	Zerstörung der Flockenstruktur Zerfallen der Fadenbakterien
	20	100	Vollständige Zerstörung der Flockenstruktur Freilegung der Bakterienzellen
Belebtschlamm aus dem SBR	4 - 8	7,4 (RS)	Reduktion der Flockengröße Zerfallen der Fadenbakterien Hohe Protozoen-Vielfalt
	4 - 8	14,8 (RS) + 50 (ÜSS)	Reduktion der Flockengröße Zerfallen der Fadenbakterien Niedrige Protozoen-Vielfalt
Reinkulturen	2	100	Beeinflussung des Zytoplasmas Verformung der Zellen
	5	100	Beanspruchung der Zellwand Zerfallen der Filamente

Bei einem Energieeintrag von 2 Wh/l wurden erste aufgeschlossene *P. aeruginosa*-Zellen beobachtet. Eine Beeinflussung des Zytoplasmas konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden. Ab 5 Wh/l wurde bei diesen Bakterien eine fortschrittende Schädigung der Zellwand beobachtet. Bei einem Energieeintrag von 20 Wh/l blieb ein Teil der Zellen in der Suspension nicht beschädigt bzw. aufgeschlossen. Dies kann durch eine niedrige Bakterien-Konzentration, kleine Bakterien-Größe (ca. 0,5x2 µm) und eine dadurch resultierende begrenzte „Trefferwahrscheinlichkeit“ von implodierenden Kavitationsblasen erklärt werden.

Alliger (1975) kam zum Ergebnis, dass der Zellwandaufbau eines Bakteriums entscheidenden Einfluss auf die Wirkung des Ultraschalls haben müsse. In seinen Versuchen reagierten grampositive und gramnegative Bakterien unterschiedlich auf Beschallung, wobei der Hauptunterschied der beiden Gruppen im Aufbau der Zellwand zu finden ist.

Scherba et al. (1991) widersprechen der These der Abhängigkeit von der Zellwandstärke. Anhand der Versuche mit grampositiven (*S. aureus* und *B. subtiles*) und gramnegativen (*P. aeruginosa* und *E. coli*) Bakterien folgern sie, dass durch Kavitation nicht die Zellwand angegriffen wird, sondern dass eine Schädigung der Zytoplasma-membran eintritt, die bei beiden Bakteriengruppen gleich aufgebaut ist.
Die mikroskopischen Untersuchungen von Ahmed et al. (1975) ergaben, dass intakt erscheinende Zellen

von *Streptococcus sanguis* und *Veillonella parvula* nach der Behandlung nicht lebensfähig waren. Die Zellwand wurde durch den Ultraschall nicht zerstört, sondern ebenfalls das Zytoplasma der Zelle angegriffen.

Trotzt unterschiedlicher Theorien über die Art der Zellwandschädigung, besteht kein Zweifel daran, dass vorwiegend die mechanische Kavitation für die Verletzung der Zellen verantwortlich ist. Sie ist naturgemäß bei niedrigen Frequenzen am stärksten ausgeprägt.
Die experimentellen Untersuchungen von Joyce et al. (2003) mit Bacillus sp. konnten die Frequenzabhängigkeit eindeutig nachweisen. Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten eine signifikante Abnahme der Bakterienzahl von *Bacillus* sp. mit zunehmender Behandlungsdauer und Intensität des Ultraschalls (20 und 38 kHz). Die durchgeführten Versuche mit 512 und 850 kHz zeigen eine Erhöhung der Bakterienzahl nach der Behandlung im Vergleich zu einem niedrigen Energieeintrag. Joyce et al. (2003) stellten in diesem Fall ein Zerfallen der *Bacillus*-Mikrokolonie nach der Ultraschalleinwirkung als Ursache für die Erhöhung der Bakterienzahl fest.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Das wissenschaftliche Ziel der vorliegenden Arbeit besteht darin, den Einfluss vom niederenergetischen Ultraschall auf die aktive Biomasse des Belebtschlammes zu untersuchen und anschließend die Wirkung des Ultraschalls auf die biologischen Prozesse in einem Sequencing Batch Reaktors zu prüfen.

Aus diesem Ansatz können in Kläranlagen folgende Anwendungsmöglichkeiten des niederenergetischen Ultraschalls resultieren:

- Gewinnung einer internen Kohlenstoffquelle aus dem Rücklaufschlamm und dem Überschussschlamm (diese kann für die Intensivierung des Stickstoffumsatzes eingesetzt werden und schließlich eine Verringerung der Abwasserabgabe bringen).

- Minimierung der Überschussschlammproduktion als Folge der Teilstrombehandlung des Rücklaufschlammes (diese führt zur Kostensenkung bei weiterer Behandlung und anschließender Entsorgung des Klärschlammes).

- Unterdrückung des Wachstums fadenförmiger Bakterien (die Bildung von Bläh- und Schwimmschlamm-Biomasse wird vermieden und ein ordnungsgemäßer Betriebsablauf gesichert).

Für die Bestimmung der Abbauleistung in einem Sequencing Batch Reaktor wurde eine aus drei Reaktoren bestehende Versuchsanlage mehrmals kontinuierlich mit Belebtschlamm betrieben. Anschließend wurden Effekte infolge der Ultraschallbehandlung auf die Stoffwechselleistung der metabolisch aktiven Biomasse (Kohlenstoffabbau, Nitrifikation, Denitrifikation) experimentell untersucht.
Zur Untersuchung der Wirkung des Ultraschalls auf die aktive Biomasse des Belebtschlammes wurden verschiedene mikroskopische Techniken und chemische Analysen eingesetzt.
Da im Belebtschlamm zahlreiche und vielfältige Organismen zu finden sind, die in einer sehr heterogenen Schleim-Matrix leben, ist es schwierig die Wirkung des Ultraschalls auf die aktive Biomasse des Belebtschlammes zu interpretieren. Deswegen wurden zwei Vertreter des Belebtsschlammes *M. parvicella* und *P. aeruginosa* zusätzlich als Reinkulturen untersucht.

Die durch Ultraschall hervorgerufenen Effekte treten vor allem in Abhängigkeit von dem eingesetzten Energieeintrag und dem Anteil der behandelten Biomasse auf. Für das Erreichen optimaler morphologischer Veränderungen in der Flockenstruktur und die Vermeidung der Bildung von Blähschlamm-Biomasse war eine Behandlung von etwa 20% der Belebtschlamm-Biomasse (RS) mit einem Energieaufwand

von 4 Wh/l ausreichend. Eine kontinuierliche Behandlung von 20% der Belebtschlamm-Biomasse (RS) mit einem Energieeintrag von 7,5 Wh/l brachte eine Reduktion der Überschussschlammproduktion von bis zu 100% (von durchschnittlich 65 [mg/l d] im Referenzreaktor auf -7 [mg/l d] im Ultraschallreaktor). Dagegen war für eine signifikante Optimierung des Stickstoffumsatzes eine Behandlung von 30% des Rücklaufschlammes mit einem Energieaufwand von 7,5 Wh/l notwendig.

Die erzielten Effekte werden durch eine Begünstigung des Energiestoffwechsels als Folge einer gesteigerten Verfügbarkeit von organischem Substrat und Sauerstoff erklärt. Des Weiteren wird die gesteigerte Aktivität in der Belebtschlamm-Biomasse durch den mechanischen Stress der Beschallung hervorrufen. Darüber hinaus wurden Hinweise bezüglich der Verschiebung nitritoxidirender Bakterien in mit Ultraschall behandelten Reaktoren gefunden. Hier besteht ein Bedarf an weiteren Studien, um eine Verschiebung mikrobieller Population mittels moderner molekularbiologischer Techniken zu dokumentieren.

Die Ergebnisse zur Optimierung des Belebtschlammverfahrens bestätigten die in der Einführung genannten Beobachtungen des Einsatzes von Ultraschall aus der Praxis. Die vorliegenden Forschungsergebnisse bilden eine solide Grundlage für den Einsatz der neuen Technologie in großtechnischer Anwendung.

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1 Verfahrensschema einer Belebungskläranlage 6
Abb. 1.2 Wirkung von Ultraschall auf die Klärschlammstruktur 7
Abb. 2.1.1 Schematische Darstellung der Biomasseproduktion in einer biologischen Kläranlage .. 12
Abb. 2.2.1 Schematischer Zellaufbau der grampositiven und gramnegativen Bakterien ….....….. 14
Abb. 2.2.2 REM- Aufnahme einer Belebtschlammflocke, KA Seevetal, 6.620-fache Ver. …..... 15
Abb. 2.2.3 Modellvorstellung der Sauerstoffverfügbarkeit in einer Belebtschlammflocke 16
Abb. 2.3.1 Ultraschall-Frequenzbereiche und dominierende Prozesse …..... 17
Abb. 2.3.2 Wachstum und Implosion von Kavitationsblasen im Ultraschallfeld …..... 17
Abb. 2.4.1 Schematische Darstellung der Zellzerstörung durch hydrodynamische Kavitation 18
Abb. 2.4.2 Proteinfreisetzung durch Beschallung 19
Abb. 2.5.1 Anwendungsmöglichkeiten der Ultraschalldesintegration zur Intensivierung der biologischen Schlammbehandlung 21
Abb. 4.1.1.1 Reaktoraufbau 46
Abb. 4.1.1.2 Aufbau der Versuchsanlage …..... 47
Abb. 4.1.3.1 Schematische Darstellung der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz …..... 38
Abb. 4.3.1 Versuchsaufbau zur Beschallung der Biomasse …..... 44
Abb. 5.1.1.1 Der TS-Gehalt während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 46
Abb. 5.1.1.2 Das Biomassewachstum während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 47
Abb. 5.1.1.3 Der TS-Gehalt während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 48
Abb. 5.1.1.4 Das Biomassewachstum während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 49
Abb. 5.1.2.1 Dehydrogenaseaktivität während des ersten Einsatzes 50
Abb. 5.1.2.2 Dehydrogenaseaktivität während des zweiten Einsatzes 51
Abb. 5.1.2.3 Dehydrogenaseaktivität während des dritten Einsatzes 52
Abb. 5.1.3.1 Sauerstoffverbrauch während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 53
Abb. 5.1.3.2 Sauerstoffverbrauch während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 54
Abb. 5.1.4.1 DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des ersten kontinuierlichen Einsatzes .. 55
Abb. 5.1.4.2 Kohlenstoffabbau während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 55
Abb. 5.1.4.3 Kohlenstoffabbau während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 56
Abb. 5.1.4.4 Kohlenstoffabbau während des dritten kontinuierlichen Einsatzes 56
Abb. 5.1.4.5 Kohlenstoffabbau während des vierten kontinuierlichen Einsatzes 57
Abb. 5.1.5.1 Stickstoffabbau während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 58
Abb. 5.1.5.2 Berechnete Nitrifikationsgeschwindigkeiten während des ersten kontinuierlichen Einsat

zes 59
Abb. 5.1.5.3 Berechnete Denitrifikationsgeschwindigkeiten während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 59
Abb. 5.1.5.4 Stickstoffabbau während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 61
Abb. 5.3.6.5 NH_4-N-Konzentrationen im Ablauf während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes ... 61
Abb. 5.3.6.6 N-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des dritten kontinuierlichen Einsatzes 62
Abb. 5.3.6.7 NO_3-N-Konzentrationen im Ablauf während des dritten kontinuierlichen Einsatzes 63
Abb. 5.3.6.8 NH_4-N-Konzentrationen im Ablauf während des dritten kontinuierlichen Einsatzes 63
Abb. 5.3.6.9 NO_3-N-Konzentrationen im Ablauf während des vierten kontinuierlichen Einsatzes 64
Abb. 5.2.1.1 Dehydrogenaseaktivität in einem Batch-Experiment (behandelt mit 5 Wh/l) 65
Abb. 5.2.1.2 Dehydrogenaseaktivität in einem Batch-Experiment (behandelt mit 7 und 9 Wh/l) 66
Abb. 5.2.2.1 Sauerstoffverbrauch in einem Batch-Experiment 67
Abb. 5.2.3.1 Denitrifikationsgeschwindigkeit in einem Batch-Experiment 68
Abb. 5.3.1.1.1 REM-Aufnahme des Belebtschlammes aus KA Seevetal (unbehandelt): a) Übersichtsaufnahme, b) Nahaufnahme 69
Abb. 5.3.1.1.2 Lichtmikroskopische Phasenkontrastaufnahme der Flockenstruktur aus SBR in nativem Präparat. 100-fache Vergrößerung 70
Abb. 5.3.1.1.3 REM-Aufnahme des Belebtschlammes aus dem SBR (4 Wh/l): a) Übersichtsaufnahme, b) Nahaufnahme 71
Abb. 5.3.1.1.4 *Nitrospira*-Mikrokolonie in einer Belebtschlammprobe: a) REM-Aufnahme aus dem SBR, behandelt mit 4 Wh/l, b) TEM-Aufnahme aus d. KA Seevetal, behandelt mit 10 Wh/l .. 72
Abb. 5.3.1.2.1 REM-Aufnahmen des Belebtschlammes: a) unbehandelt, b) behandelt mit 2 Wh/l, c) behandelt mit 10 Wh/l, d) behandelt mit 20 Wh/l, 2.400-fache Ver. 73
Abb. 5.3.1.2.2 REM-Aufnahme des Belebtschlammes (behandelt mit 20 Wh/l), 20.000-fache Ver. 74
Abb. 5.3.1.2.3 DOC-, TN-Freisetzung aus dem Belebtschlamm durch Ultraschall 75
Abb. 5.3.1.2.4 DHA in der Biomasse nach der Ultraschallbehandlung 76
Abb. 5.3.3.1.1 Populationsstruktur AOB in der KA Bünde und KA Seevetal mittels spezifischer Oligonukleotidsonden: a) Nsm 156, b) Nsv 443 78
Abb. 5.3.3.1.2 Populationsstruktur NOB in der KA Bünde und KA Seevetal mittels spezifischer Oligonukleotidsonden: a) Ntspa 662, b) Nit 3 79
Abb. 5.3.3.2.1 Sauerstoffverbrauch von AOB während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 80
Abb. 5.3.3.2.2 Sauerstoffverbrauch von NOB während des ersten kontinuierlichen Einsatzes 81
Abb. 5.3.3.2.3 Sauerstoffverbrauch von AOB während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 81
Abb. 5.3.3.2.4 Sauerstoffverbrauch von NOB während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes 82
Abb. 5.3.3.2.5 Sauerstoffverbrauch von AOB während des vierten kontinuierlichen Einsatzes 82

Abb. 5.3.3.2.6 Sauerstoffverbrauch von NOB während des vierten kontinuierlichen Einsatzes 83
Abb. 5.3.3.3.1 Sauerstoffverbrauch der AOB im Batch-Experiment ……..... 84
Abb. 5.3.3.3.2 Sauerstoffverbrauch der NOB im Batch-Experiment ……..…… 84
Abb. 5.3.4.1.1 REM-Aufnahme von *M. parvicella*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 2 Wh/l, c) behandelt mit 5 Wh/l 86
Abb. 5.3.4.1.2 TEM-Aufnahme von *M. parvicella*, behandelt mit 10 Wh/l 87
Abb. 5.3.4.1.3 TEM-Aufnahme von *M. parvicella* aus der KA Seevetal: a) unbehandelt, b) behandelt mit 10 Wh/l 88
Abb. 5.3.4.2.1 REM-Aufnahme von *P. aeruginosa*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 5 Wh/l, c) behandelt mit 10 Wh/l, d) behandelt mit 20 Wh/l 89
Abb. 5.3.4.2.2 TEM-Aufnahme von *P. aeruginosa*: a) unbehandelt, b) behandelt mit 20 Wh/l, c) unbehandelt, d) behandelt mit 5 Wh/l 90
Abb. 5.3.4.2.3 N-Freisetzung bezogen auf den Anfangsgehalt aus der Bakteriensuspension durch Ultraschall 91
Abb. 6.1 Entwicklung der mikrobiellen Aktivität im SBR 94
Abb. 6.2 Entwicklung des Biomassewachstums im SBR 95
Abb. 6.3 Desintegrationseffekt auf die Biomasseproduktion im Belebtschlamm 96
Abb. 6.4 Entwicklung der mikrobiellen Aktivität in Batch-Experimenten 97

9 Tabellenverzeichnis

Tab. 3.1.1 Kennwerte der KA Bünde und KA Seevetal im Durchschnitt (im 2009) 24

Tab. 3.2.1 Verwendete Bakterienstämme 25

Tab. 3.3.1 Zusammensetzung des synthetischen Abwassers in mg/l 25

Tab. 3.4.1.3.1 Einbettungsschema nach Spurr, 1969 27

Tab. 3.4.4.1 Zusammensetzung der Waschlösung 31

Tab. 4.1.3.1 Betriebsparameter von kontinuierlichen Einsätzen 39

Tab. 4.3.1 Beschallungsparameter 45

Tab. 5.1.1.1 Literaturangaben zum Biomassewachstum 48

Tab. 5.1.2.1 Literaturangaben zur Dehydrogenaseaktivität 51

Tab. 5.1.3.1 Literaturangaben zum Sauerstoffverbrauch 53

Tab. 5.1.5.3 Literaturangaben zur Nitrifikationsgeschwindigkeit 58

Tab. 5.1.5.2 Literaturangaben zur Denitrifikationsgeschwindigkeit 60

Tab. 5.1.5.3 Freisetzung des DOC durch Ultraschall 60

Tab. 5.3.1.1.1 Auftreten der höheren Mikroorganismen im Belebtschlamm während der kontinuierlichen Einsätze 71

Tab. 5.3.2.1 Auftreten der Fadenbakterien im Belebtschlamm während der kont. Einsätze 77

Tab. 5.3.3.2.1 Einstufung für den Sauerstoffverbrauch nitrifizierender Bakterien in Belebtschlamm in mg O_2/(gTS h) bei 20°C 79

Tab. 6.1 Abbauleistung in der verwendeten SBR-Anlage 93

Tab. 6.2 Einfluss des Ultraschalls auf die Biomasse 98

8 Abkürzungsverzeichnis

Ab	- Ablauf
Abb.	- Abbildung
AbfAblV	- Abfallablagerungsverordnung
AbfG	- Abfallgesetzes
AbfKlärV	- Klärschlammverordnung
A_{CSB}	- Aufschlussgrad bestimmt mittels CSB
AK	- Arbeitskreis
AOB	- Ammonium oxidierende Bakterien
ATV	- Abwassertechnische Vereinigung
Besch	- Beschallung
BSB	- biologischer Sauerstoffbedarf
BSB_5	- biologischer Sauerstoffbedarf nach 5 Tagen
CO_2	- Kohlenmonoxid
CSB	- chemischer Sauerstoffbedarf
DMAE	- Dimethylaminoethanol
DAPI	- 4',6-Diamidino-2- phenylindoldihydrochlorid
DC	- gelöster Gesamtkohlenstoff
Deni	- Denitrifikationsphase
D.E.R.	- Diglycidether
d.h.	- das heißt
DHA	- Dehydrogenaseaktivität
dH_2O	- destilliertes Wasser
DOC	- gelöster organischer Kohlenstoff
DWA	- Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall
EDTA	- Ethylendinitrilotetraessigsäure
EPS	- extrazelluläre polymere Substanzen
E.R.L.	- Vinylcyclohexendioxid
et al.	- et alii
Eub	- Eubakterien
FISH	- Fluoreszenz in-situ-Hybridisierung
Geschw.	- Geschwindigkeit
H•	- Wasserstoffradikale
HCO-	- Hydrogencarbonat-Ion

INT	- 2-p-Iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyl-2H-tetrazoliumchlorid
INTF	- reduzierte Form vom INT
KA	- Kläranlage
KNO_3	- Potassiumnitrat
KrWG	- Kreislaufwirtschaftsgesetz
LB	- Lauria Bertani
min	- Minuten
N	- Stickstoff
$NaNO_2$	- Sodiumnitrit
NH_4^+	- Ammonium-Ion
NH_4Cl	- Ammoniumchlorid
NH_4-N	- Ammoniumstickstoff
Nitri	- Nitrifikationsphase
NO_3^-	- Nitrat-Ion
NO_3-N	- Nitratstickstoff
NOB	- Nitrit oxidierende Bakterien
NSA	- Nonenylsuccinicanhydrid
O_2	- Sauerstoff
OH•	- Hydroxylradikal
oTS	- organische Trockensubstanz
OV	- Sauerstoffverbrauch
PBS-Puffer	- Phosphatgepufferte Salzlösung
PFA	- Paraformaldehyd
PO_4^{3-}	- Phosphat-Ion
REM	- Rasterelektronen Mikroskopie
rpm	- Umdrehungen pro Minute
rRNA	- ribosomale Ribonukleinsäure
RS	- Rücklaufschlamm
SA	- Schlammalter
SBR	- Sequencing-Batch Reaktoren
SDS	- Natriumdodecylsulfat
spp.	- Species
SVI	- Schlammvolumenundex
Tab.	- Tabelle
$t_{ab/zu}$	- Zeit für Klarwasserabzug, Zugabe von synthetischem Abwasser und die Beschallung

t_{aerob} - Zeit der aeroben Reaktionsphase

t_{anox} - Zeit der anoxischen Reaktionsphase

11 Literatur

Ahmed F. I. K., Russell C. (1975) Synergism between Ultrasonic Waves and Hydrogen Peroxide in the Killing of Microorganisms. Journal of Applied Microbiology. 39(1), 31-40

Alliger H. (1975) Ultrasonic disruption. American Laboratory 10, 75-85

Amann, R., Binder, B.J., Olson, R.J., Chisholm, S.W., Devereux, R., Stahl, D.A. (1990) Combination of 16S ribosomal RNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. Appl. Environ. Microbiol. 56(6), 1919-1925

Amann R., Ludwig W. & Schleifer K.-H. (1995). Phylogenetic identification and in-situ detection of individual cells without cultivation. Microbiol. Rev. 59, 143-169

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. Wat. Res. 24(1), 97-101

ATV (2000) Bemessung von einstufigen Belebungsanlagen. Arbeitsblatt der ATV-DVWK-A 131. GFA Verlag

ATV (2000) Verfahren und Anwendungsgebiete der mechanischen Klärschlammdesintegration. Arbeitsbericht der ATV-Arbeitsgruppe 3.1.6 „Klärschlammdesintegration“. Korrespondenz Abwasser. 47(4), 570-576

ATV (2001) Verfahrensvergleich und Ergebnisse der mechanischen Klärschlammdesintegration. Arbeitsbericht der ATV-DVWK-Arbeitsgruppe AK-1.6 „Klärschlammdesintegration“. Korespondenz Abwasser. 48(3), 393-400

ATV (2003) Thermische, chemische und biochemische Desintegrationsverfahren. Arbeitsbericht der ATV-DVWK-Arbeitsgruppe AK-1.6 „Klärschlammdesintegration“. Korespondenz Abwasser. 50(6), 796-804

Aust E., Breiter R., Köppl S. (2005) Eine schnelle Methode zur Bestimmung der Nitrifikationsaktivität von belebtem Schlamm. Korespondenz Abwasser. 52(3), 294-299

Bauhaus-Universität Arbeitsgruppe Weiterbildendes Studium Wasser und Umwelt (2006) Abwasserbe-

handlung. Univ.-Verlag. Weimar

Bever J., Stein A., Teichmann H. (2002) Weitergehende Abwasserreinigung. Oldenbourg-Industrieverlag

Blackall L., Straton H., Bradford D., Del Dot T., Sjorup C., Seviour E. M., Seviour R. (1996) “Candidatus Microthrix parvicella,” a Filamentous Bacterium from Activated Sludge Sewage Treatment Plants. International Journal of Systematic Bacteriology. 46(1), 344-346

Bock E., Koops H.-P. (1992) The genus Nitrobacter and related genera. In Balow S. A., Trüper H. G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.-H. The Prokaryotes. 2(3), 2302-2309. Springer Verlag. New York

Bolle C. (2006) Zellaufschluss mit Ultraschall und seine Folgen bzgl. Flockenstruktur und der Proteinfreisetzung. Studienarbeit. TU Hamburg-Harburg

Bundesministeriums der Justiz in Zusammenarbeit, juris GmbH (2004) Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung - AbwV)

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (2010) 2. Arbeitsentwurf. AbfKlärV. Bonn

Büschelberger H.-G. (1987) Untersuchungen zum mechanischen Aufschluss von Mikroorganismen in Hochdruckhomogenisatoren. Dissertation. TU Karlsruhe

chip GmbH und ZEK - Zentrum für Entsorgungstechnik und Kreislaufwirtschaft (2005). Technologien zur Überschussschlammreduktion bei der biologischen Abwasserbehandlung. Informationsblatt

Chisti Y. (2003) Sonobioreaktors: using ultrasound for enhanced microbial productivity. Trends in Biotechnology. 21, 89-93

Daims H., Brühl A., Amann R., Schleifer K.-H., Wagner M. (1999) The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: Development and evaluation of a more comprehensive probe set. Syst. Appl. Microbiol. 22, 434-444

Daims H., Nielsen J.L., Nielsen PH., Schleifer K.-H., Wagner M. (2001, b) In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. Appl Environ Microbiol. 67, 5273-

5284

Daims H, Nielsen J.L., Schleifer K.-H., Wagner M. (2001, a) In situ charakterisation of Nitrospira-like bacteria, the key nitrite oxidizers in wastewater treatment plants. Appl. Environ. Microbiol. 67, 5273-5284

Diehm B. (2005) Beschallung von Rücklaufschlamm zur Verbesserung der Denitrifikation. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft: Ultraschall in der Umwelttechnik III. Hrsg. Neis U. TU Hamburg-Harburg. 50, 91-100

DWA (2009) Energiebilanz der Desintegration. Arbeitsbericht der ATV-DVWK-Arbeitsgruppe AK-1.6 „Klärschlammdesintegration“. Korrespondenz Abwasser, Abfall. 56(8), 797-801

Dytczak M. A., Kathleen L. Londry K. L., Oleszkiewicz J. A. (2008) Activated sludge operational regime has significant impact on the type of nitrifying community and its nitrification rates. Water Research. 42 (8-9), 2320-2328

Eder B. (2005) Großtechnische Erfahrungen mit der Ultraschallbehandlung von Klärschlämmen. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft: Ultraschall in der Umwelttechnik III. Hrsg. Neis U. TU Hamburg-Harburg. 50,139-150

Eikelboom D.H., van Buijsen H.J.J.(1992) Handbuch für die Mikroskopische Schlamm-Untersuchung Mikrobiologie und Gegenmaßnahmen. F. Hirthhammer Verlag, München

Erhart R., Bradford D., Seviour R.J., Amann R., Blackall L.L. (1997) Development and use of fluorescent in situ hybridization probes for the detection and identification of "Microthrix parvicella" in activated sludge. System. Appl. Microbiol. 20(2), 310-318

Fischer R. (2010) Mikrobiologieskript WS 2010/2011. Institut für Angewandte Biowissenschaften Abteilung Mikrobiologie. TU Karlsruhe

Foladori P., Andreottola G., Ziglio G. (2010) Sludge Reduction. Technologies in Wastewater Treatment Plants. IWA Publishing

Gerardi M.H. (2002) Nitrification and denitrification in the activated sludge process. Wiley-Interscience. New York

Görges B. (2007) Auswirkung auf die mikrobielle Nitrifikations- und Denitrifikationsleistung durch Desintegration von Biomasse mit Ultraschall. Diplomarbeit. TU Hamburg-Harburg

Gujer W. (2007) Siedlungswasserwirtschaft. 3. Auflage. Springer Verlag

Günthert F.W., Osswand M. (1999) Minimierung des Schlammanfalls auf der Kläranlage durch Desintegration - Bestandsaufnahme auf großtechnischen Anlagen. Mitteilungen der Universität der Bundeswehr München, Institut für Wasserwesen. 69

Hänel K. (1986) Biologische Abwasserreinigung mit Belebtschlamm. Fischer Verlag. Jena

Henze M., Bundgaard E. (1982) Bemessung von kombinierten Nitrifikations- und Denitrifikationsanlagen. Gwf-wasser-abwasser. 5, 240-246

Hiorns W. D., Hastings R. C., Head I. M., McCarthy A. J., Saunders J. R., Pickup R. W., Hall G. H. (1995) Amplification of 16S ribosomal RNA genes of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria demonstrates the ubiquity of nitrosospiras in the environment. Microbiology. 141, 2793-2800

Joyce E., Phull S. S., Lorimer J. P., Mason T. J. (2003) The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspension. A study of frequency, power and sonication time on cultured Bacillus species. Ultrasonic Sonochemistry 10, 315-318

Jubany I., Lafuente J., Baeza J. A., Carrera J. (2009) Total and stable washout of nitrite oxidizing bacteria from a nitrifying continuos activated sludge system using automatic control based on oxygen uptake rate measurement. Wat. Res. 43(11), 2761-2772

Juretschko S., Timmermann G., Schmid M., Schleifer K. H., Pommerening-Roser A., Koops HP., Wagner M. (1998) Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: Nitrosococcus mobilis and Nitrospira-like bacteria as dominant populations. Appl Environ Microbiol. 64, 3042-3051

Kemalides E. (2007) Biologische Abwasserreinigung - Erfahrungen auf der KA Bünde. Erfahrungen mit der Desintegration von Belebt- und Überschussschlamm. Workshop Abfall/Klärschlamm. Osnabrück. Tagungsband, 31-46

Knowles R. (2000) Nitrogen Cycle. In Lederberg. J. Encyclopedia of microbiology. Academic Press. San Diego. 379-391

Kowalchuk G. A., Stephen J. R., de Boer W., Prosser J. I., Embley T. M., Woldendorp J. W. (1997) Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the b subdivision of the class Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments. Appl. Environ. Microbiol. 63, 1489-1497

Kreuzinger N., Farnleitner A., Wandl G., Hornek R., Mach R. (2003) Molecular biological methods (DGGE) as a tool to investigate nitrification inhibition in wastewater treatment. Water Sc. and Tech. 47(11), 165-172

Kunst S., Helmer C., Knoop S. (2000) Betriebsprobleme auf Kläranlagen durch Blähschlamm, Schwimmschlamm, Schaum. Handbuch zur Identifizierung und Bekämpfung fädiger Bakterien. Springer Verlag. Berlin

Kuttruff H. (1988) Physik und Technik des Ultraschalls. S. Hirzel Verlag. Stuttgart

Kunz P. (1995) Behandlung von Abwasser. 4. Aufl. Vogel Buchverlag. Würzburg

Kunz P., Theunert B., Wagner S. (1996) Erkenntnisse und Erfahrungen aus praktischen Anwendungen der Klärschlammdesintegration. Korrespondenz Abwasser. 43 (7), 1289-1298

Kunz P., Wörne D. (1998) Nachweis der biologischen Verfügbarkeit von Klärschlamm nach Desintegration mit Rührwerkskügelmühle im Rahmen einer gezielten Denitrifikation. Klärschlammdesintegration. Veröffentlichungen des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft. 61. TU Braunschweig, 209-214

Li D. H., Ganczarczyk J. J. (1990) Structure of Activated Sludge Flocs. Biotechnology and Bioengineering. 35, 57-65

Li W., Zang G., Zang P., Liu H. (2008) Waste activated sludge reduction using sonication and cryptic growth. Int. J. Biotechnology. 10(1), 64-72

Liu H., Yan Y., He Y., Wang W., Yu Y. (2007) Low intensity ultrasound stimulates biological activity of aerobic activated sludge. Front. Environ. Sci. Engin. China. 1(1), 67-72

Lopez J. M., Koopmann B. und Bitton G. (1986) INT-Dehydrogenase Test for activated sludge process control. Biotechnology and Bioengineering. 28(7), 1080-1085

Lowry O., Rosebrough N. J., Lewis Farr A., Randall R. J. (1951) Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. The Journal of Biological Chemistry. 193, 265-275

Madigan et al. (2001) Mikrobiologie. Spektrum Akademischer Verlag. Heidelberg-Berlin

Mobarry B. K., Wagner M., Urbain U., Rittman B. E., Stahl D.A. (1996) Phylopgenetic probes for analyzing abudance and spatial organization of nitrifying bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 59, 1354-1360

Mobarry B. K., Wagner M., Urbain V., Rittmann B. E., Stahl D. A. (1996) Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 62, 2156-2162

Mudrack M., Kunst S. (1988) Biologie der Abwasserreinigung. 2. Aufl. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart

Mudrack K., Kunst S. (2003) Biologie der Abwasserreinigung. Spektrum Akademischer Verlag. Heidelberg-Berlin

Müller E. (2006) Bacteria and extracellular polymeric substances in activated sludge scum formation. Dissertation. TU München

Münch C. (2003) Die Bedeutung der wurzelassoziierten Mikroorganismen für die Stickstoffumsetzungen in Pflanzenkläranlagen. Dissertation. TU Dresden

Mutlu F. (2007) Determination of the effectiveness of low-intensity ultrasound on the metabolism of activated sludge. Project Work. TU Hamburg-Harburg

Neis U. (2005) Bekämpfung von Bläh- und Schwimmschlamm mit Ultraschall. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft: Ultraschall in der Umwelttechnik III. Hrsg. Neis U. TU Hamburg-Harburg. 50, 109-121

Neis U. (2007) Bekämpfung von Bläh- und Schwimmschlamm mit Ultraschall. Bericht der DWA Landesgruppe Nord zum Norddeutschem Symposium Microthrix II - Neueste Erkenntnisse zum Betrieb von Belebungsanlagen unter erschwerten Bedingungen - Schaum, Schwimm- und Blähschlamm. Bad Bramstedt

Neis U., Tiehm A. (1999) Ultrasound in wastewater and sludge treatment. TU Hamburg-Harburg Reports on Sanitary Engineering: Ultrasound in Environmental Engineering I. 25, 39-61

Nickel K. (2002) Intensivierung der anaeroben Klärschlammstabilisierung durch vorgeschalteten Zellaufschluss mittels Ultraschall. Dissertation. TU Hamburg-Harburg

Nickel K. (2005) Was können wir von der Schlammdesintegration mit Ultraschall erwarten? Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft: Ultraschall in der Umwelttechnik III. Hrsg. Neis U. TU Hamburg-Harburg. 50, 123-137

Nickel K., Neis U. (2003) Klärschlammdesintegration - Überblick über verschiedene Desintegrationsverfahren. 15. Kolloquium und Fortbildungskurs zur Abwasserwirtschaft. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft TU Hamburg-Harburg. 41, 91-106

Nielsen P.H. (2002) Activated sludge - the floc. Encyclopedia of environmental microbiology. 54-61

Nielsen P. H., Daims H., Lemmer H. (2009) FISH Handbook for Biological Wasterwater Treatment. Identification and quantification of microorganisms in activated sludge and biofilms by FISH. IWA Publishing. London

Obst U. (1995) Enzymatische Tests für die Wasseranalytik, R. Oldenburg Verlag GmbH. München

Paust K. (2007) Optimierung des Einsatzes einer Desintegrationsanlage zur Reduzierung der Stickstoffablauffrachten aus der Kläranlage Bünde. Diplomarbeit. FH Lippe und Höxter

Pike E. B., Curds C. R. (1971) The microbial ecology of the activated sludge process. Microbial Aspects of Polution. Academic Press. New York, 123-147

Poetsch M. (2005) Kläranlage Leinetal - Intensivierung der aeroben Schlammstabilisierung und Reduktion des Schlammanfalls. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft: Ultraschall in der Umwelttechnik III. Hrsg. Neis U. TU Hamburg-Harburg. 50, 151-159

Puschkarjowa J. (2007) Rücklaufschlammdesintegration mit Ultraschall im großtechnischen Versuchsmaßstab und die Auswirkungen auf den Belebtschlammprozess. Diplomarbeit. TU Hamburg-Harburg, Hochschule Magdeburg-Stendal

Rai C.L. Struenkmann G. Müller J., Rao P.G. (2004) Influence of ultrasonic disintegration on sludge growth reduction and its estimation by respirometry. Environ. Sci. Technol. 38, 5779-5785

Riedel C., Neis U. (2007) Reduktion überschüssiger Biomasse in der biologischen Abwasserreinigung durch Ultraschall. 19. Kolloquium und Fortbildungskurs zur Abwasserwirtschaft. Hamburger Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft. TU Hamburg-Harburg. 61, 185-196

Scherba G., Weigel R. M., O'Brien (1991) Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy. Applied and Environmental Microbiology. 57(7), 2079-2084

Schmid-Schmieder V. (2006) Biologische Reinigungsmethoden in der Abwasser- und Abfallbehandlung. Erich Schmidt Verlag

Schramm A., De Beer D., Wagner M., Amann R. (1998) Identification and Activities In Situ of Nitrosospira and Nitrospira spp. as Dominant Populations in a Nitrifying Fluidized Bed Reactor. Applied and Environmental Microbiol. 9, 3480-3485

Schulze J. Informationsblatt der Kläranlage Seevetal

Schwedes J., Bunge F. (1990) Mechanische Zellaufschlussverfahren. Jahrbuch Biotechnologie. Bd. 3. Hrsg. Präve P.

Seviour R.J., Nielsen P.H. (2009) Microbial Ecology of Activated Sludge. IWA Publishing. UK. London

Shimizu T., Kudo K., Nasu Y. (1993) Aerobic waste-activated sludge digestion - abiocobversion mechanism and kinetic model. Biotech. and Bioeng. 41, 1082-1091

Spieck E., Jozsa P.-G., Alawi M., Brill F., Quantz G., Beth S., Wolbeck R., Watermann B. (2007) Entwicklung neuartiger Trägermaterialien für die Wasseraufbereitung und Kreislaufführung in Marikultur-Produktionsanlagen der Fischzucht. Abschlussbericht der DBU. AZ 2382

Spurr A. R. (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microskopy. J. Ultrastr. Res. 26, 31-34

Staley J. T., Ward N., Fuerst J. A., Giovannoni S., Schlesner H., Stackebrandt E. (2006) The order

Planctomycetales, Including the Genera Planctomyces, Pirellula, Gemmata and Isosphaera and the Candidatus Genera Brocadia, Kuenenia and Scalindua. 757-793. In Dworkin M., Stanley F., Rosenberg E., Schleifer K.-H., Stackebrandt E. The prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Proteobacteria: Delta and Epsilon Subclasses. Deeply Rooting Bacteria. 3nd. Springer-Verlag. New York

Stephen J. R., McCaig A. E., Smith Z., Prosser J. I., M. Embley T. (1996) Molecular diversity of soil and marine 16S rRNA gene sequences related to b-subgroup ammonia-oxidizing bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 62, 4147-4154

Sun Y. (2006) Variation des Zellaufschlusses mit Ultraschall und seine Folgen bzgl. der Flockenstruktur und der mikrobiellen Stoffwechselleistung. Studienarbeit. TU Hamburg-Harburg

Suslick K. S. (1988) Ultrasound – its chemical, physical and biological effects. VCH-Verlagsgesellschaft, New York

TaSi (2005) Technische Anleitung zur Verwertung, Behandlung und sonstigen Entsorgung von Siedlungsabfällen

Vaxelaire G., Gonze E., Merlin G., Gonthier Y. (2004) Reduction of wasteactivated sludge production by ultrasonic treatment. 4th IWA world water congress and exhibition. Marrakech

Wagner M., Amann R. (1996) Die Anwendung von in-situ-Hybridisierungssonden zur Aufklärung von Struktur und Dynamik der mikrobiellen Biozönosen in der Abwasserreinigung. Oekologie der Abwasserorganismen. Hrsg. Lemmer H., Griebe T. & Flemming H.-C., Springer Verlag. 93-110

Wagner M., Loy A. (2002) Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. Current Opinion in Biotechnology. 13, 218-1227

Wagner M., Rath G., Amann R., Koops H.-P., Schleifer K.-H. (1995) In situ identification of ammonia-oxidizing bacteria. Syst. Appl. Microbiol. 18, 251-264

Wagner M, Rath G., Koops H.-p., Flood J., Amann R. (1996) In situ analysis of nitrifing bacteria in sewage treatment plants. Water Sci. Tech. 34, 237-244

Wang Z. Q., Pecha R., Gompf B., Eisenmenger W. (1999) Single bubble sonoluminescence: Investigati-

ons of the emitted pressure wave whit a fiberoptic probe hydrophone. Phys. Rev. E59, 1777-1780

Wolff H.-J., Nickel K., Houy A., Lunden A., Neis U. (2007) Two years experience on a large German STP with acoustic disintegration of waste activated sludge for improved anaerobic digestion. 11. World Congress on Anaerobic Digestion IWA. Brisbane. Australia

Yoon S.-H., Kim H.-S., Lee S. (2004) Incorporation of ultrasonic cell disintegration into a membrane bioreactor for zero sludge production. Process Biochemistry. 39, 1923-1929

Zang G., Zang P., Yang J., Chen Y. (2007) Ultrasonic erduction of excess sludge from the activated sludge system. Journal of Hazardous Materials. 145, 515-519

Zielewicz E. (2010) Czego mozna sie spodziewac po wprowadzeniu dezintegracji i dlaczego to, co uzyskujemy w skali technicznej nie jest tym, czego oczekiwano? Desintegracja osadow sciekowych jako metoda poprawy procesu biodegradacji - efekty praktyczne. Workshop. Gdanska Fundacja Wody. Gdansk

12 Anhang

12.1 Verwendete Lösungen

Nährmedien

LB (Lauria Bertani)-Medium (pH 7,5)

Pepton (tryptisch verdaut)	10 g/l
Hefeextrakt	5 g/l
Natriumchlorid	10 g/l

Komponente in destiliertem Wasser (dH_2O) lösen und autoklavieren

R2A-Flüssigmedium (pH 8)

Hefeextrakt	0,50 g/l
Pepton (tryptisch verdaut)	0,50 g/l
Caseinhydrolysat	0,50 g/l
Glucose	0,50 g/l
Stärke	0,50 g/l
di-Kaliumhydrogenphosphat	0,30 g/l
Magnesiumsulfat	0,024 g/l
Natriumpyruvat.	0,30 g/l
Tween 40	0,10 g/l

Komponente in dH_2O lösen und autoklavieren

*Das synthetische Abwasser modifiziert nach DIN 38 412 Teil 24**

Pepton	0,16 g/l
Hefeextrakt	0,11 g/l
Harnstoff	0,03 g/l
Dikaliumhydrogenphosphat	0,028 g/l
Natriumchlorid	0,007 g/l
Kalciumchlorid	0,004 g/l
Magnesiumsulphat	0,002 g/l
Natriumhydrogenkarbonat	Fakultativ

* Das synthetische Abwassers wurde in 1., 2. und 4. kontinuierlichen Einsatz verwendet (s. Tab. 3.3.1)

*Das synthetische Abwasser modifiziert nach Hao (Hao et al., 2009)**

Hefeextrakt	0,086 g/l
Glucose	0,24 g/l
Amoniumsulfat	0,094 g/l
Dikaliumhydrogenphosphat	0,034 g/l
Natriumchlorid	0,007 g/l
Kalciumchlorid	0,004 g/l
Magnesiumsulphat	0,002 g/l
Natriumhydrogenkarbonat	Fakultativ

Lösungen für die mikroskopische Untersuchung

Gram-Färbung-Lösung

Lösung A: Carbolgentianaviolett / Kristallviolett (Merck 9218)

Lösung B: Lugol´sche Lösung (Jod-Jodkalium Lösung), (Merck 9251)

Lösung C: 96 % Ethanol

Lösung D: Safranin (Merck 9217)

Neisser-Färbung-Lösung

Lösung A: Methylenblau in Essig und Ethanol (Merck 9238)

Lösung B: Kristallviolett in Ethanol (Merck 9239)

Lösung C: Chrysoidin Y (Merck 9240)

Kristallviolett-Färbung-Lösung

0,2 % wässrige Kristallviolettlösung

1-fach PBS-Puffer (Amann 1995)

NaCl	7,6 g/l
$Na_2HPO4 \times 2H_2O$	1,78 g/l
$NaH_2PO4 \times 1H_2O$	1,38 g/l

Komponente in dH_2O lösen und autoklavieren

* Das synthetische Abwassers wurde in 3. kontinuierlichen Einsatz verwendet (s. Tab. 3.3.1)

3-fach PBS-Puffer (Amann 1995)

NaCl	22,79 g/l
Na2HPO4 x 2H_2O	3,74 g/l
NaH2PO4 x1H_2O	1,24 g/l

Komponente in dH_2O lösen und autoklavieren

2,5% Glutaraldehydlösung in PBS-Puffer (pH 7,0)

25% Glutaraldehyd	1 ml
dH_2O	1,5 ml
3-fach PBS-Puffer	7,5 ml

Cacodylatpuffer (100 mM) (pH 7,2)

21,4 g $C_2H_6AsNaO_2$ in 1.000 ml H_2O lösen

2,5% Glutaraldehyd in (0,75 mM) Cacodylatpuffer

25% Glutaraldehyd	1 ml
dH_2O	1,5 ml
Cacodylatpuffer (100 mM)	7,5 ml

1% OsO4 in Cacodylatpuffer

Osmiumtetroxid	1 ml
dH_2O	24 ml
Cacodylatpuffer (100 mM)	72 ml

Lösungen und Materialien für FISH

8% p-Formaldehydlösung (Nielsen 2009)

p-Formaldehyd	4 g
dH_2O (60 °C)	30 ml
3x PBS-Puffer	16,6 ml

Komponente bis zu 50 ml mit dH_2O lösen und filtrieren (0,22 µm-Membranfilter)

DAPI (4',6-Diamidino-2- phenylindoldihydrochlorid)-Lösung

100 µg Dapi in 100 ml dH_2O lösen

5 M NaCl-Lösung

292 g NaCl in 1.000 dH_2O lösen und autoklavieren

1 M Tris/HCl (Tris (hydroxymethyl)-aminomethanhydrochlorid)-Lösung (pH 8,0)

158 g Tris/HCl in 1.000 dH_2O lösen und autoklavieren

10%ige SDS (Natriumdodecylsulfat)-Lösung

100 g SDS in 1.000 dH_2O lösen und autoklavieren und sterilfiltrieren (0,2 µm-Membranfilter)

0,5 M EDTA (Ethylendinitrilotetraessigsäure)-Lösung (pH 8,0)

186 g EDTA (Titriplex III) in 1.000 dH_2O lösen und autoklavieren

Tab. 12.1.3.1 Zusammensetzung des Hybridisierungspuffers

FA %	FA (µL)	Milli-Q (µL)	5M NACL (µL)	1M Tris/HCL (µL)	10%SDS (µL)
0	0	1600	360	40	2
5	100	1500	360	40	2
10	200	1400	360	40	2
15	300	1300	360	40	2
20	400	1200	360	40	2
25	500	1100	360	40	2
30	600	1000	360	40	2
35	700	900	360	40	2
40	800	800	360	40	2
45	900	700	360	40	2
50	1000	600	360	40	2
55	1100	500	360	40	2
60	1200	400	360	40	2
65	1300	300	360	40	2
70	1400	200	360	40	2

Tab. 12.1.3.2 Zusammensetzung des Waschpuffers

FA (%)	1 M Tris/HCL (µL)	10% SDS (µL)	5M NACL (µL)	0,5M EDTA (µL)
0	1000	50	9000	0
5	1000	50	6300	0
10	1000	50	4500	0
15	1000	50	3180	0
20	1000	50	2150	500
25	1000	50	1490	500
30	1000	50	1020	500
35	1000	50	700	500
40	1000	50	460	500
45	1000	50	300	500
50	1000	50	180	500
55	1000	50	100	500

Tab. 12.1.3.3 Verwendete Oligonukleotidsonden

Sonde	Spezifität	Sequenz (5'-3')	Fluoreszenzfarbstoff	Formamid [%]	Quelle
Nsm 156	*Nitrosomonas*	5'- TAT TAG CAC ATC TTT CGA T -3'	Cy3 (rot)	5	Mobarry et al. 1996
Nsv 443	*Nitrosospira*	5'- CCG TGA CCG TTT CGT TCC G -3'	FITC (grün)	30	Mobarry et al. 1996
Nit 3	*Nitrobacter*	5'- CCT GTG CTC CAT GCT CCG -3'	Cy3 (rot)	40	Wagner et al. 1996
Ntspa 662	*Nitrospira*	5'- GGA ATT CCG CGC TCC TCT -3'	FITC (grün)	35	Daims et al. 2001

Lösungen für chemische Analysen

INT-Lösung (pH 7,6)

200 mg INT in 100 ml dH_2O lösen

NH4Cl-Lösung (100 mg N/l)

9,5 g NH_4Cl in 100 ml H_2O lösen

NaNO2-Lösung (20mg N/l)

2,475 g $NaNO_2$ in 100 ml H_2O lösen

KNO3-Lösung

3,6 g KNO_3 in 1.000 ml H_2O lösen

12.2 Verbrauchsmaterialien

Materialien für TEM-Untersuchungen

Spurr-Einbettungsgemisch

E.R.L. 4206 (Vinylcyclohexendioxid)	5,0 g
D.E.R. 736 (Diglycidether)	3,0 g
NSA (Nonenylsuccinicanhydrid)	13,0 g
DMAE (S-1, Dimethylaminoethanol)	0,2 g

12.3 Lichtmikroskopische Analyse des Belebtschlamm

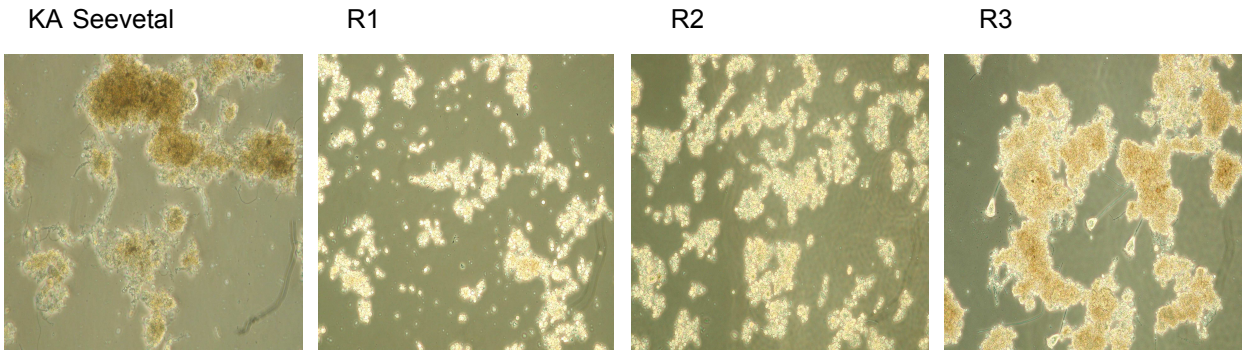


Abb. 12.3.1 Nativ-Darstellung (100-fache Vergrößerung)

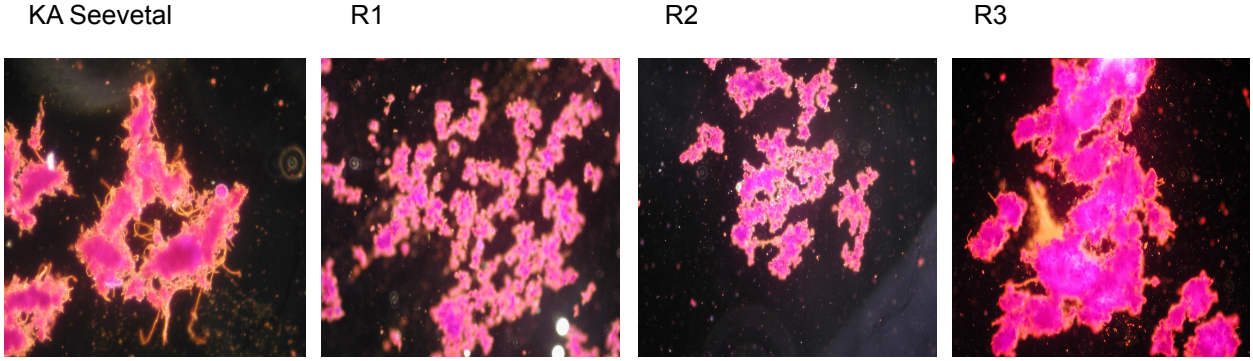


Abb. 12.3.2 Kristallviolett-Färbung (100-fache Vergrößerung)

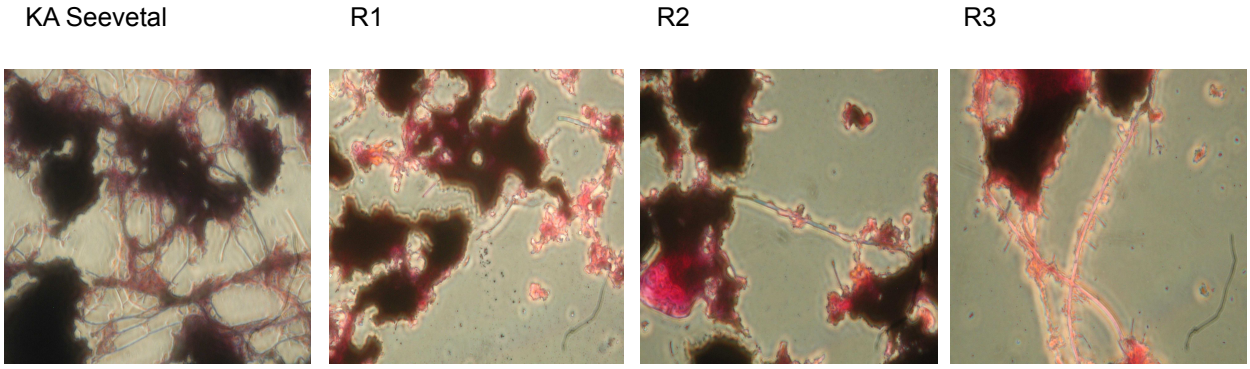


Abb. 12.3.3 Gram-Färbung (1000-fache Vergrößerung)

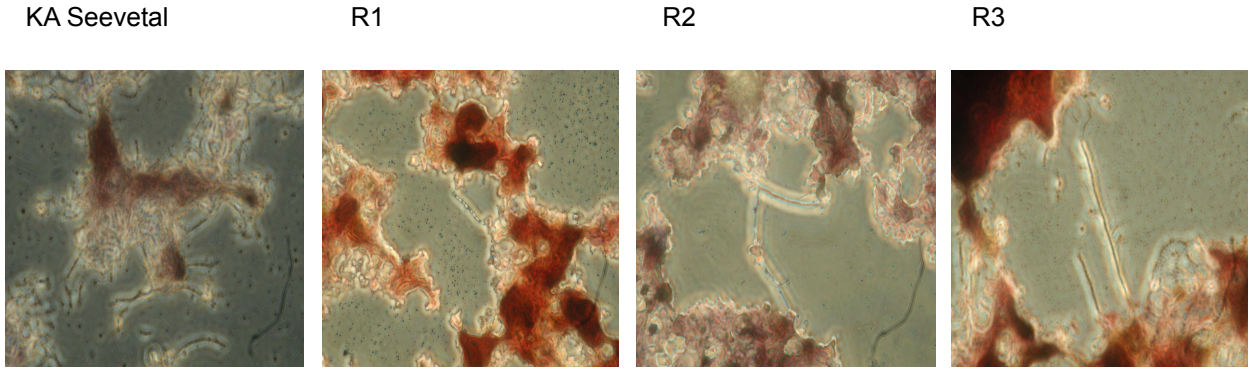


Abb. 12.3.4 Neisser-Färbung (1000-fache Vergrößerung)

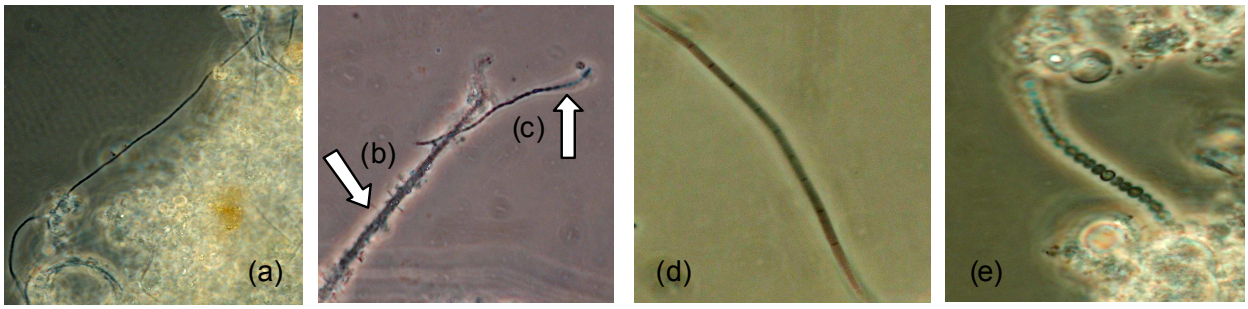


Abb. 12.3.5 Fadenorganismen, nativ Darstellung (1000-fache Vergrößerung): a) *Microthrix parvicella*, b) Eikelboom Typ 0041/0675, c) *Nostocoida limicola* II, d) Eikelboom Typ 0961, e) *Isosphaera* spp.

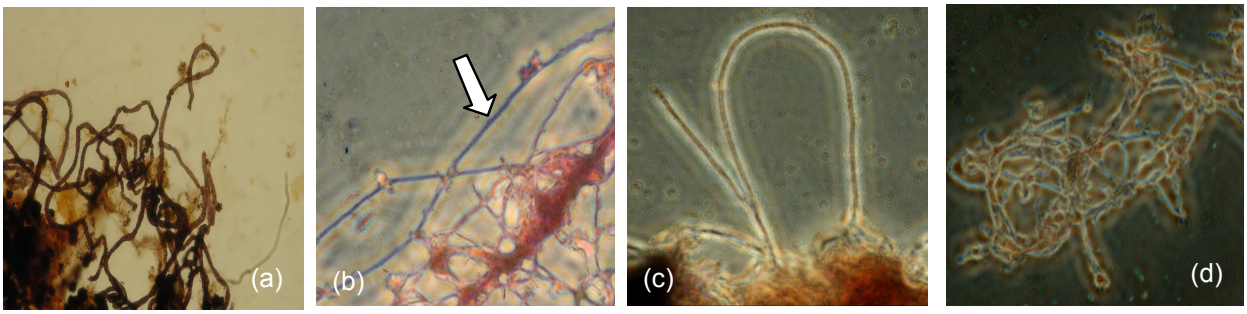


Abb. 12.3.6 Fadenorganismen (1000-fache Vergrößerung): a) *Nostocoida limicola* III (Neisser-Färbung), b) *Nostocoida limicola* II (Gram-Färbung), c) *Nostocoida limicola* II (Neisser-Färbung), d) *Microthrix parvicella* (Neisser-Färbung)

12.4 FISH-Analyse des Belebtschlammes

a) b)

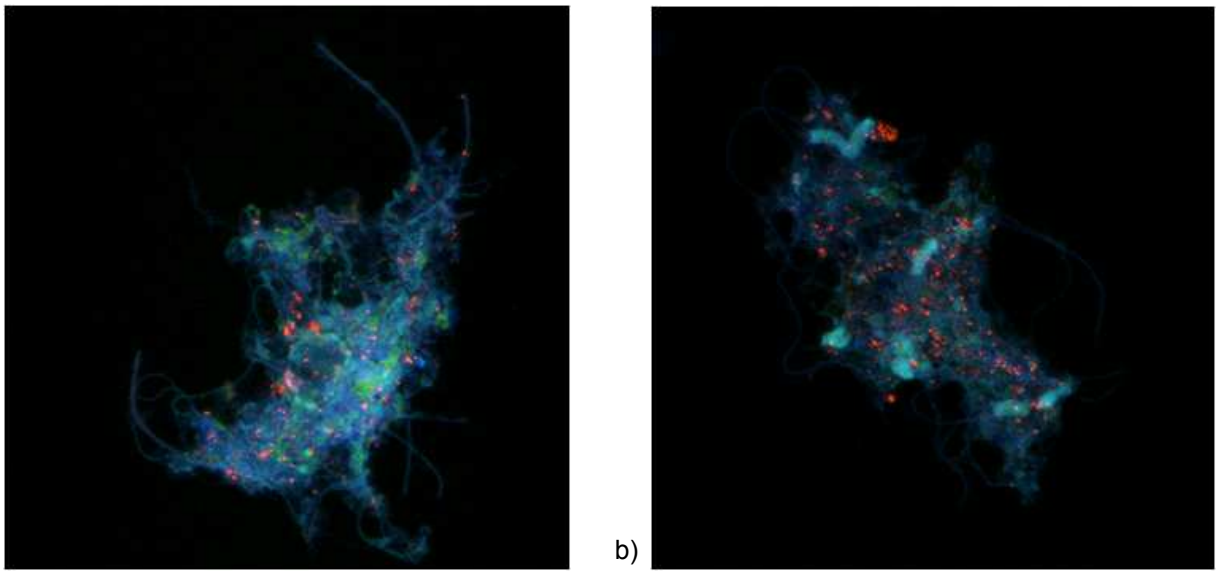


Abb. 12.4.1 FISH mit Nsm 156 (rot) und Nsv 443 (grün): a) KA Bünde, b) KA Seevetal

a) b)

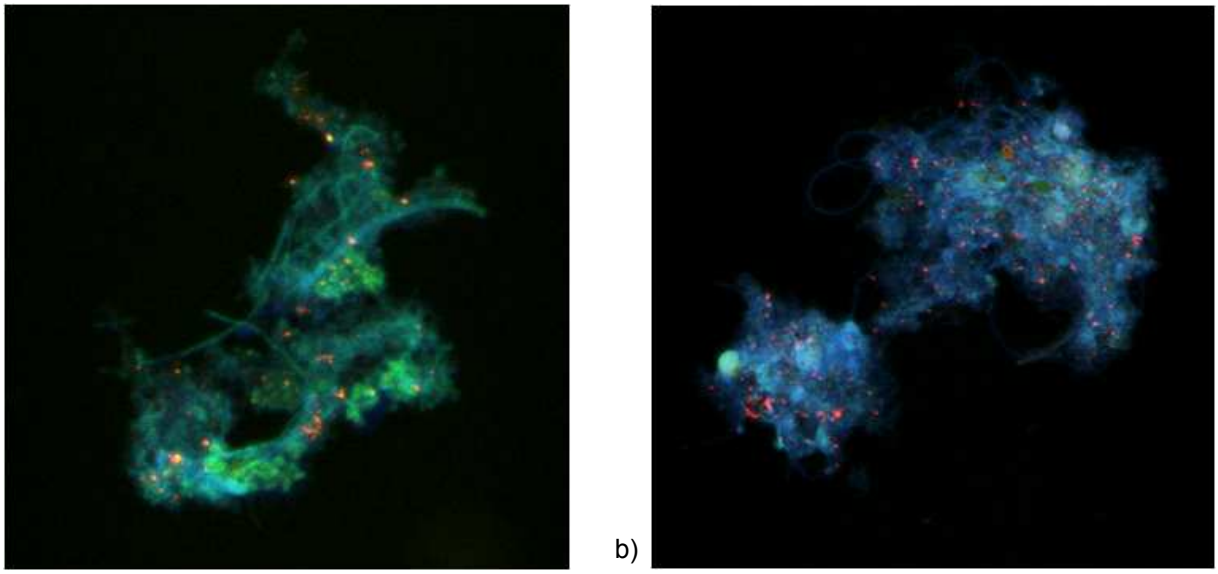


Abb. 12.4.2 FISH mit Nit 3 (rot) und Ntspa 662 (grün): a) KA Bünde, b) KA Seevetal

12.5 Betriebsparameter im SBR

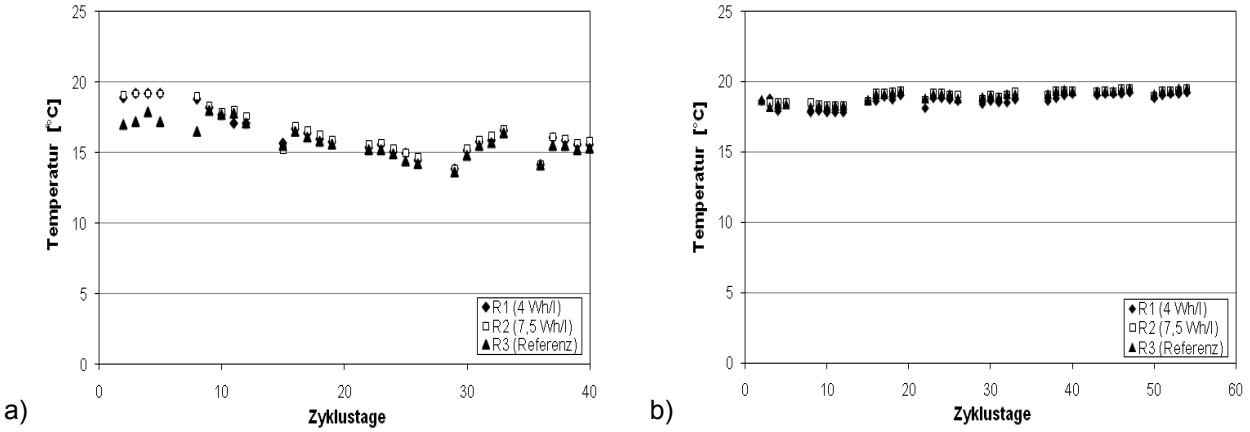


Abb. 12.5.1 Temperaturverlauf während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz

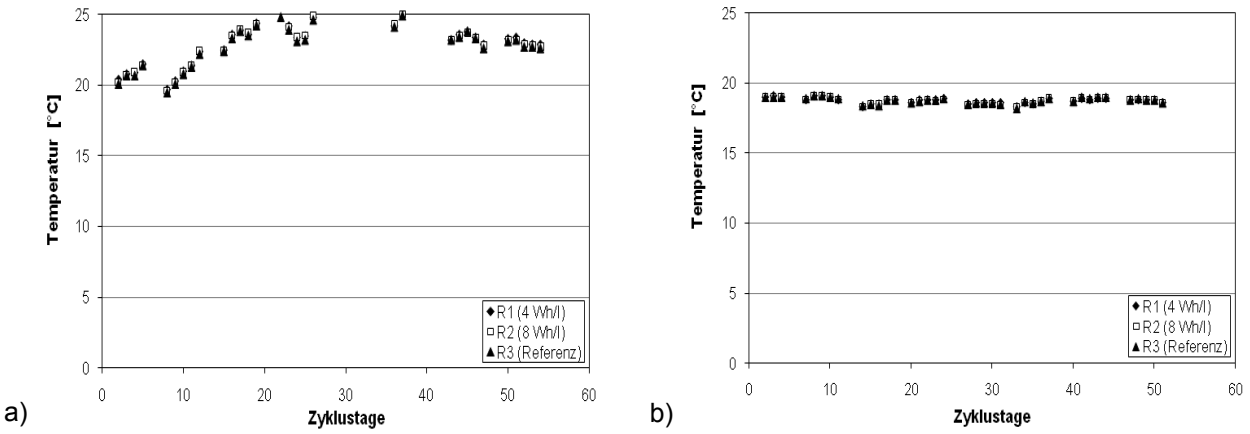


Abb. 12.5.2 Temperaturverlauf während der kontinuierlichen Einsätze: a) dritter Einsatz, b) vierter Einsatz

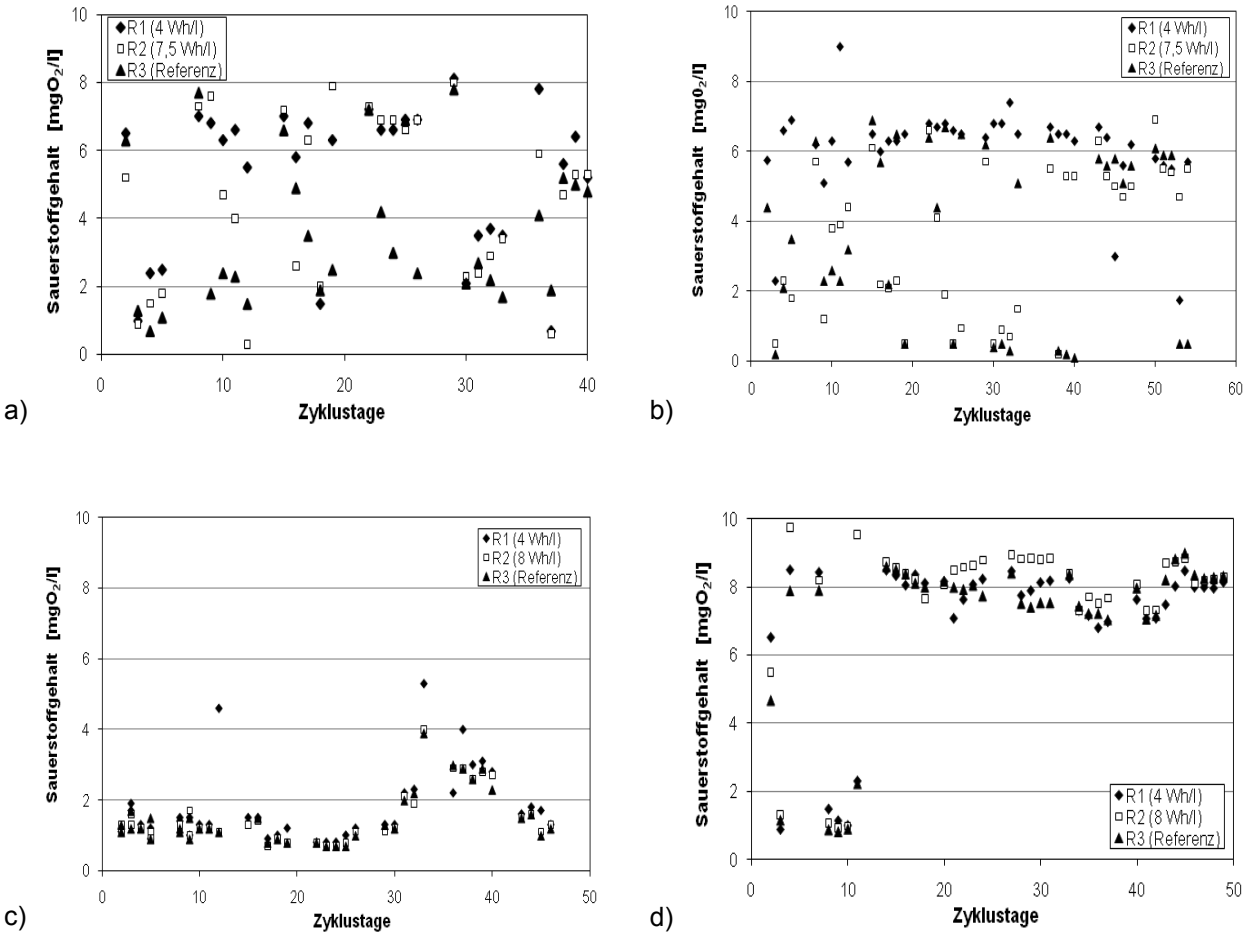


Abb. 12.5.3 Verlauf des Sauerstoffgehalts während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz

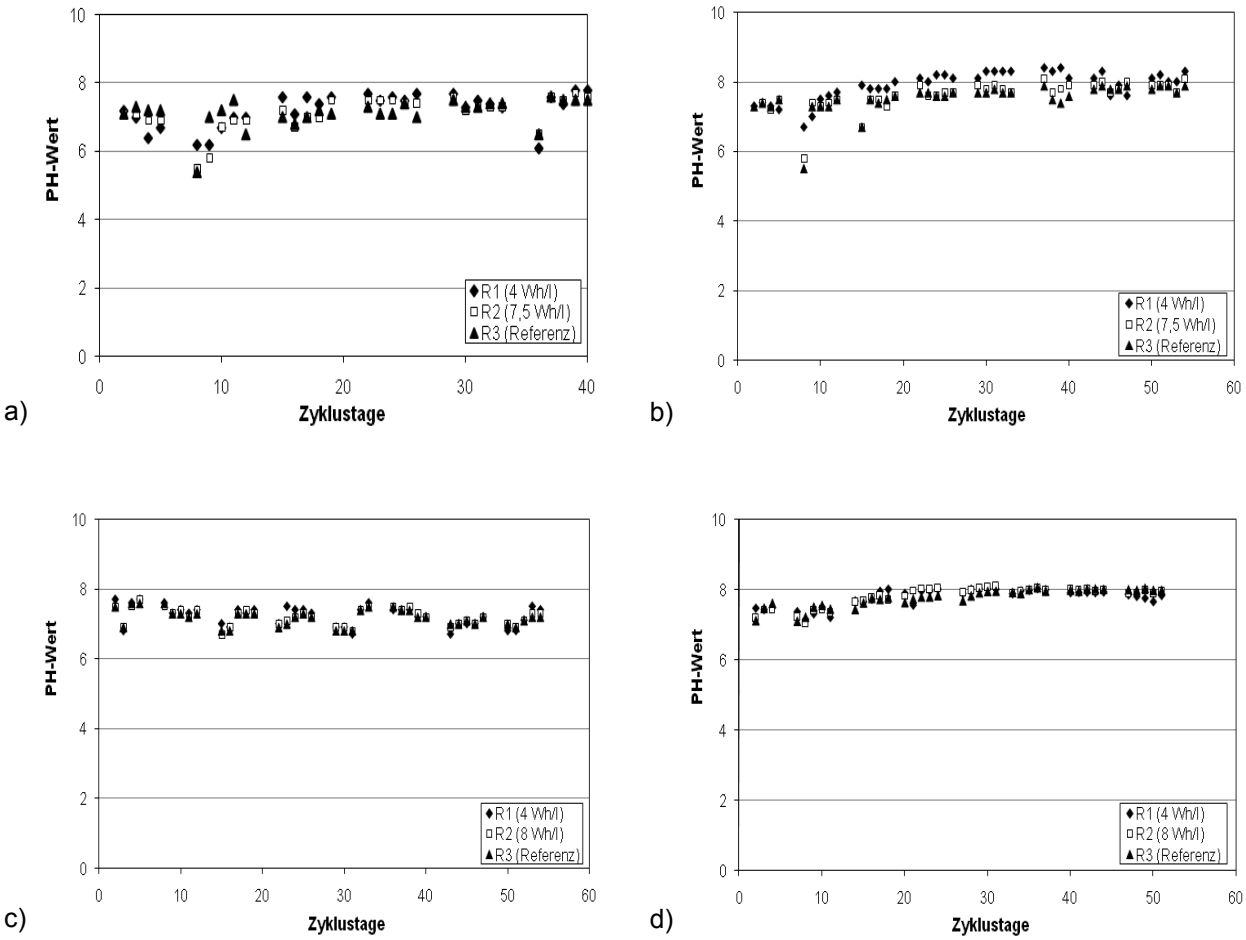


Abb. 12.5.4 Verlauf des pH-Werts während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz

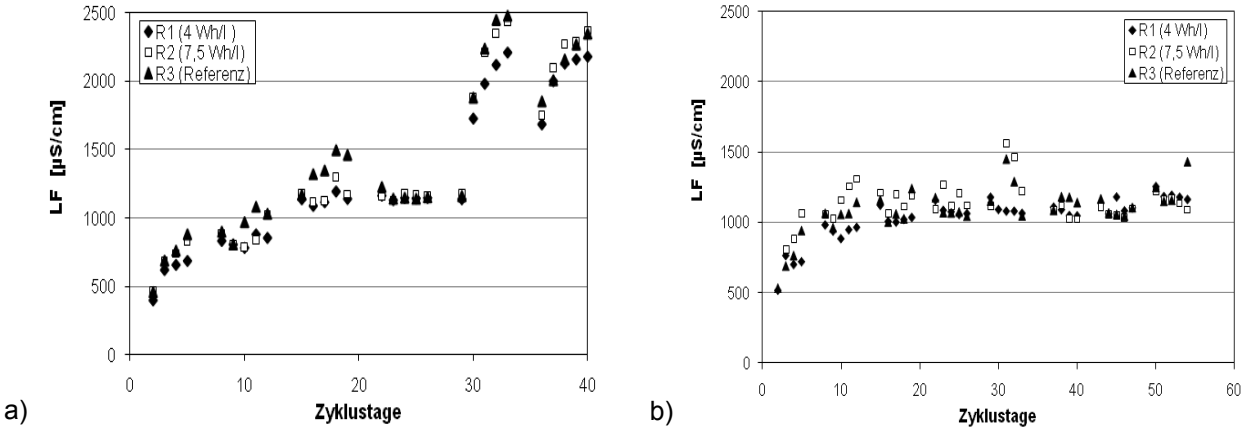


Abb. 12.5.5 Leitfähigkeitverlauf während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz

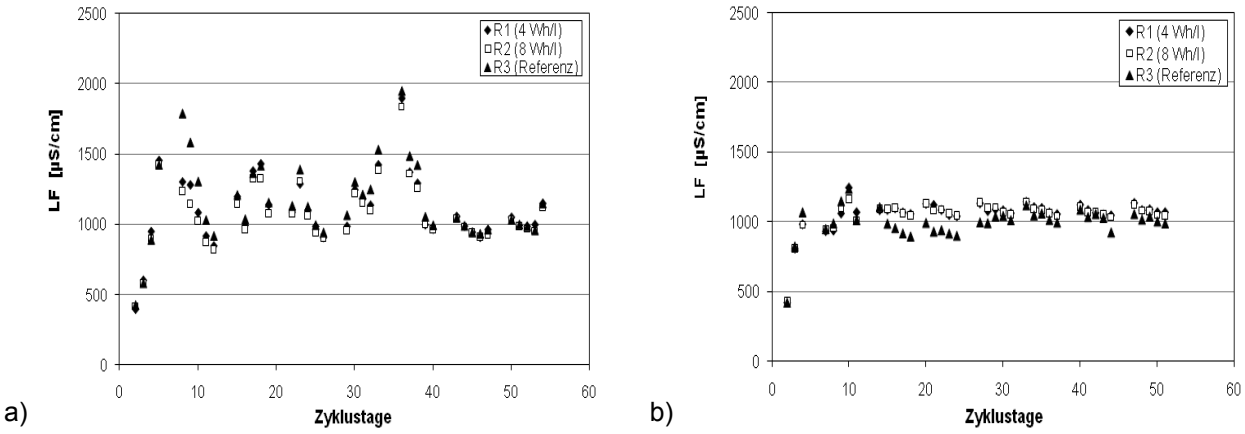


Abb. 12.5.6 Leitfähigkeitverlauf während der kontinuierlichen Einsätze: a) dritter Einsatz, b) vierter Einsatz

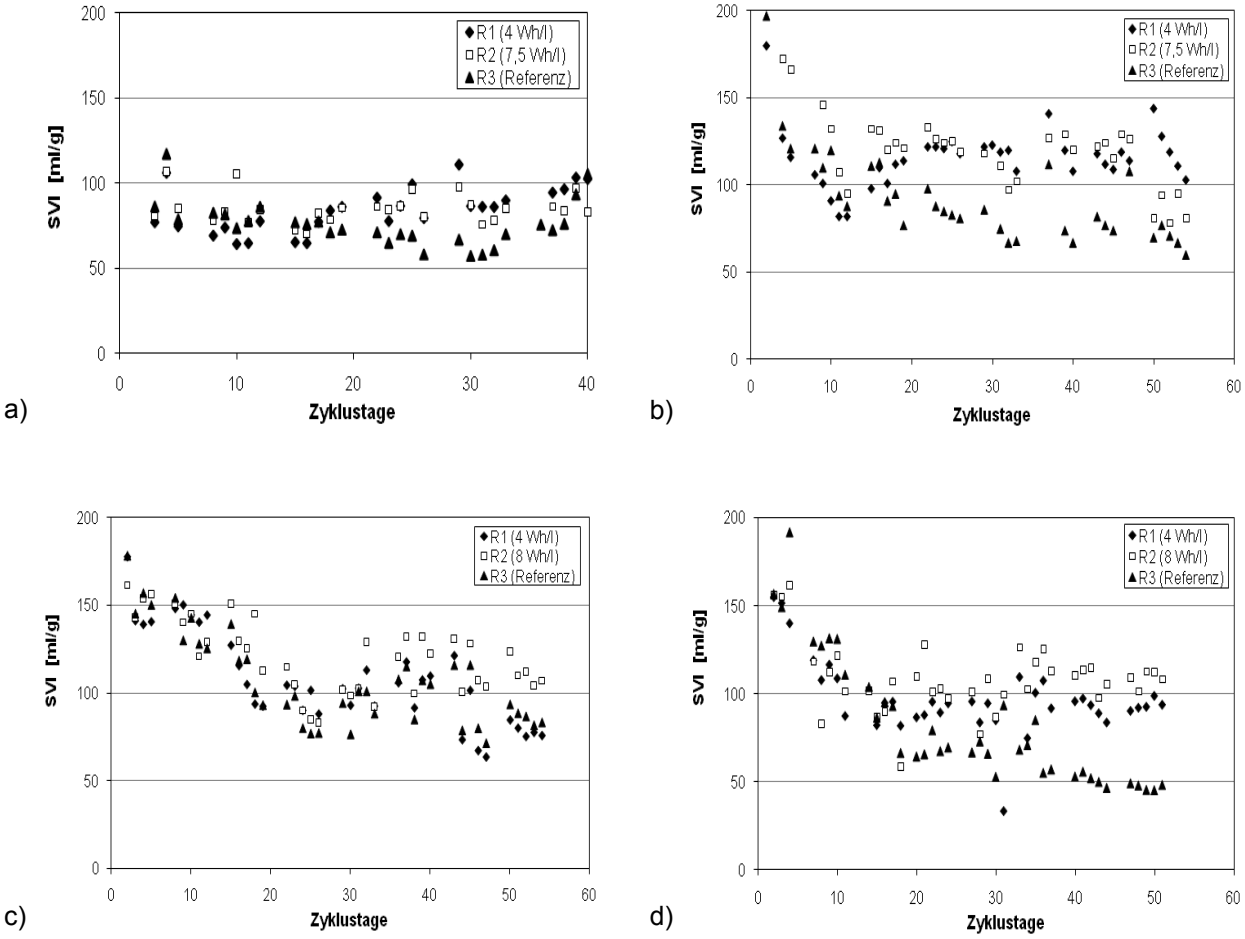


Abb. 15.5.7 Schlammvolumenindex während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz

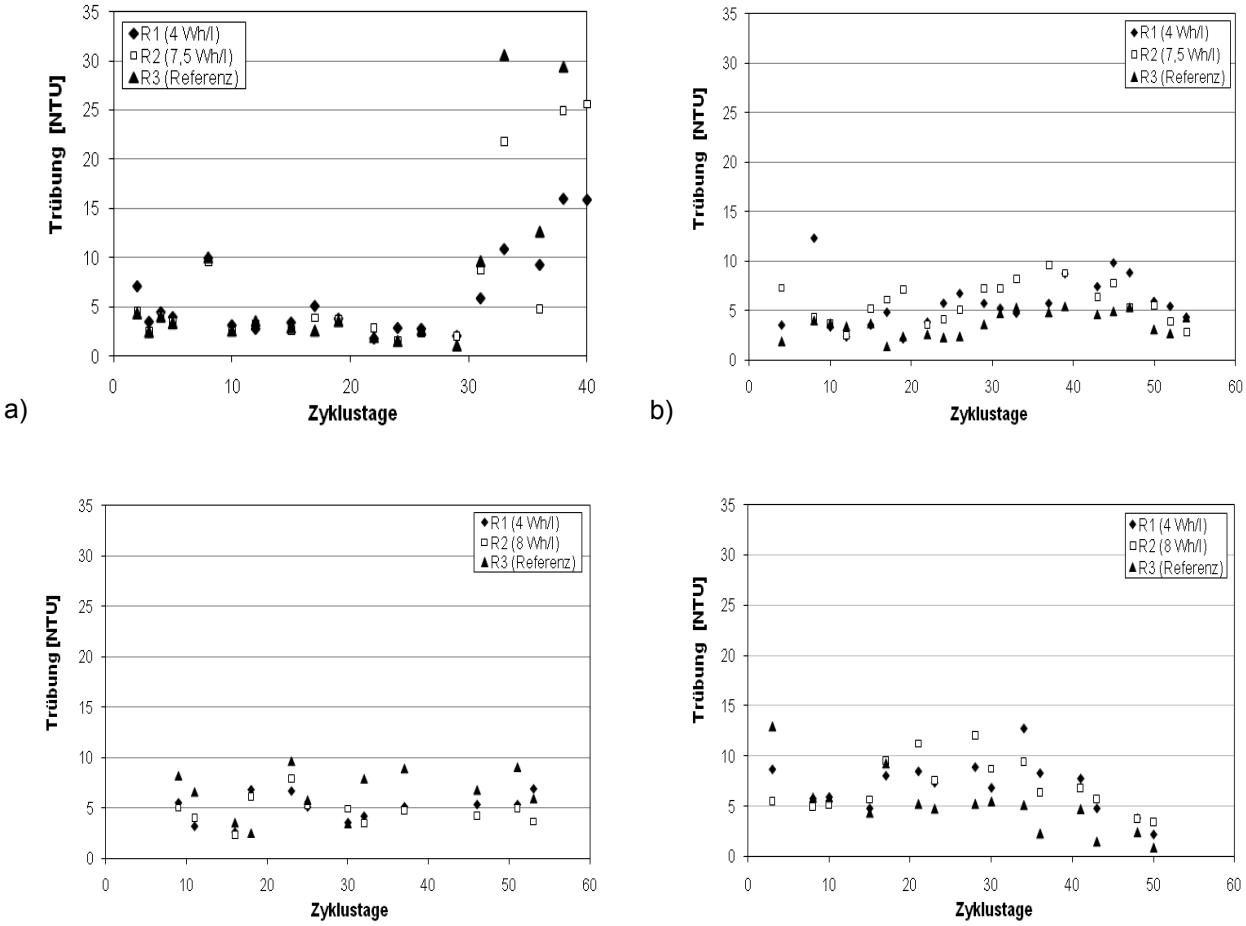


Abb. 12.5.8 Trübung im Ablauf während der kontinuierlichen Einsätze: a) erster Einsatz, b) zweiter Einsatz, c) dritter Einsatz, d) vierter Einsatz

12.6 Abbauleistung im SBR

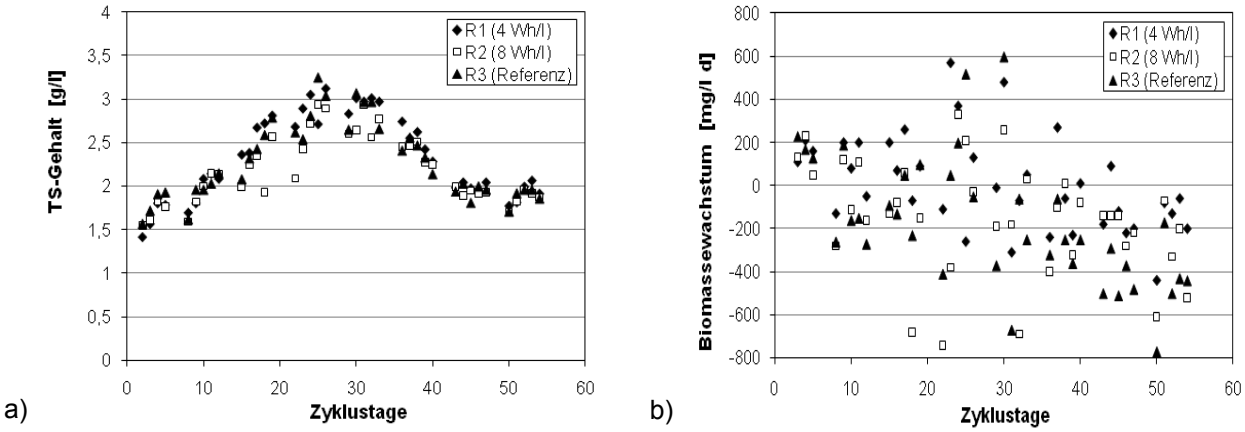
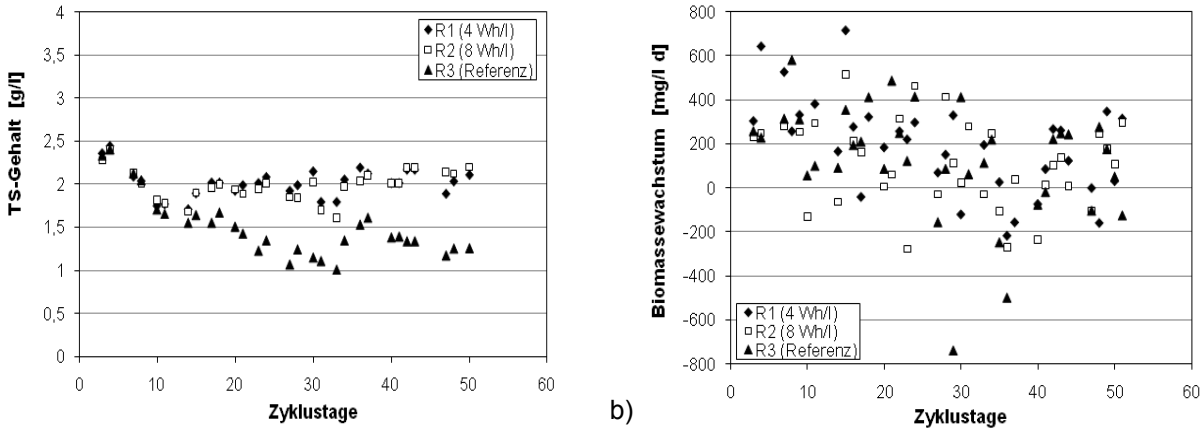


Abb. 12.6.1 Der TS-Gehalt und das Biomassewachstum während des dritten kontinuierlichen Einsatzes: a) TS-Gehalt, b) Biomassewachstum



a) b)

Abb. 12.6.2 Der TS-Gehalt und das Biomassewachstum während des vierten kontinuierlichen Einsatzes: a) TS-Gehalt, b) Biomassewachstum

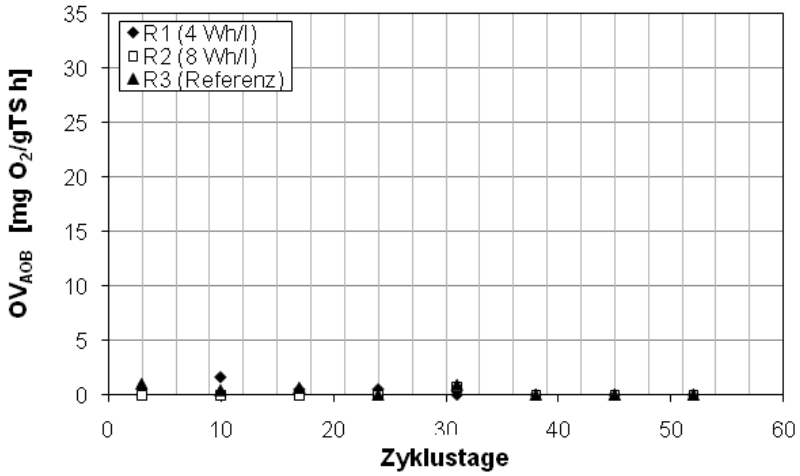


Abb. 12.6.3 Sauerstoffverbrauch von AOB während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

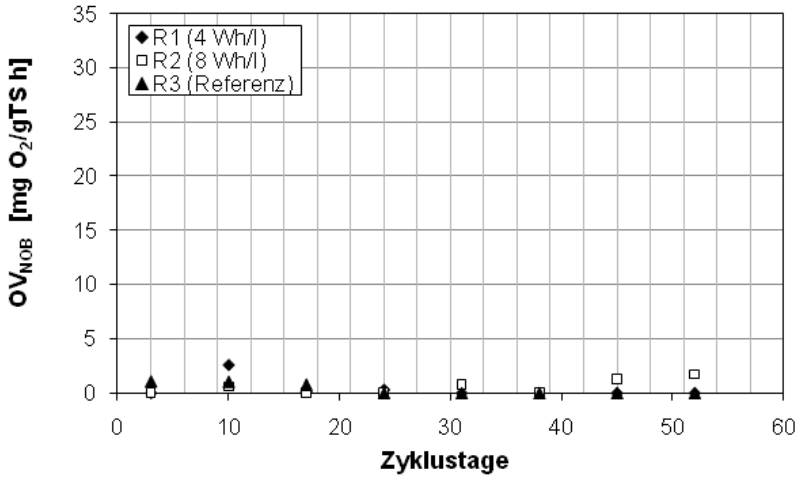


Abb. 12.6.4 Sauerstoffverbrauch von NOB während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

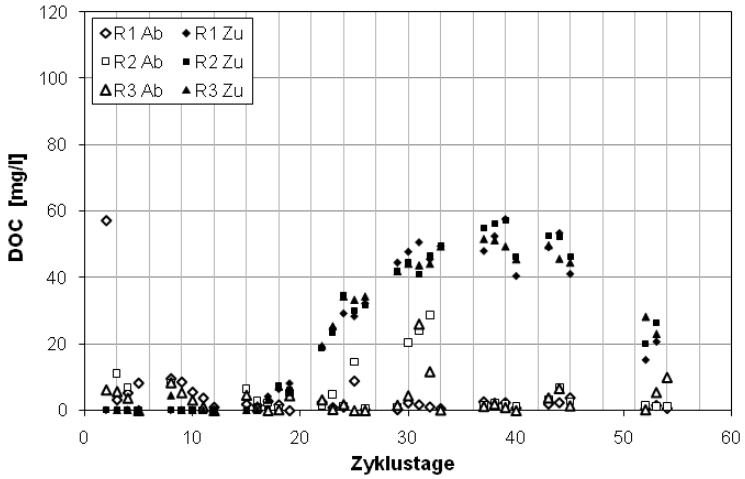


Abb. 12.6.5 DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

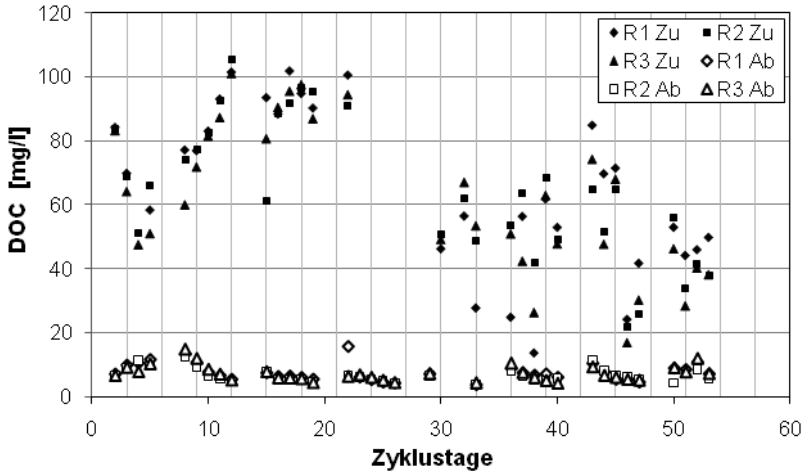


Abb. 12.6.6 DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

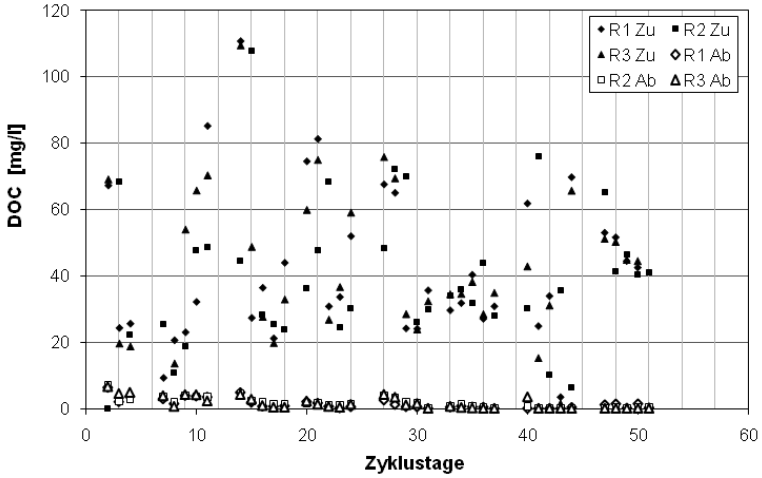


Abb. 12.6.7 DOC-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

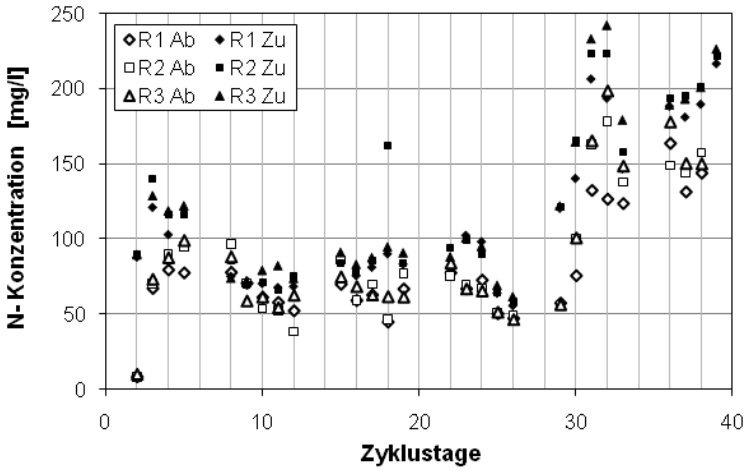


Abb. 12.6.8 N-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des ersten kontinuierlichen Einsatzes

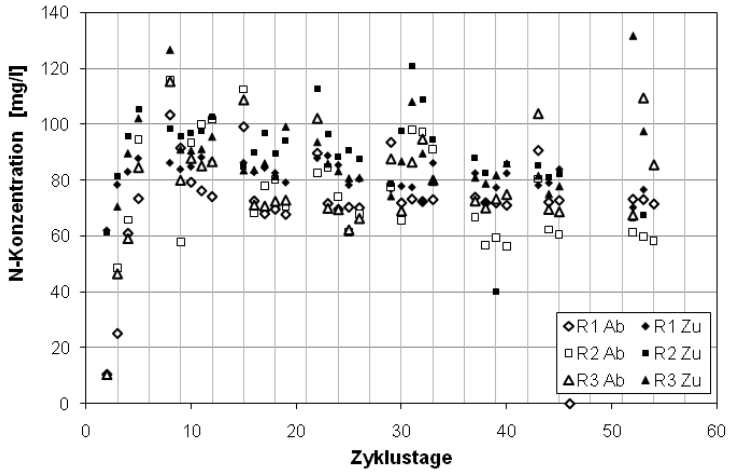


Abb. 12.6.9 N-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

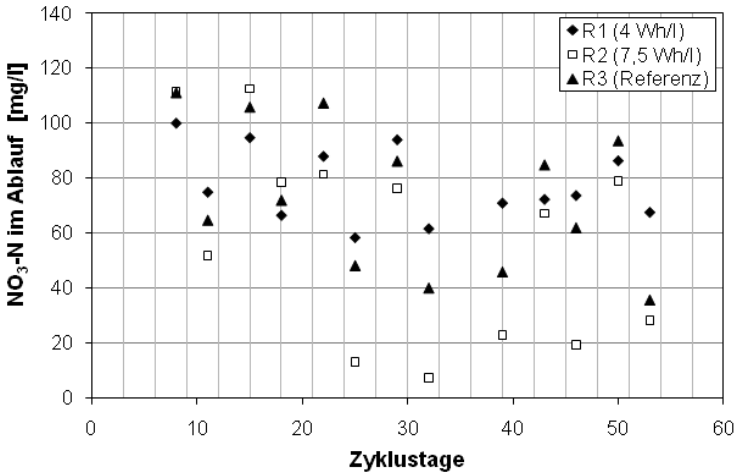


Abb. 12..6.10 NO_3-N- Konzentrationen im Ablauf während des zweiten kontinuierlichen Einsatzes

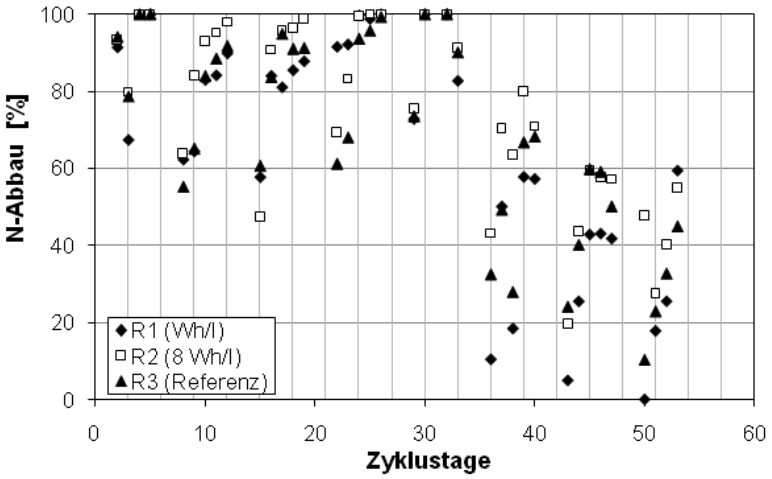


Abb. 12.6.11 N-Abbau während des dritten kontinuierlichen Einsatzes

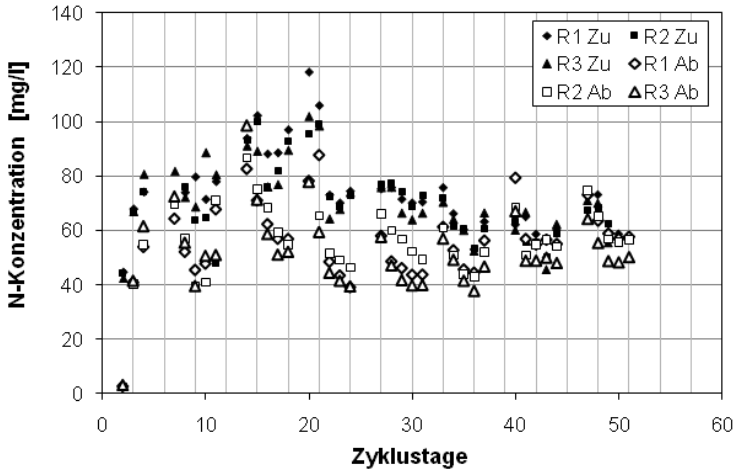


Abb. 12.6.12 N-Zu- und Ablaufkonzentrationen während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

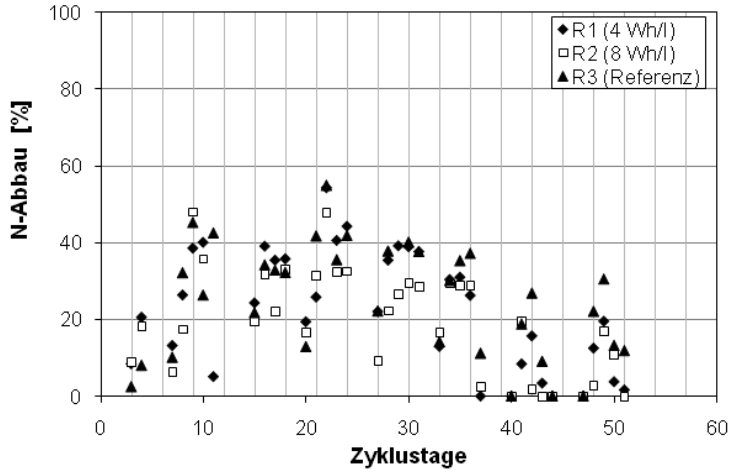


Abb. 12.6.13 N-Abbau während des vierten kontinuierlichen Einsatzes

DANKSAGUNG

Besonderen Dank möchte ich aussprechen

meinem Ehemann Raffael und meiner Familie für die unendliche Geduld und ihren Beistand während des gesamten Promotionsstudiums,

Herrn Prof. Uwe Neis für die Überlassung dieses innovativen Themas und wissenschaftliche Betreuung,

Herrn Prof. Rudolf Müller für die Übernahme des Co-Referats sowie Herrn Prof. Wilfried Schneider für den Vorsitz des Prüfungsausschusses,

Frau Dr. Eva Spieck und Herrn Dr. Bernd Bendinger für die freundliche und kompetente Begleitung während der gesamten Zeit,

allen Mitarbeitern des Arbeitsbereiches Abwasserwirtschaft, Wasserressourcen sowie der Elektronenmikroskopie der Technischen Universität Hamburg-Harburg für die freundschaftliche, kollegiale und effektive Zusammenarbeit,

Frau Elke Wölken aus dem Arbeitsbereich Elektronenmikroskopie der Universität Hamburg für die Unterstützung bei der Vorbereitung und Analyse zahlreicher Proben,

der Deutschen Bundesstiftung Umwelt und meiner Betreuerin Frau Dr. Schlegel-Starmann für die Förderung der Forschungsvorhaben (Aktenzeichen 20008/947).