

Dr. Christoph Zschocke
Dr. Stefan Trenz
Dipl.-Ing. Roland Berger
Angelika Wolf

Projektmanagement
Beratung zur mikrobiellen Degradation
Technische Beratung
Sekretariat



Freie Universität Berlin

Institut für Biologie -
Ökotoxikologie und Biochemie

Ehrenbergstrasse 26 – 28
14195 Berlin

Tel. 030 / 83 85 47 72
Fax 030 / 83 85 45 85

www.biologie.fu-berlin.de/agachazi
j.arens@oekotec.de

Prof. Dr. Rudolf K. Achazi
Dr. Johannes Arens

Projektleitung

Wissenschaftliche Leitung, ab 7/2001 Projektmanagement, ab 8/2002 Wechsel zur Ökotec

Dr. Jürgen Kronshage
Dipl.-Biol. Jens Baumgardt

Korrektur dieses Laborberichts

Diplomarbeit zur Charakterisierung der Mikroflora (Abschluss: 12/2000)

Francoise Treitz
Angelika Seyfarth

Sekretariat

Technische Assistentin, Chemische Analytik und Biotests

Heinz Posorski

Werkstatt, u. a. Bau von Festbettreaktoren

Sonstige MitarbeiterInnen:

Dipl.-Ing. Heiko Blum, TFH Berlin

Diplomarbeit zur verfahrenstechnischen Optimierung der Biostufe 2 (Abschluss: 6/2000)

Tülay Kaya, Lise-Meitner-Schule

Praktikantin, Analytik und Mikrobiologie

Danksagung

Unser Dank gilt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt, durch deren Förderung dieses Projekt ermöglicht wurde. Hervorzuheben ist Herr Dipl.-Ing. Franz-Peter Heidenreich, der das Vorhaben mit großem Engagement zu jeder Zeit mit Rat und Tat begleitet hat.

Wir danken insbesondere Frau Dipl.-Ing. Renate Rettig und Herrn Dipl.-Ing. Werner Brücklmeier von der technischen Geschäftsführung der Märkischen Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft (MEAB, Neu-Fahrland, Brandenburg) und Herrn Dipl.-Chemiker Joachim Frank, Projektsteuerer der Deponie Schöneiche, für die konstruktive Zusammenarbeit. Die Kooperation mit der MEAB umfasste zunächst anregende Gespräche zu den technischen und ökonomischen Aspekten des Verfahrens und die Bereitstellung von Deponiesickerwässern aus Schöneiche und Vorketzin. Daraus resultierte letztendlich ein Vertrag zur Realisierung eines Technikums am Standort Schöneiche unter finanzieller Beteiligung der MEAB.

Den Mitgliedern des Beirats danken wir für die wertvollen Hinweise in den vielen Einzelgesprächen sowie die wissenschaftliche Diskussion in den Beiratssitzungen.

Beirat

- Dipl.-Ing. Heidenreich Deutsche Bundesstiftung Umwelt
- Prof. Dr. Knackmuss Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik sowie Universität Stuttgart, Institut für Mikrobiologie
- Dipl.-Ing. Gnirss Berliner Wasserbetriebe, Forschung und Entwicklung
- Dipl.-Ing. Peter-Fröhlich Berliner Wasserbetriebe, Forschung und Entwicklung
- Dr. Butz Umweltbundesamt
- Prof. Dr. Dorau Umweltbundesamt, Institut für Wasser-, Boden-, Lufthygiene
- Prof.-Ing. Loroach Technische Fachhochschule Berlin, FB Verfahrenstechnik
- Dipl.-Ing. Blum Technische Fachhochschule Berlin, FB Verfahrenstechnik
- Dipl.-Ing. Brücklmeier Geschäftsführung der Märkische Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft mbH (MEAB)
- Dipl.-Ing. Rettig Geschäftsführung der Märkische Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft mbH (MEAB)
- Dr. Zschocke Ökotec - Institut für Angewandte Umweltforschung
- Dr. Trenz Ökotec - Institut für Angewandte Umweltforschung
- Prof. Dr. Achazi Freie Universität Berlin, Institut für Biochemie und Ökotoxikologie
- Dr. Arens Freie Universität Berlin, Institut für Biochemie und Ökotoxikologie
- Dipl.-Biol. Baumgardt Freie Universität Berlin, Institut für Biochemie und Ökotoxikologie

Inhalt

1	Einleitung	8
1.1	Zielsetzung	8
1.2	Deponiestandorte	8
1.3	Deponiesickerwasser	11
1.4	Reinigung von Sickerwasser aus Vorketzin	13
1.5	Reinigung von Sickerwasser aus Schöneiche	14
1.6	Mikrobieller Abbau in der Deponiesickerwasserreinigung	15
1.6.1	Heterotropher Abbau organischer Verbindungen durch Bakterien	18
1.6.2	Nitrifikation	19
1.6.3	Denitrifikation	21
1.6.4	Klassischer Stickstoffumsatz in der Abwasserreinigung	21
1.6.5	Nitratammonifikation	22
1.6.6	Deammonifikation	23
1.6.7	Anammox-Reaktion	24
1.6.8	Immobilisierung von Bakterien	25
1.6.9	Abbau refraktärer Sickerwasserinhaltsstoffe durch Weiß-, Rot- und Braunfäulepilze	26
2	Material und Methoden	31
2.1	Deponiesickerwasser	31
2.2	Animpfen der Laborkläranlage	31
2.3	Reaktortypen und -komponenten	31
2.3.1	Festbettreaktor	31
2.3.2	Wirbelschichtreaktor	32
2.3.3	Rühr- oder Suspensionsreaktor	33
2.3.4	Tropfkörperreaktor	34
2.3.5	Immobilisierungskörper zur Fixierung von Mikroorganismen	34
2.4	Filtrationssysteme für die Laborkläranlage	35
2.4.1	Mikrofiltration	35
2.4.2	Nanofiltration	36
2.5	Auslegung der Laborkläranlage zur Behandlung von Schöneicher Rohsickerwasser	41
2.5.1	Sickerwasservorlage	41
2.5.2	Ausgangskonfiguration der Biostufe 1 inklusive Filtration	41

2.5.3	Erster Umbau der Biostufe 1.....	42
2.5.4	Zweiter Umbau der Biostufe 1.....	43
2.5.5	Biostufe 2.....	44
2.6	Auslegung der Laborkläranlage zur Behandlung von Vorketziner Rohsickerwasser	46
2.7	Schwärzung des Rohsickerwassers in der Vorlage der Modellkläranlage	47
2.8	Nitrifizierende Bakterien im Rohsickerwasser.....	48
2.9	Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus der Laborkläranlage	48
2.9.1	Gewinnung von Reinkulturen aus der Laborkläranlage	49
2.9.2	Prüfung der Temperaturabhängigkeit.....	50
2.9.3	Morphologisches Bild.....	50
2.9.4	Lactophenolblau-Färbung.....	50
2.9.5	Gramfärbung	50
2.9.6	Methylenblau-Färbung.....	51
2.9.7	Sudanschwarz Färbung.....	52
2.9.8	Aminopeptidasetest	52
2.9.9	Oxidasetest.....	52
2.9.10	Selektionierung auf speziellen Nährböden.....	53
2.9.11	Biochemische Bakteriencharakterisierung	54
2.10	Untersuchung der Eigenfärbung des Deponiesickerwassers	58
2.10.1	Spektralanalyse des biologisch behandelten Deponiesickerwassers	58
2.11	Braun- und Weißfäulepilze zur weitergehenden Sickerwasserreinigung	58
2.11.1	Stämme.....	58
2.11.2	Dauer- und Stammkulturen.....	61
2.11.3	Modifizierte NF-Konzentrat-Medien.....	61
2.11.4	Spaltung des NF-Konzentrats mit Fentons Reagenz	62
2.11.5	Batchversuch 1: Untersuchung der Abbauleistung durch Weiß- und Braunfäulepilze.....	64
2.11.6	Batchversuch 2: Untersuchung der Abbauleistung durch Weiß- und Braunfäulepilze.....	64
2.12	Anorganische Parameter.....	65
2.12.1	Probenaufschluss für die Gesamtanalyse komplexgebundener Parameter.....	65
2.12.2	Eichlösungen für <i>Merck Spectroquant</i> [®]	65
2.12.3	Gesamt-Stickstoff (Analyse von Ammonium, Nitrit und Nitrat).....	66
2.12.4	Gesamt-Phosphor.....	68
2.12.5	Cyanid, leicht freisetzbar.....	69
2.12.6	Gelöstes Sulfid	70
2.12.7	Chlorid.....	71
2.12.8	Nickel.....	72
2.12.9	Zink.....	73
2.12.10	Arsen.....	73
2.12.11	Kupfer.....	74
2.12.12	Blei	74
2.12.13	Chrom.....	75
2.12.14	Cadmium	75

2.13 Analyse des biologischen Abbaus über Summenparameter.....	76
2.13.1 CSB - Chemischer Sauerstoffbedarf.....	77
2.13.2 TOC - Gesamter organischer Kohlenstoff.....	77
2.13.3 BSB _n – Biochemischer Sauerstoffbedarf nach n Tagen.....	79
2.13.4 AOX - an Aktivkohle adsorbierende organische Halogene.....	81
2.14 Ökotoxikologische Untersuchungen.....	82
2.14.1 Leuchtbakterien-Hemmtest.....	83
2.14.2 Protozoen-Toxkit.....	84
2.15 Monitoring der Mikroflora in den Bioreaktoren	85
3 Ergebnisse und Diskussion	87
3.1 Schwärzung des Deponiesickerwassers	87
3.2 Behandlung von Sickerwasser der Deponie Vorketzin.....	89
3.3 Behandlung von Sickerwasser der Deponie Schöneiche.....	97
3.3.1 Biostufe 1: Ausgangskonfiguration und erster Umbau.....	97
3.3.2 Anlagenablauf: Ausgangskonfiguration und erster Umbau.....	106
3.3.3 Biostufe 1: Neukonfiguration zur weiteren Verbesserung des Stickstoffumsatzes.....	108
3.3.4 Anlagenablauf nach Neukonfiguration der Biostufe 1.....	112
3.3.5 Isolierung und Charakterisierung von aerob kultivierbaren Mikroorganismen in der Laborkläranlage.....	117
3.3.6 Biostufe 2 (Bakterieller Abbau)	122
3.4 Eigenfärbung des behandelten Deponiesickerwassers.....	123
3.4.1 Huminstoffe	126
3.4.2 Niedermolekulare Verbindungen.....	127
3.4.3 Absorptionsspektren des Deponiesickerwassers nach der Behandlung in Biostufe 1.....	129
3.5 Chemische Degradation des NF-Konzentrats mit Fentons Reagenz	130
3.6 Vorversuche mit Weiß- und Braunfäulepilzen zur weitergehenden Deponiesickerwasserreinigung	133
3.6.1 Versuch 1: Batchkulturen mit angereichertem Sickerwassermedium	133
3.6.2 Versuch 2: Batchkulturen mit K1-Medium	135
3.7 Einsatz von Pilzreaktoren als zweite Biostufe	136
4 Fazit und Ausblick	138
4.1 Laborbetrieb zur Deponiesickerwasserreinigung	138
4.2 Pilotbetrieb auf der Deponie Schöneiche.....	139
5 Zusammenfassung	142

1 Einleitung

Da Deponiesickerwasser nach dem Stand der Technik unter Berücksichtigung der im Abwasser enthaltenen Schadstoffe gereinigt werden muss, ist es von Interesse, effiziente Reinigungsverfahren zu entwickeln, die neben einem guten Preis-Leistungsverhältnis eine spürbare Entlastung der Umwelt bewirken. Erst nach Ausschöpfung des Reinigungsvermögens aller biologischer Prozesse sollte auf teurere physikalisch-chemische Verfahren zurückgegriffen werden.

1.1 Zielsetzung

In der ersten Projektphase wird in Laborkläranlagen untersucht, ob die refraktären¹ Verbindungen aus Deponiesickerwasser durch zwei über Membransysteme gekoppelte biologische Stufen abgebaut werden können. Bisher werden biologische Reinigungsverfahren nur zu Vor-, aber nicht zur Nachbehandlung von Sickerwasser eingesetzt. In der zweiten Phase werden die im Labor gewonnenen Erkenntnisse auf die Entwicklung einer Pilotanlage angewendet.

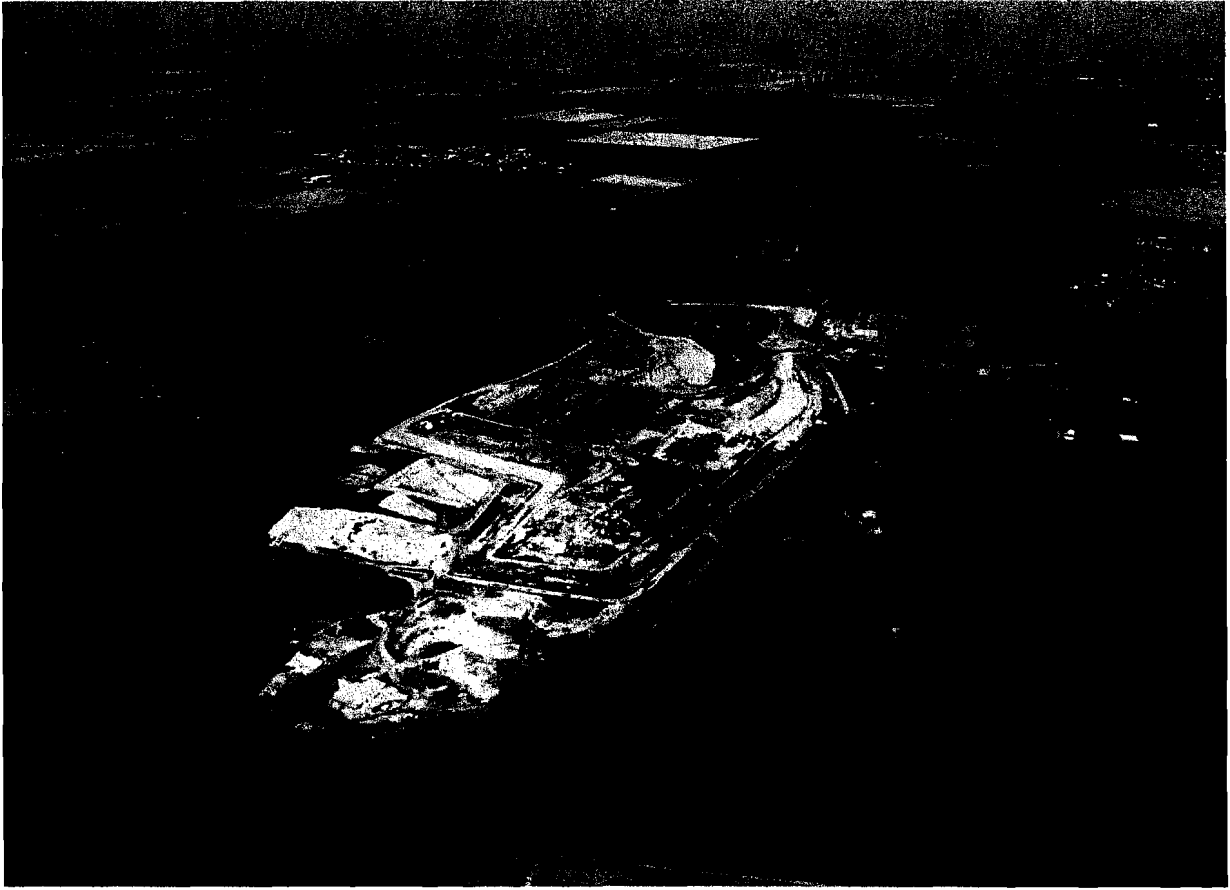
1.2 Deponiestandorte

Betreiber der Brandenburger Deponiestandorte Vorketzin und Schöneiche ist die Märkische Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft (MEAB, Neu-Fahrland, Brandenburg).

Der Standort **Vorketzin** liegt nordwestlich von Potsdam an der Havel und wird seit 1975 als Haldendeponie auf einer Gesamtfläche von 134 ha betrieben. Auf dem Gelände wurde schon seit der Jahrhundertwende Abfälle aus Berlin und Umland abgelagert. Die Restkapazität beträgt 9 Millionen m³. Die geologische Situation erfordert den Bau von Dichtwänden, um ein Entweichen der Oberflächen und Sickerwässer in die umliegenden Gewässer zu vermeiden. Nach Beendigung der Abdichtungsmaßnahmen soll eine Sickerwasserreinigungsanlage errichtet werden.

Die Deponie **Schöneiche**, südlich von Königs-Wusterhausen (Brandenburg), ist seit 1977 in Betrieb. Seit 1996 wurde eine Fläche von 11 ha der Deponie Schöneiche abgedichtet. Die Fläche ist auf 19 ha erweiterbar. Die Basisabdichtung besteht aus einer Kunststoffdichtungsbahn und drei Tonschichten. In der darüber liegenden Kieseldränage sammelt sich das Sickerwasser und wird zu einer Behandlungsanlage (Umkehrosmose, Eindampfung, Trocknung, Strippung, katalytische Oxidation) weitergeleitet. Die Sickerwasserreinigungsanlage wird seit 1997 betrieben.

¹ refraktär: widerspenstig, hier: biologisch nicht oder schwer abbaubar

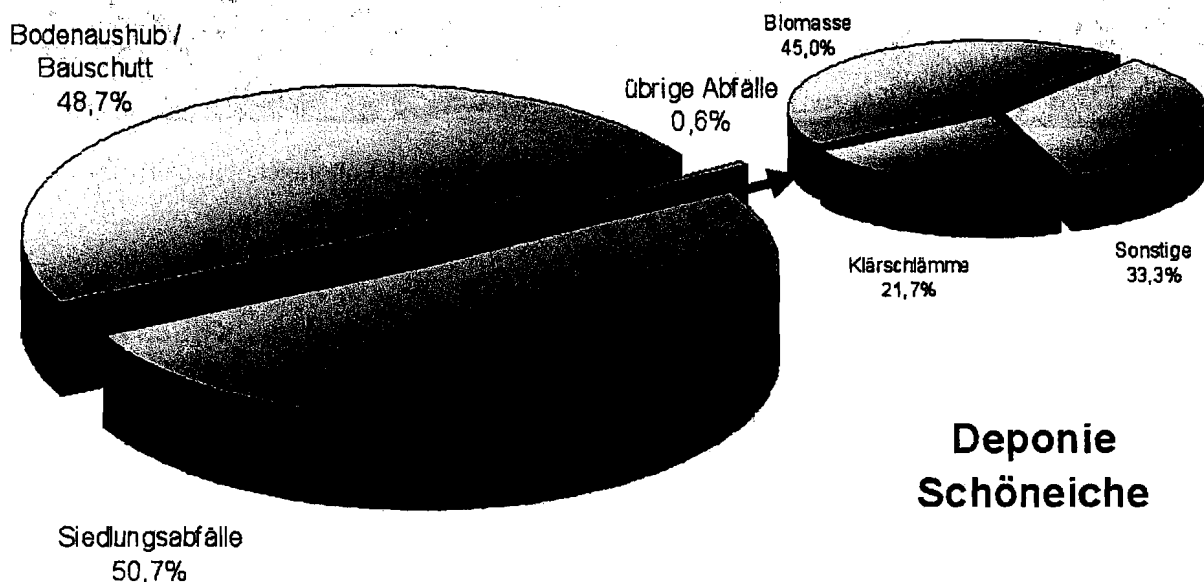


Abbildungen 1 und 2: Die MEAB-Deponien Vorketzin (oben) und Schöneiche (unten). Die Bilder wurden freundlicherweise von Frau Rettig (MEAB) zur Verfügung gestellt.



Tabelle 1: Abfallarten nach dem Europäischen Abfallkatalog², die auf den Siedlungsabfalldeponien Vorketzin und Schöneiche gelagert werden dürfen.³

EAK-Schlüssel	Vorketzin und Schöneiche
110104	cyanidfreie Abfälle, die kein Chrom enthalten
120112	verbrauchte Wachse und Fette
170199D1	Beton, Ziegel, Keramik und Baustoffe auf Gipsbasis oder Asbestbasis mit schädlichen Verunreinigungen
170699D1	anderes Isoliermaterial mit schädlichen Verunreinigungen
200112	Farben, Druckfarben, Klebstoffe und Kunstharze
EAK-Schlüssel	nur Schöneiche
170299D1	Holz, Glas und Kunststoff mit schädlichen Verunreinigungen
170599D1	Bodenaushub, Baggergut sowie Abfälle aus Bodenbehandlungsanlagen mit schädlichen Verunreinigungen
170601	Isoliermaterial, das freies Asbest enthält
190199D2	Schlacke aus der Sonderabfallverbrennung



Deponie Schöneiche

Abbildung 3: Ungefähre prozentuale Anteile der in Schöneiche eingelagerten Abfälle (nach Frank⁴).

Nach Frank⁴ bilden neben Siedlungsabfällen (50,7 %) Bodenaushub und Bauschutt (zusammen 48,7 %) den Hauptanteil der in Schöneiche eingelagerten Abfälle, während die ü-

² Deutsche Bundesregierung: Verordnung zur Einführung des Europäischen Abfallkatalogs (EAK-Verordnung - EAKV) vom 13. September 1996, Abfallverzeichnis gemäß Artikel 1 a der Richtlinie 75/442/EWG des Rates über Abfälle (ABl. EG vom 7. Januar 1994, Nr. L 5 S. 15), BGBl. I S. 1428, 1996

³ Ministerium für Landwirtschaft, Umweltschutz und Raumordnung des Landes Brandenburg: Luis-BB Landwirtschaft- und Umweltinformationssystem, www.brandenburg.de/land/mlur (Stand 17.07.2001)

⁴ Frank; J.: Projektsteuerer der Deponie Schöneiche, persönliche Mitteilung, November 2000

rigen Reststoffe, darunter auch Klärschlämme und andere Bioabfälle, mit 0,6 % nur Bruchteile des Deponieguts ausmachen (vgl. Abbildung oben).

1.3 Deponiesickerwasser

Bei Sickerwasser handelt es sich überwiegend um Niederschlagswasser, das den Deponiekörper durchwandert und sich dabei mit Schadstoffen anreichert, bevor es ihn wieder verlässt (ENTSORGA Köln 1998). Abhängig von der Niederschlagsmenge, der Verdunstungsrate und der Beschaffenheit des Deponiekörpers fällt etwa 5 - 7,5 m³ / ha * d Sickerwasser bei einer durchschnittlichen Jahresniederschlagshöhe von 750 mm an. Bei der Anlagenbemessung ist zu berücksichtigen, dass in regenreichen Zeiten die Jahresmittelwerte kurzzeitig um den Faktor 3 bis 5 überschritten werden.⁵

Die Konzentration und der Anteil der Sickerwasserinhaltsstoffe hängt von der Art der gelagerten Abfälle, dem Alter der Deponie sowie der Einbautechnik ab. Der wesentliche Anteil im Sickerwasser entfällt auf die organische Fracht. Daneben spielt Stickstoff in Form von Ammonium (NH₄⁺) neben den salzbildenden Komponenten HCO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, Na⁺ und K⁺ eine wesentliche Rolle.⁶

Zwei Drittel des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC⁷) im Sickerwasser dreier Hausmülldeponien in Niedersachsen sind nach Harms et al.⁸ Huminstoffe. Insgesamt fanden sich 256 Einzelsubstanzen im Rohsickerwasser. An identifizierten Einzelverbindungen wurden hauptsächlich Carbonsäuren gefunden, deren Anteil aber unter 1 % des Gesamt-DOC blieb.

Bis zu 5 Jahre nach Beginn der Deponierung ist aufgrund der anaeroben Gärung die Belastung des Sickerwassers durch organische Säuren sehr hoch. Saure pH-Werte sorgen für eine hohe Löslichkeit von Metallen wie Cadmium, Chrom, Eisen, Kupfer, Nickel und Zink (Rettenberger⁹). Das Sickerwasser enthält in dieser sauren Phase hohe CSB- und BSB₅-Werte.

Die starke Abbaukinetik von Sickerwasser der sauren Phase führt in den Sommermonaten zu Temperaturen über 40 °C in klassischen Belebungsbecken. Diese müssen daher offen gehalten werden. In der Methanphase sind die Becken dagegen abzudecken. Bei einer durchschnittlichen Sickerwassermenge von etwa 5 – 7,5 m³ / ha * d gelangen nur geringe

⁵ Rettenberger, G., Schneider, R.: Überblick über die Anforderungen und den Stand der Sickerwasserreinigungstechnik, in: Rettenberger (Hrsg.): Wirtschaftliche Sickerwasserreinigung, Trierer Berichte zur Abfallwirtschaft Band 10, S. 9 f., Economica Verlag, Bonn 1997

⁶ Dahm, W., Kollbach, S., Gebel, J.: Sickerwasserreinigung, S. 58, EF-Verlag für Energie- und Umwelttechnik GmbH, Berlin 1994

⁷ DOC = dissolved organic carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)

⁸ Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

⁹ Rettenberger, G., Schneider, R.: Überblick über die Anforderungen und den Stand der Sickerwasserreinigungstechnik, in: Rettenberger (Hrsg.): Wirtschaftliche Sickerwasserreinigung, Trierer Berichte zur Abfallwirtschaft Band 10, S. 11., Economica Verlag, Bonn 1997

Mengen erwärmten neuen Sickerwassers in das große Volumen des Belebungsbeckens. Dies führt zu einer starken Auskühlung im Winter (Cord-Landwehr, Holweg¹⁰)

Nach Erreichen der Methanphase (nach 5 bis 7 Jahren) werden die Inhaltsstoffe des Sickerwassers überwiegend zu Methan und Kohlendioxid und zum Teil zu Ammoniak und Schwefelwasserstoff umgesetzt. Die anaerob schwer abbaubaren Verbindungen bleiben als CSB-Fracht im Sickerwasser erhalten. Das Sickerwasser ist zudem durch hohe Ammoniumkonzentrationen belastet.

Die Deponien Schöneiche und Vorketzin befinden sich beide in der Methanphase.

Nach 1993 gebaute Deponien müssen u. U. eigene Kläranlagen unter Einhaltung der Anforderungen des Wasserhaushaltsgesetzes (WHG)¹¹ und ergänzend der landesgesetzlichen Regelungen betreiben. Altanlagen müssen nachgerüstet werden, wenn sie entsprechend der Technischen Anleitung Siedlungsabfall (TASi)¹² weiterbetrieben werden sollen. Ziel ist die möglichst vollständige Erfassung, Kontrolle und Behandlung des Sickerwassers. Die Nachrüstung wird durch „nachträgliche Anordnungen“ der zuständigen Behörden nach § 9a Abfallgesetz¹³ veranlasst. Nach dem Kreislauf-Wirtschaftsgesetz¹⁴ müssen bei der Sickerwasserbehandlung anfallende Reststoffe deponiert werden.

Nach der TASi ist „die Sickerwasserbehandlungsanlage als Abwasseranlage unter Berücksichtigung der Benutzungsbedingungen und Auflagen für das Einleiten und Indirekteinleiten von Abwasser nach den hierfür jeweils in Betracht kommenden Regeln der Technik zu errichten und zu betreiben. Gefasstes Deponiesickerwasser und Rückstände aus der Sickerwasserreinigung dürfen nicht in den Deponiekörper zurückgeführt werden. Die Ableitung des Abwassers unter dem Ablagerungsbereich hindurch (Verdolung) ist unzulässig.“ Zum 21.03.2001 trat zur Novellierung der TASi die „Verordnung über die umweltverträgliche Ablagerung von Siedlungsabfällen und über biologische Abfallbehandlungsanlagen“ in Kraft.¹⁵

Die Anforderungen an das Einleiten von Abwasser nach § 7a des WHG sind in der Abwasserverordnung (AbwV)¹⁶ präzisiert. Nach Anhang 51 „Oberirdische Ablagerungen von Abfä-

¹⁰ Cord-Landwehr, K., Holweg, P.: Behandlung von Deponiesickerwässern – Teil 1, Betriebs-Info 2/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

¹¹ Deutscher Bundestag: Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts (Wasserhaushaltsgesetz - WHG) in der Fassung vom 12. November 1996 (6. Novelle), BGBl. I S. 1695, S. 832, 1998

¹² Deutsche Bundesregierung: Dritte Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Abfallgesetz - Technische Anleitung zur Verwertung, Behandlung und sonstigen Entsorgung von Siedlungsabfällen (TA Siedlungsabfall) vom 14. Mai 1993, BAnz. S. 4967 und Beilage

¹³ Deutscher Bundestag: Abfallgesetz (AbfG) vom 27. August 1986, BGBl. I S. 2771; ...; I S. 1354, BGBl. III 2129-15, 1996

¹⁴ Deutscher Bundestag: Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetz - Gesetz zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen (KrW-/AbfG) vom 27. September 1994, BGBl. I, S. 2705, 1994, Ergänzungen S. 1354; 1996, Ergänzungen S. 509, 1485, 2455, 1998

¹⁵ Deutsche Bundesregierung: Verordnung über die umweltverträgliche Ablagerung von Siedlungsabfällen und über biologische Abfallbehandlungsanlagen vom 20. Februar 2001, BGBl. I S. 305, 2001

¹⁶ Deutsche Bundesregierung: Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung – AbwV), Fassung vom 9.2. 1999, BGBl. I S. 86, 1999

len“ sind die Grenzwerte für die zulässigen Schadstoffemissionen von Deponiesickerwasser festgelegt. Diese sind in der folgenden Tabelle zusammenfassend dargestellt:

Tabelle 2: Grenzwerte nach Anhang 51 „Oberirdische Ablagerungen von Abfällen“ der Abwasserverordnung enthalten.

Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) ¹	Zulauf: < 4000 mg/l	200 mg/l
	Zulauf: > 4000 mg/l	5 %
Biochemischer Sauerstoffbedarf in 5 Tagen (BSB ₅)		20 mg/l
Stickstoff gesamt, Summe aus NH ₄ ⁻ , NO ₂ ⁻ und NO ₃ -N		70 mg/l
Phosphor, gesamt		3 mg/l
Kohlenwasserstoffe (gilt nicht für Siedlungsabfälle)		10 mg/l
Nitrit-Stickstoff		2 mg/l
Fischgiftigkeit (Verdünnungsfaktor)		G _F = 2
Adsorbierbare organisch gebundene Halogene (AOX)		0,5 mg/l
Quecksilber		0,05 mg/l
Cadmium		0,1 mg/l
Chrom		0,5 mg/l
Chrom (VI) ¹		0,1 mg/l
Nickel		1,0 mg/l
Blei		0,5 mg/l
Kupfer		0,5 mg/l
Zink		2,0 mg/l
Arsen		0,1 mg/l
Cyanid, leicht freisetzbar		0,2 mg/l
Sulfid		1,0 mg/l

Die MEAB stellt für die Laborversuche stark belastetes Sickerwasser aus den Siedlungsabfalldeponie Schöneiche und schwach belastetes Sickerwasser aus der Deponie Vorketzin zur Verfügung.

1.4 Reinigung von Sickerwasser aus Vorketzin

Zur Behandlung des schwach belasteten Sickerwassers aus Vorketzin wird ein vereinfachtes Reinigungsverfahren vorgeschlagen.

In Laborversuchen soll getestet werden, ob durch eine biologische Behandlung des Sickerwassers in Kombination mit einer Kreislaufführung des Konzentratstroms (Retentat) aus einer Nanofiltrationsanlage befriedigende Reinigungsergebnisse erzielt werden können. Nur das Permeat der Nanofiltration wird eingeleitet.

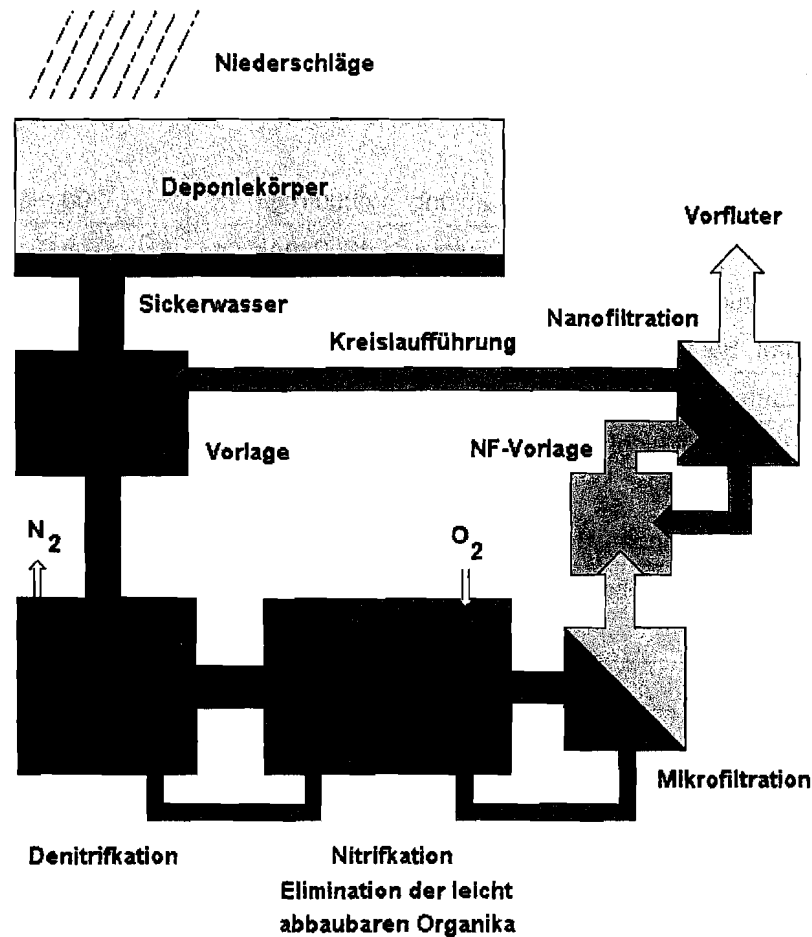


Abbildung 4: Behandlung von Sickerwasser aus Vorketzin

1.5 Reinigung von Sickerwasser aus Schöneiche

Das Schöneicher Sickerwasser passiert eine erste biologische Reinigungsstufe, die leicht abbaubare organische Verbindungen degradiert und Stickstoff weitestgehend eliminiert. Nach Mikro- und Nanofiltration wird das Sickerwasser zu einer zweiten biologischen Stufe geleitet. Hier werden die Mikroorganismen gezwungen, die in der ersten Stufe nicht eliminierten organischen Stoffe als ausschließliche Nährstoffquellen zu reduzieren.

Der überwiegende Teil des Sickerwassers (70 – 90 %) kann als Permeat der Nanofiltration direkt in den Vorfluter geleitet werden. Nur ein aufkonzentrierter Teilstrom (10 - 30 % des Gesamtvolumens) muss in der zweiten Stufe nachbehandelt werden. Das verminderte Abwasservolumen führt zu einer erheblichen Kostenreduzierung bei der Auslegung der zweiten Stufe.

Zur Optimierung des Wirkungsgrades der zweiten Stufe werden die Reaktortypen

- Suspensionsreaktor mit zusätzlichen, in Boxen fixierten Biofilmmträgern,
- Wirbelschichtreaktor mit freischwimmenden Immobilisierungskörpern
- und Festbettreaktor getestet:

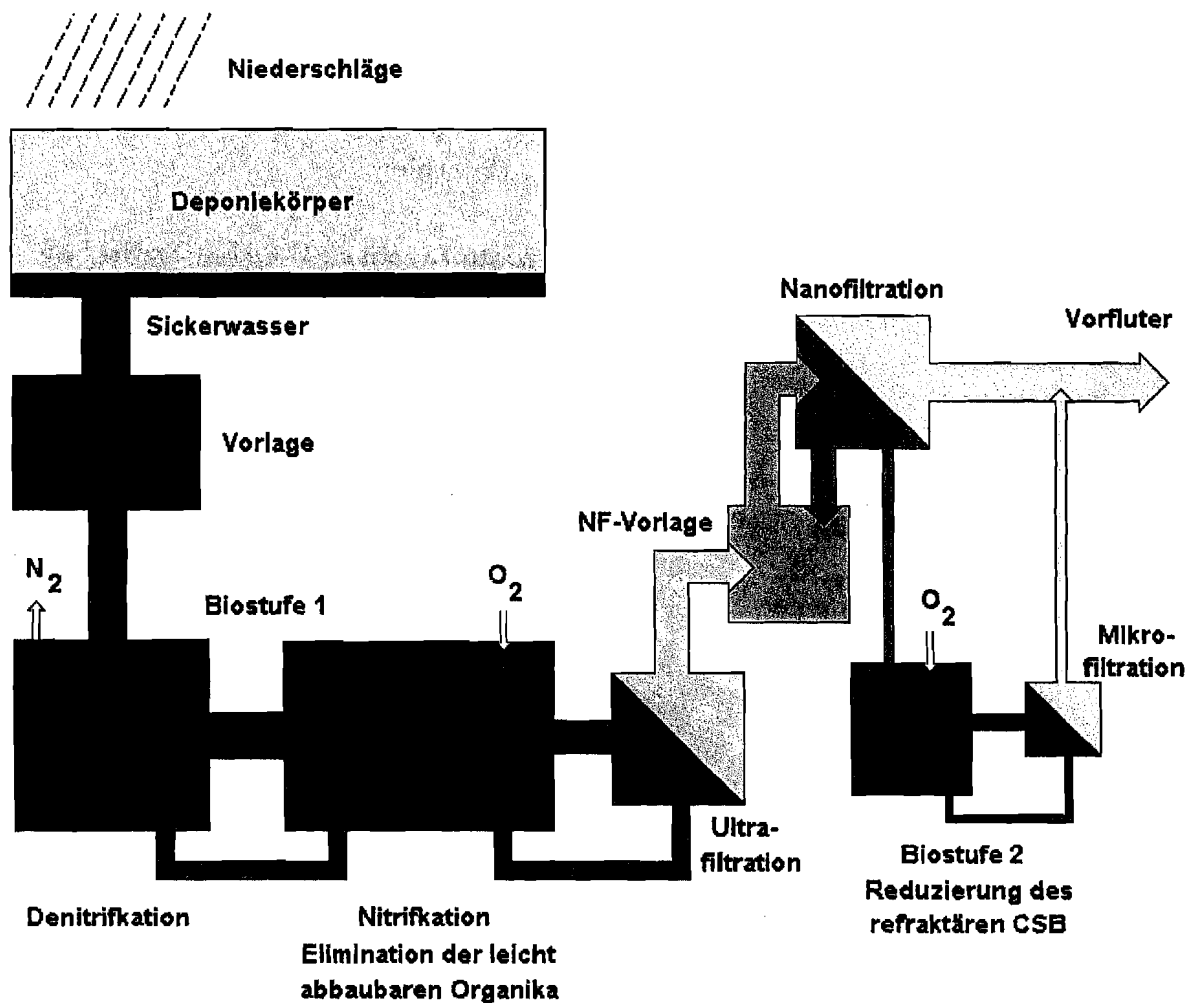


Abbildung 5: Verfahrensschema zur Reinigung von stark belastetem Sickerwasser am Beispiel der MEAB-Deponie Schöneiche. Zwei biologische Stufen sind über Ultra- und Nanofiltration miteinander gekoppelt. In der zweiten Stufe werden unterschiedliche Reaktortypen getestet und optimiert.

1.6 Mikrobieller Abbau in der Deponiesickerwasserreinigung

Das Deponiesickerwasser soll durch mikrobielle Stoffwechselreaktionen gereinigt werden.

„In der biologischen Abwasserreinigung werden organische und anorganische Schadstoffe durch den Stoffwechsel ausgewählter Mikroorganismen mineralisiert. Die Präsenz der Schadstoffe ist für die Vermehrung dieser Lebewesen eine notwendige (obligate) Voraussetzung. Die Stoffwechselarten der aerob-anoxischen biologischen Abwasserreinigung sind qualitativ in Abb.... dargestellt.“ (siehe nächste Seite)¹⁷

¹⁷

Dahm, W., Kollbach, S., Gebel, J.: Sickerwasserreinigung, S. 126f., EF-Verlag für Energie- und Umwelttechnik GmbH, Berlin 1994

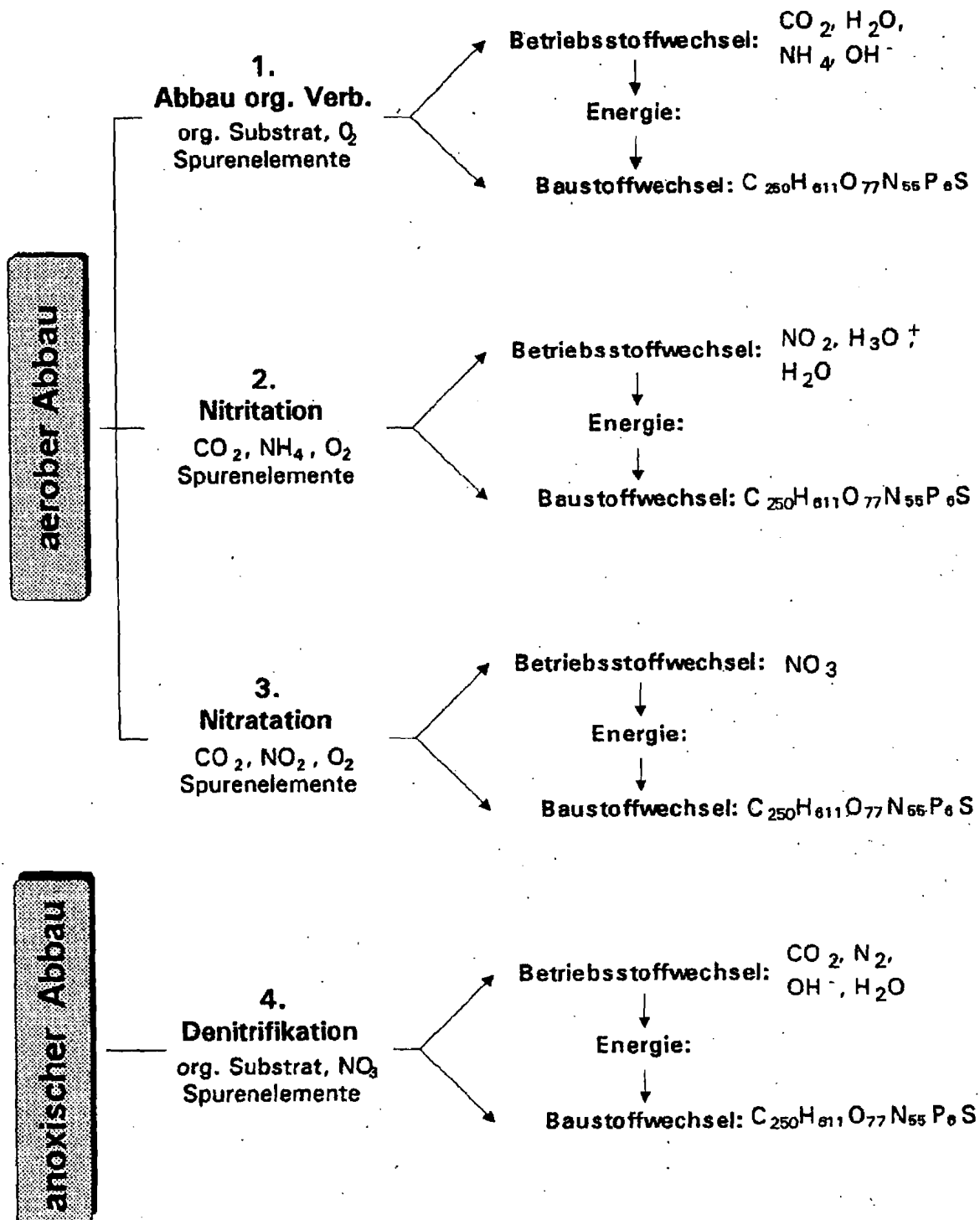


Abbildung 6: Quantitative Stoffwechselmodelle der aerob-anoxischen Abwasserreinigung (Enviro Consult).

Aufgrund der Komplexität und Variabilität der Inhaltsstoffe des Deponiesickerwassers bieten Mischkulturen von adaptierten Mikroorganismen die einzige Möglichkeit, einen effizienten Abbau auch bei schwankenden organischen Frachten zu gewährleisten.

Für das hier vorgeschlagene Konzept zur weitergehenden biologischen Sickerwasserreinigung wird kommunaler Belebtschlamm nach und nach auf das Sickerwasser konditioniert und durch autochthone (hier: im Sickerwasser enthaltene) Spezialisten und Opportunisten ergänzt.

In Untersuchungen von Kappesser und Kutzner¹⁸ zum Abbau von industriellem Abwasser wurde die Reinigungsleistung von kommerziellen Bakterienpräparaten, die zum Belebtschlamm zugegeben wurden, mit „regulärem“ Belebtschlamm verglichen. In beiden Laborkläranlagen entwickelten sich unabhängig von einer Beimpfung sehr ähnliche Bakterienpopulationen mit vergleichbaren Abbauleistungen. Der unbehandelte Belebtschlamm adaptierte sich an das Abwasser, und die zudosierten Belebtschlammpräparate konnten sich nicht ausreichend etablieren. Die kommerziellen Präparate waren wahrscheinlich deshalb ungeeignet, weil sie aus Standorten mit anderen Umweltbedingungen isoliert und direkt dem Belebtschlamm zudosiert wurden. Wenn Spezialkulturen eingesetzt werden, müssen diese am Standort isoliert und im Seitenstrom langsam adaptiert werden.

Mit Abwasser aus einer Emulsionsspaltanlage konnten die Autoren¹⁹ zeigen, dass sich nach einer Adaptionsphase in der biologischen Vorbehandlung ähnliche Bakterienpopulationen etablieren, wie sie auch von Kappesser und Kutzner charakterisiert wurden. In der Stufe zur weitergehenden Abwasserreinigung isolierten die Autoren dann nur noch Bakterien, die, entsprechend der refraktären Restfracht, für den Abbau von Erdöl bekannt sind.²⁰

Biologische Umweltschutztechniken beruhen nach Kunz²¹ auf Wachstumsprozessen. „Das Wachstum ist aber gekoppelt an die Verfügbarkeit essentieller Stoffe. Fehlen diese für einige Spezies, werden diese Mikroorganismen von anderen mit einem anderen Stoffspektrum überwuchert, gleichgültig, ob es sich bei einer vorhandenen Kohlenstoffquelle um ein ideales Substrat für gerade diese Spezies handelt. Will man also spezielle Mikroorganismen von außen in einem technischen System etablieren, muss man entweder die für diesen Organismus wachstumsrelevanten Substanzen in die Anlage geben (...Alginate ... oder ... technische Nährböden...) oder aber die speziellen Mikroorganismen in diesem technischen System direkt oder separat davon, dann aber mit der entsprechenden wässrigen Phase, kultivieren.“ Des Weiteren fragt Kunz: „Welche Art von Mikroorganismen soll eigentlich in einem System etabliert werden, wenn ein Hemmstoff das System außer Funktion gesetzt hat? Es können wohl kaum die Spezialisten für den Abbau der Stoßbelastung sein. Aber gerade diese werden immer wieder eingesetzt! Vielmehr wird aber doch die standorteigene (autochthone) Population benötigt, um schnell wieder normale CSB/BSB₅-Ablaufwerte zu erhalten.“

Da es nach Gebhardt²² „in den meisten Fällen darum gehen dürfte, die autochthone Lebensgemeinschaft zu fördern oder wieder aufzubauen, wird man zukünftig auf die Fermentation von standorteigenen Organismen im Seitenstrom zurückgreifen, weil dadurch an das spezielle Abwasser bereits angepasste Organismen selektiert werden können. Bei stofflich stark belasteten Systemen dürfte der Einsatz von speziellen Mikroorganismen, die als Starterkulturen den Abbau einleiten, sinnvoll sein.“

¹⁸ Kappesser, S., Kutzner, H.J.: Anwendung einer mikrobiellen Spezialkultur für die aerobe Abwasserreinigung in Laborkläranlagen, gwf Wasser / Abwasser 4, S. 258 - 259, 1991

¹⁹ Arens, J., Zschocke, C.: Verringerung des refraktären CSB-Wertes in der betrieblichen Abwasserreinigung, Abschlußbericht des DBU-Projekts 10539, S. 52 – 62, 1999

²⁰ Komukai Nakamura, S., Sugiura, K., Yamauchi Inomata, Y., Toki, H., Venkateswaran, K., Yamamoto, S., Tanaka, H., Harayama, S.: Construction of bacterial consortia that degrade Arabian light crude oil, Journal of Fermentation & Bioengineering 82(6), S. 570 - 574, 1996

²¹ Kunz, P.: Umwelt - Bioverfahrenstechnik, S. 69, Vieweg Verlag, Braunschweig - Wiesbaden 1992

²² Gebhardt, W.: Gezüchtete Mikroorganismen in Abwasserreinigungsanlagen - kritisch betrachtet, Korrespondenz Abwasser 5, S. 698 - 701, 1994

1.6.1 Heterotropher Abbau organischer Verbindungen durch Bakterien

Nach Passieren des Deponiekörpers, den man mit einem anaeroben Reaktor vergleichen kann, bleiben bei einer Deponie in der Methanphase die anaerob schwer abbaubaren Verbindungen als CSB-Fracht im Sickerwasser erhalten. Ein weitergehender anaerober Abbau der organischen Stoffe ist daher nicht Erfolg versprechend.

Abwässer mit komplexen Stoffgemischen sind im wesentlichen durch aerobe Bakterien mikrobiell degradierbar.²³ Die aeroben Bakterien gewinnen Zellkohlenstoff überwiegend aus organischem Substrat (heterotropher Stoffwechsel). Die Produkte des Betriebsstoffwechsels sind neben Kohlendioxid und Wasser auch Ammonium und Hydroxidionen, die bei der Ammonifikation organischer Stickstoffverbindungen entstehen.

Der aerobe Abbau ist durch zwei Prozesse charakterisiert, in denen molekularer Sauerstoff involviert ist: Der Energiegewinnung durch den Elektronentransfer von organischen Substanzen zu Sauerstoff und der Einführung von Sauerstoff in organische Substrate unter deren Aktivierung für den weiteren Metabolismus. Letzterer Prozess ist in Hinsicht auf die Degradation von Xenobiotika oder schwer abbaubaren Substanzen entscheidend (Leisinger und Brunner²⁴).

Alkane sind beispielsweise durch den terminalen Einbau von Sauerstoff mit Hilfe einer Monooxygenase biologisch abbaubar. Die Degradation von aliphatischen Kohlenwasserstoffen ist von einer ganzen Reihe verschiedener, aerober Bakterien bekannt. Auch halogenierte Kohlenwasserstoffe können durch aerobe Bakterien abgebaut werden. So konnte Stucki²⁵ zeigen, dass der am meisten produzierte CKW 1,2-Dichlorethan, ein Zwischenprodukt der PVC-Herstellung, von noch nicht klassifizierten, aeroben Mikroorganismen zu CO₂ und HCl mineralisiert werden konnte. Das leicht flüchtige Lösungsmittel Dichlormethan dagegen tritt bei Einleitung in eine konventionelle Abwasserreinigungsanlage in die Gasphase über und kann dadurch nicht durch die Biologie abgebaut werden. Durch Fixierung entsprechender Mikroorganismen auf einen Träger in einer Vorort-Biologie im Produktionsgebäude konnte Dichlormethan zu 99,9 % abgebaut werden. Voraussetzung war allerdings eine optimale Versorgung der Bakterien und das Anbieten von Dichlormethan als alleiniger Kohlenstoffquelle. Aromatische Kohlenwasserstoffe können von aeroben Bakterien durch Ringspaltung angegriffen werden (z.B.: Catechol-Abbau durch *Pseudomonas putida*) wie deren halogenierte Derivate (z.B.: Degradation von Chlorbenzoat durch *Pseudomonas sp.* B13). Aromaten mit Nitro-Gruppen können zum einen durch eine Nitroreductase unter Freisetzung von Ammonium oder durch direktes Entfernen der Nitro-Gruppe unter Bildung von Nitrit mikrobiologisch abgebaut werden. Polychlorierte Biphenyle (PCB) können hingegen häufig nur teilweise, z.B. durch *Acinetobacter*, degradiert werden. Der Abbau von PCB ist stark abhängig von der jeweiligen Molekularstruktur.

²³ Arens, J., Zschocke, C.: Verringerung des refraktären CSB-Wertes in der betrieblichen Abwasserreinigung, Abschlußbericht des DBU-Projekts 10539, 1999

²⁴ Leisinger, T., Brunner, W.: Poorly Degradable Substances, *Biotechnology* 66, S. 475 - 513, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim

²⁵ Dechema-Tagung: Anwendung von speziellen Mikroorganismen zur Behandlung von Abwässern mit schwer abbaubaren Inhaltsstoffen- Vorträge in Kurzform, 12.3. bis 13.3.1990 in Frankfurt/Main, Vortrag Nr.11: G. Stucki, Ciba-Geigy Werke Schweizerhalle AG

Ammoniumoxidierende Bakterien (siehe unten) können durch Co-Oxidation mittels ihres Ammonium-Monooxygenase-Komplexes schwer abbaubare aliphatische, aromatische und halogenierte Kohlenwasserstoffe degradieren.²⁶

1.6.2 Nitrifikation

Bei guter Sauerstoffversorgung können syntrophe²⁷, lithoautotrophe²⁸ Bakterien im Abwasser gelöstes Ammonium durch Nitrifikation in zwei Teilschritten über Nitrit in Nitrat umwandeln.

Tabelle 3: Syntrophe, lithoautotrophe Stickstoffoxidierer (geändert, nach Koops und Pommerening-Röser²⁹)

Reaktion	Subklasse	Gattung	Stamm	Habitate
Ammonium-Oxidation	β-Proteobakterien	<i>Nitrosomonas</i>	<i>N. halophila</i> , <i>N. europaea</i> , <i>N. eutropha</i> , <i>N. mobilis</i>	Kläranlagen, eutrophes Süßwasser, Brackwasser
			<i>N. communis</i> , <i>N. sp. I</i> , <i>N. sp. II</i>	nicht saure Böden
			<i>N. nitrosa</i>	eutrophes Süßwasser
			<i>N. ureae</i> , <i>N. oligotrophis</i>	oligotrophes Süßwasser, natürliche Böden
			<i>N. marina</i> , <i>N. sp. III</i> , <i>N. aestuarii</i> , <i>N. cryotolerans</i>	marin
	<i>Nitrosolobus</i>	<i>N. multiformis</i> ,	nicht saure Böden	
	<i>Nitrosospira</i>	<i>N. sp. I</i>	Böden, Gestein, Süßwasser	
	<i>Nitrosovibrio</i>	<i>N. tenuis</i>		
	γ-Proteobakterien	<i>Nitrosococcus</i>	<i>N. oceanus</i> , <i>N. halophilus</i>	marin
Nitrit-Oxidation	α-Proteobakterien	<i>Nitrobacter</i>	<i>N. alkallicus</i>	Salzsee
			<i>N. winogradskyi</i> , <i>N. vulgaris</i> , <i>N. hamburgensis</i>	Böden, Gestein, Süßwasser
	γ-Proteobakterien	<i>Nitrococcus</i>	<i>N. mobilis</i> :	marin
	δ-Proteobakterien	<i>Nitrospina</i>	<i>N. gracilis</i> , <i>N. marina</i> <i>N. moscoviensis</i>	

²⁶ Hooper, A. B., Vanelli, T., Bergmann, D. J., Arciero, D.: Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek J. Gen. Mol. Microbiol.* 71, S. 59 – 67, 1997

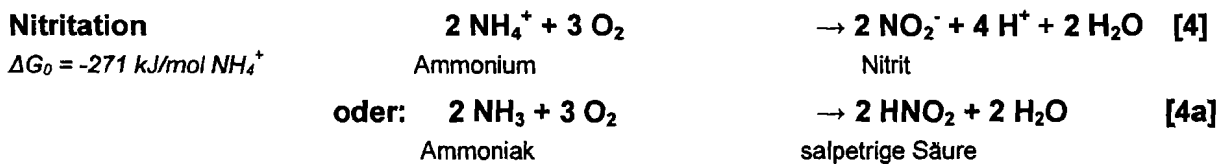
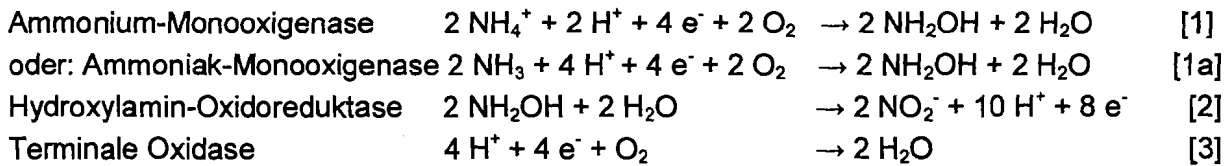
²⁷ syntroph, Syntrophie: Substratabhängigkeit zwischen Bakterien. Die Nitritoxidierer sind funktionell mit den Ammoniumoxidierern assoziiert.

²⁸ lithoautotroph: Verwertung von anorganischen Wasserstoff-Donatoren (lithotroph) und Kohlendioxid (autotroph) für die Zellkohlenstoff-Synthese

²⁹ Koops, H.-P., Pommerening-Röser, A.: Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species, *FEMS Microbiology Ecology* 37, S. 1 – 9, 2001

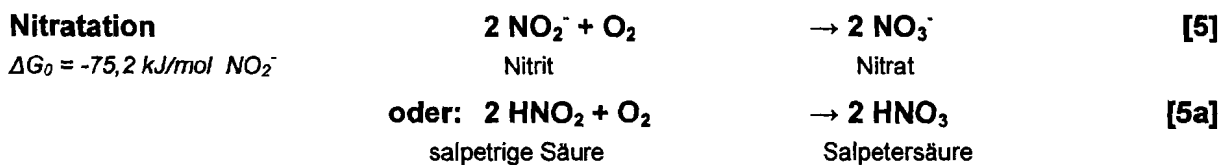
Ammonium- und nitritoxidierende Bakterien haben Generationszeiten von 8 bis 24 h und bevorzugen ein pH-Optimum von 7,5 bis 8,0. Die extrem langsamen Wachstumsraten erfordern ein hohes Schlammalter.

Nach Kowalchuk und Stephen³⁰ ist mittlerweile allgemein akzeptiert (u.a. Suzuki et al.³¹; Wood³²), dass nicht Ammonium sondern Ammoniak den Nitrifizierern als Substrat dient, wobei sich das Ammonium-Ammoniak-Verhältnis auf das Bakterienwachstum auswirkt. Dennoch wird in der Abwasserreinigung berechtigterweise von Ammonium-Oxidation gesprochen, da der Stickstoff im Abwasser als Ammonium vorliegt. Ammoniak entsteht erst durch Abspaltung eines Protons im ersten Reaktionsschritt [1]. Die Reaktionsgleichungen sind daher entsprechend formuliert.

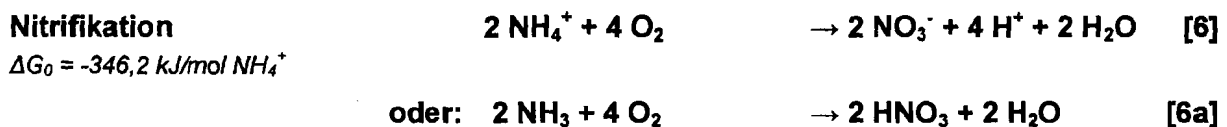


Durch Nitritation [4, 4a] oxidiert Ammonium zunächst mittels einer Ammonium-Monooxygenase (AMO) zu Hydroxylamin [1]. Die AMO ist membrangebunden und besteht aus vielen Untereinheiten. Das Hydroxylamin reagiert durch eine Periplasma assoziierte Hydroxylamin-Oxidoreduktase weiter zu Nitrit [2]. Pro Hydroxylamin-Molekül in der Reaktion [2] werden zwei der vier Elektronen für die Aktivierung des Sauerstoffs auf die AMO [1] übertragen und die restlichen zur Energiegewinnung über die Elektronentransportkette zur terminalen Oxidase [3] geleitet:

Die Nitratation [5, 5a] durch *Nitrobacter* bewirkt eine Oxidation von Nitrit zu Nitrat bzw. salpetriger Säure zu Salpetersäure.



Die Gesamtgleichung der Ammonium- bzw. Ammoniak-Oxidation durch Nitrifikation lautet:



³⁰ Kowalchuk, G. A., Stephen, J. R.: Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology, *Ann. Rev. Microbiol.* 55, S. 485 – 529, 2001

³¹ Suzuki, I., Dular, U., Kwok, S. C.: Ammonia and ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas* cells and extracts, *J. Bacteriol.* 176, S. 6623 – 6630, 1974

³² Wood, P. M.: Nitrification as a bacterial source, in: Prosser, J. I. (ed.): *Nitrification*, S. 39 – 62, IRL Press, Oxford UK 1986

1.6.3 Denitrifikation

Ein anoxisches Milieu führt zur Denitrifikation [11], da aerobe, heterotrophe Bakterien ihren Metabolismus umstellen und den im Nitrat enthaltenen Sauerstoff an Stelle von Luftsauerstoff veratmen können: Dabei wird molekularer Stickstoff freigesetzt: Beispiele für Denitrifizierer sind *Thiobacillus denitrificans*, *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas stutzeri*.

Nitratreduktase A	$2 \text{NO}_3^- + 4 [\text{H}]^*$	$\rightarrow 2 \text{NO}_2^- + 2 \text{H}_2\text{O}$	[7]
Nitritreduktase	$2 \text{NO}_2^- + 2 [\text{H}]^*$	$\rightarrow 2 \text{NO} + 2 \text{OH}^-$	[8]
Stickstoffoxidreduktase	$2 \text{NO} + 2 [\text{H}]^*$	$\rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$	[9]
		Lachgas	
Distickstoffoxidreduktase	$\text{N}_2\text{O} + 2 [\text{H}]^*$	$\rightarrow \text{N}_2\uparrow + \text{H}_2\text{O}$	10]
<hr/>			
Denitrifikation	$2 \text{NO}_3^- + 10 [\text{H}]^*$	$\rightarrow \text{N}_2\uparrow + 4 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{OH}^-$	[11]
für Zucker (CH_2O): $\Delta G_0 = 594,6 \text{ kJ/mol NO}_3^-$		$[\text{H}]^* = \text{oxidierbare Substanz (z. B. Methanol, Essigsäure)}$	

Bei der Denitrifikation entsteht nach Wicht³³ in Spuren das Treibhausgas N_2O (Lachgas) als obligatorisches Zwischenprodukt [9], das über die Oberfläche belüfteter Reaktoren in die Umwelt gelangt. Nach seiner Berechnung sind Kläranlagen allerdings zu weniger als 2 % an der Gesamt- N_2O -Emission Deutschlands beteiligt.

1.6.4 Klassischer Stickstoffumsatz in der Abwasserreinigung

Sowohl Nitrifikation als auch Denitrifikation macht man sich in der biologischen Abwasserreinigung zunutze.

Bei **vorgeschalteter Denitrifikation** können die Nitrat-Atmer die im Abwasser enthaltenen organischen Verbindungen zum Teil als Kohlenstoffquelle verwerten. Der Belebtschlamm des **nachgeschalteten Nitrifikationsbeckens** wird zum Abbau von Nitrat in das Denitrifikationsbecken zurückgeleitet. Dort wird durch langsames Umrühren des anoxischen Belebtschlammes das Entweichen des Stickstoffs ermöglicht. Bei dieser Anlagenschaltung wird Stickstoff nicht vollständig umgesetzt, da nicht das gesamte Nitrat zurückgeführt, sondern zum Teil über den Ablauf in den Vorfluter geleitet wird.

Bei **nachgeschalteter Denitrifikation** kann das Nitrat vollständig abgebaut werden. Die Denitrifikanten sind aber auf die Zugabe einer externen Kohlenstoffquelle angewiesen (z.B. Methanol, Essigsäure), da die leicht degradierbaren organischen Abwasserstoffe in der vorangegangenen aeroben Phase abgebaut werden. Das für eine vollständige Stickstoffelimination erforderliche CSB/N-Verhältnis kann nach Wolffson³⁴ in einem SBR-Reaktor³⁵ mit 4,4 g/g für Essigsäuredosierung und mit 4,0 g/g für Methanoldosierung angegeben werden (intermittierende Denitrifikation). „Bei Essigsäuredosierung liegt das Aktivitätsoptimum bei einem pH-Wert von 8,0 für Sauerstoff- und Nitratatmung. Bei Methanoldosierung divergiert dagegen

³³ Wicht; H.: N_2O -Emission durch den Betrieb biologischer Kläranlagen; Schriftenreihe des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig Heft 58, 1996

³⁴ Wolffson, C.: Denitrifikation von speziellen Abwässern mit externen Kohlenstoffquellen, Schriftenreihe des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig, Heft 52, 1992

³⁵ SBR-Technologie (sequenced batch reactor): Diskontinuierliche Abwasserreinigung in einem Reaktor. Füllung, Nitrifikation, Denitrifikation, Sedimentation und Leerung werden zeitlich versetzt durchgeführt.

der Bereich zwischen 7,7 - 8,0 für die aerobe Atmung und 6,5 - 7,0 für die anoxische Atmung, ...“ Nach Hillenbrand und Böhm³⁶ ist die Zudosierung verschiedener Kohlenstoffquellen für eine vollständige Denitrifikation denkbar.

Tabelle 4: Mögliche externe C-Quellen für eine vollständige Denitrifikation (geändert, nach Hillenbrand und Böhm).

C-Quelle	g/g N-NO ₃	Vorteile	Nachteile
Essigsäure	3,5	keine Adaptionszeit geringer Schlammehranfall hoher Flammpunkt	teurer als Methanol und Ethanol hoher Substratbedarf
Acetol 20	~ 3,5	keine / kurze Adaptionszeit höherer Flammpunkt (kein Ex-Schutz notwendig)	teurer als Methanol und Ethanol hoher Substratbedarf
Methanol	2,5	geringer Preis geringer Schlammehranfall	1 Monat Adaptionszeit toxisch niedriger Flammpunkt (11°C)
Ethanol	2,0	keine / kurze Adaptionszeit	höherer Schlammanfall teurer als Methanol niedriger Flammpunkt (13°C)
Industrielle Reststoffe	abhängig von der Zusammensetzung	in der Regel kostenlos, da Abfallbeseitigung	ggf. schwankende Zusammensetzung Verfügbarkeit evt. nicht das ganze Jahr gegeben Abhängigkeit von externen Entscheidungen Laborversuche erforderlich (Dosiermenge, Umsetzbarkeit) Adaptionszeit evt. erforderlich Qualitätskontrollen erforderlich

Auch die Nutzung von **Deponiegas als C-Quelle** für die Denitrifikation ist denkbar (Vorschlag: Rettig³⁷). Das Gas kann nach Werner³⁸ von methanotrophen Bakterien (*Methylomonas*, *Methylococcus*, *Methylosinus*) unter externer Zugabe von Sauerstoff verwertet werden. Die obligat aeroben Bakterien oxidieren Methan unter sauerstofflimitierten Bedingungen nicht zu CO₂, sondern zu Methanol als Zwischenprodukt. Methyloprophile Bakterien der Gattung *Hyphomicrobium* können das Methanol als Wasserstoffdonator für die Denitrifikation nutzen. Problematisch bleibt allerdings die Explosionsgefahr (Grubengas) und die mangelnde Mischbarkeit mit Wasser.

1.6.5 Nitratammonifikation

Bei einem Überangebot leicht mineralisierbarer organischer Substanzen und geringen Stickstoffkonzentrationen kann in Denitrifikationsreaktoren das unerwünschte Phänomen der

³⁶ Hillenbrand, T., Böhm, E.: Maßnahmen zur Verbesserung der Denitrifikation, KA 3/1996, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

³⁷ Rettig, R.: Geschäftsführung der MEAB, Gespräch vom 1.8.00

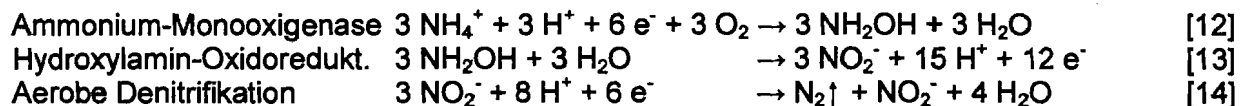
³⁸ Werner, M.: Deponiegas zur Denitrifikation von Sickerwasser aus Mülldeponien, Schriftenreihe des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig, Heft 53, 1993

Nitratammonifikation auftreten (Richter et al.³⁹). Eine Reihe fakultativ und obligat anaerober Bakterien speichern so auf indirektem Weg über den Gärungsstoffwechsel Energie (ATP). Nitrat wird zunächst mit Hilfe von Elektronen aus organischem Substrat zu Nitrit und dann zu Ammonium reduziert. Eine Überdosierung externer Kohlenstoffsubstrate muss daher vermieden werden.

1.6.6 Deammonifikation

Sickerwässer aus Deponien in der Methanphase zeichnen sich durch eine hohe Ammonium-Belastung bei vergleichsweise geringem Anteil an bakteriell verwertbaren organischen Inhaltsstoffen aus. Neben der klassischen Nitrifikation und Denitrifikation rücken aufgrund konkreter Beobachtungen in Sickerwasserbehandlungsanlagen zunehmend andere Stickstoffumsetzungen durch ammoniumoxidierende Bakterien in das Blickfeld der Forschung.

Hippen et al.⁴⁰ fanden heraus, dass Ammonium in der aeroben Nitrifikationsstufe der Sickerwasserbehandlungsanlage Mechernich in der Nordeifel auto- und heterotroph zu elementarem Stickstoff umgewandelt wird. Dieser Prozess, der in stark ammoniumbelasteten Abwässern auftritt, wird als aerobe Deammonifikation bezeichnet, die simultan zur Nitrifikation abläuft. Binswanger et al.⁴¹ formulieren in abgewandelter Form folgende Reaktionsgleichung:



Aus stöchiometrischen Gründen werden maximal 67 % des Ammoniaks durch *Nitrosomonas*-Arten zu molekularem Stickstoff umgesetzt. Die Nitritbildung in der aeroben Deammonifikation verläuft analog der Nitritation (Teilschritt 1 der Nitrifikation). Allerdings werden 2 von 3 Nitritmolekülen zu Stickstoffgas aerob denitrifiziert und ein Molekül analog der Nitratation durch *Nitrobacter* zu Nitrat oxidiert (Teilschritt 2 der Nitrifikation). Aufgrund der Tatsache, dass bislang die **autotrophe, aerobe Denitrifikation** nur bei klassischen Nitrifikanten (meist Stämme der Gattung *Nitrosomonas*, z. B. Poth⁴²) nachgewiesen wurde, liegt die Vermutung nah, dass die bakterielle Ammonium-Oxidation einer konzentrationsabhängigen Autoregulation unterliegt.

In Anwesenheit der Gase NO_2 oder NO kann *Nitrosomonas eutropha* und *Nitrosomonas europaea* unter oxischen Bedingungen eine hohe Nitrifikationsrate und eine von organischen

³⁹ Richter, H., Aust, E., Knott, A.: Beobachtungen während der Denitrifikation eines stark stickstoffbelasteten Deponiesickerwassers, KA 7/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA Hennef 2001

⁴⁰ Hippen, A., Helmer, C., Scholten, E., Kunst, S., Diekmann, H., Rosenwinkel, K.-H., Seyfried, C. F.: Neue Möglichkeiten der Stickstoffelimination bei Abwässern mit niedrigem C/N-Verhältnis: Aerobe Deammonifikation, KA 12/1998, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA Hennef 2001

⁴¹ Binswanger, S., Siegrist, H., Lais, P.: Simultane Nitrifikation/Denitrifikation von stark ammoniumbelasteten Abwässern ohne organische Kohlenstoffquellen, KA 09/1997, ebenda

⁴² Poth, M.: Dinitrogen production from nitrite by a *Nitrosomonas* isolate, Appl. Environm. Microbiol. 52, No. 4, S. 957 - 959, 1986

C-Quellen unabhängige, hohe Denitrifikationsleistung erbringen (Schmidt et al.⁴³, Zart und Bock⁴⁴).

Auch in einer anoxischen Atmosphäre aus Stickstoff und Stickoxiden kann der Stamm *Nitrosomonas eutropha* simultan nitrifizieren und denitrifizieren (**anaerobe Deammonifikation**, Schmidt und Bock⁴⁵). Für die Denitrifikation nutzen die *Nitrosomonas*-Stämme Wasserstoff, Pyruvat oder Acetat als Elektronendonator und Nitrit als Elektronenrezeptor.

Weitere Arbeiten zum Themenkomplex Deammonifikation (auch heterotrophe) stammen u.a. von Krul⁴⁶, Meiberg et al.⁴⁷, Ottow und Fabig⁴⁸, sowie Robertson und Kuenen⁴⁹. Der heterotrophe Nitrifizierer *Paracoccus denitrificans* kann beispielsweise seinen Stoffwechsel auf aerobe Denitrifikation umstellen.

1.6.7 Anammox-Reaktion

Bei der von Mulder et al.⁵⁰ entdeckten Anammox-Reaktion (anaerobe Ammonium-Oxidation) wird zunächst eine „Nitritation“ von Ammonium postuliert (Abeling⁵¹). Bei geringem Sauerstoffeintrag läuft diese Reaktion in den aeroben Zonen ab. Da die Nitratation gehemmt ist, wird aus äquimolaren Mengen an Nitrit und Ammonium anaerob Stickstoff gebildet. Es entsteht kein Lachgas. Das noch nicht identifizierte Anammox-Bakterium wächst autotroph auf CO₂. Trotz vieler noch ungeklärter Mechanismen eröffnet sich die Chance, die Stickstofffracht mit Hilfe eines Reaktors aus dem Abwasser zu entfernen.

⁴³ Schmidt, I., Zart, D., Stüven, R., Bock, E., Appelbaum, S.: Einsatz eines neuartigen einstufigen Verfahrens zur Stickstoffeliminierung in Abwasser, KA 06/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA Hennef 2001

⁴⁴ Zart, D., Bock, E.: High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas eutropha* grown in a fermentor with complete biomass retention in the presence of gaseous NO₂ or NO, Arch. Microbiol. 169, S. 282 - 286, 1998

⁴⁵ Schmidt, I., Bock, E.: Anaerobic ammonia oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas eutropha*, Arch. Microbiol. 167, S. 106 - 111, 1997

⁴⁶ Krul, J. M.: Dissimilatory nitrate and nitrite reduction under aerobic conditions by an aerobically and anaerobically grown *Alcaligenes sp.* and by activated sludge, J. Appl. Bacteriol. 40, S. 245 - 260, 1976

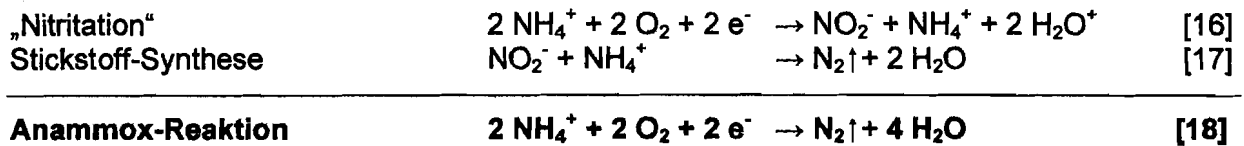
⁴⁷ Meiberg, J. B. M., Bruinenberg, P. M., Harder, W.: Effect of dissolved oxygen tension on the metabolism of methylated amines in *Hyphomicrobium X* in the absence and presence of nitrate: evidence for aerobic denitrification, J. Gen. Microbiol. 120, S. 453 - 463, 1980

⁴⁸ Ottow, J. C. G., Fabig, W.: Einfluß der Sauerstoffbegasung auf die Denitrifikationsintensität (aerobe Denitrifikation) und das Redoxniveau unterschiedlicher Bakterien, Landwirtsch. Forsch. Sonderheft 41, S. 453 - 470, 1984

⁴⁹ Robertson, L. A., Kuenen, J. G.: Aerobic denitrification: a controversy revived, Arch. Microbiol. 139, S. 351 - 254, 1984

⁵⁰ Mulder, A., van de Graaf, A. A., Robertson, L. A., Kuenen, J. G. (1995): Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor, FEMS Microbiol. Ecol. 16, S. 177, 1995

⁵¹ Abeling, U.: Stickstoffeliminierung aus Industrieabwässern - Denitrifikation über Nitrit, Veröffentlichungen des Institutes für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik der Universität Hannover, Heft 86, 1995



Alle ΔG_0 -Werte der Stickstoffreaktionen stammen aus der oben erwähnten Arbeit von Binswanger et al.

1.6.8 Immobilisierung von Bakterien

Die Abbauleistungen von Bakterienkulturen mit langsamen Wachstumsraten (z.B.: Ammoniumoxidierer, Spezialbiologie für Rest-CSB) können durch Immobilisierung optimiert werden.

Nach Gebhardt⁵² lassen sich „in Systemen mit Immobilisierungswirkung standort eigene Spezialisten heranziehen, die auf jedem Fall länger im System verbleiben als in jenen mit suspendierter Biomasse. Gerade bei der Behandlung von Abwasserteilströmen mit hoher Substratkonzentration bestimmter schwer abbaubarer Verbindungen wurde bereits verschiedentlich mit trägergebundenen Mikroorganismen gearbeitet.“

Immobilisierung bewirkt nach Behm⁵³ eine Verlängerung der Lebensdauer und der Stoffwechselaktivität gegenüber freien Mikroorganismen. Eine monatelange Lagerung und der Aufbau stabiler Populationen ist möglich. An den Organismen sind Veränderungen in der Morphologie, in der Aktivität der Enzyme und in der Empfindlichkeit gegenüber Giften zu beobachten. Die Diffusion von Sauerstoff und anderen Gasen, Verfügbarkeit von Wasser und der Transport von Substraten und Ausscheidungsprodukten sind weitere wichtige Kriterien für die Immobilisierung.

Die Hemmung der Biologie durch toxische Metabolite kann nach Hempel et al.⁵⁴ bei der Immobilisierung teilweise umgangen werden, da der Abbau kritischer Stoffe durch Interspezies-Transfer erfolgt. Aufgrund des Minimalwachstums der Spezialisten erzielt man gegenüber suspendierten Organismen durch Immobilisierung eine Biomasserückhaltung, was wiederum eine Erhöhung der Abbauleistung und -stabilität bewirkt. Nachteile sind die Stofftransportlimitierung, die erschwerte Biomasseabtrennung und der erhöhte Feststoffanteil.

Schäfer et al.⁵⁵ wiesen darauf hin, dass immobilisierte Mischkulturen für die Behandlung von Abwässern mit großen Schwankungen der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung stabilere Eliminationserscheinungen erbringen als suspendierte Mischkulturen.

⁵² Gebhardt, W.: Gezüchtete Mikroorganismen in Abwasserreinigungsanlagen - kritisch betrachtet, Korrespondenz Abwasser 5, S. 698 - 701, 1994

⁵³ Dechema-Tagung: Anwendung von speziellen Mikroorganismen zur Behandlung von Abwässern mit schwer abbaubaren Inhaltsstoffen- Vorträge in Kurzform, 12.3. bis 13.3.1990 in Frankfurt/Main, Vortrag Nr. 6: R.J. Behm, Univ. Münster

⁵⁴ Dechema-Tagung: ebenda, Vortrag Nr. 7: D.C. Hempel, M. Lindert, Univ. Paderborn, 1990

⁵⁵ Schäfer, M., Nowak, J., Hegemann, W., Eichenmüller, B., Götz, P.: Vergleichende Untersuchungen zum Abbau von Chlorbenzolgemisch durch suspendierte und immobilisierte Mischkulturen, gwf Wasser / Abwasser 12, S. 736, 1994

Neben den Mikroorganismen adsorbieren auch die Abwasserinhaltsstoffe an den Trägermaterialien und liegen dort in höheren und konstanteren Konzentrationen als im umgebenden Wasser vor („Futterkrippen-Modell“⁵⁶). Das führt zu einer Stabilisierung des Systems.

Durch die Fixierung der Biomasse an Trägermaterialien kann auf Trennverfahren wie Mikrofiltration oder Sedimentation verzichtet werden. Bei konventionellen Absetzbecken führt nach Kunz⁵⁷ der geringe Dichteunterschied der Zellen zur umgebenden Flüssigkeit zu einer Ausschwemmung der Mikroorganismen. Immobilisierung bewirkt Abtrennbarkeit und theoretisch unbegrenzte Anreicherung im System. Die Umsatzgeschwindigkeit wird erhöht, da diese von der Konzentration der Reaktionspartner abhängig ist. Mit der Verstärkung des Biofilms verschlechtert sich zwar einerseits der Stofftransport, insbesondere für Sauerstoff, der Biofilm bietet aber andererseits einen Schutz vor Hemmstoffen für die innen sitzenden Organismen. Aufgrund des Adsorptionsverhaltens muss die Verteilung der Mikroorganismen in der wässrigen und fixierten Phase nicht übereinstimmen. Dies führt zu unterschiedlichen Abbauraten in beiden Phasen. Bei Mischkulturen bietet sich eine Primärbesiedlung durch spezielle Mikroorganismen an, so dass Mikroorganismen mit sonst günstigeren Entwicklungsmöglichkeiten das mikrobielle System nicht überwuchern können. Bei Hefen konnte durch eine vor der Adsorption eingelegte Hungerphase die Anlagerungsrate deutlich erhöht werden.

1.6.9 Abbau refraktärer Sickerwasserinhaltsstoffe durch Weiß-, Rot- und Braunfäulepilze

Der refraktäre Anteil des Sickerwassers enthält aufgrund von Auswaschungen aus dem Deponiekörper eine Fraktion wasserlöslicher Huminstoffe, die bakteriell nur sehr langsam abgebaut wird. Bakterien sind nicht in der Lage, Moleküle solcher Größe ungerichtet aufzunehmen und intrazellulär zu metabolisieren. Nach Harms et al.⁵⁸ sind zwei Drittel des Sickerwasser-DOC⁵⁹ von drei untersuchten Deponien Huminstoffe.

Eine rasche Degradation von Huminstoffen und Xenobiotika durch extrazelluläre, mischfunktionelle Enzyme verschiedener Weiß-, Rot- und Braunfäulepilze ist in der Literatur einschlägig beschrieben.⁶⁰ Die Pilze sezernieren in unterschiedlichem Maße Ligninasen, Laccasen und Mangan-Peroxidasen. Der Metabolismus umfasst nicht nur die Transformation aromatischer Strukturen (Reaktion der Substituenten), sondern auch deren Spaltung. In Ergänzung mit den Oxidasen für verschiedene Zucker, Methanol, Acetyl-CoA, und Veratrylalkohol können Lignin und Huminstoffe vollständig mineralisiert werden (Abbau bis zum CO₂).⁶¹

⁵⁶ Tiltmann, K. O., Gärtner, A., Ramacher, S.: Braunkohlenkoks zur biologischen und adsorptiven Wasserreinigung, UMT (umwelt markt technik) 4, S. 5, GfR – Gesellschaft für Recycling GmbH Düsseldorf im Fachverlag Deutscher Wirtschaftsdienst, Köln 2001

⁵⁷ Kunz, P.: Umwelt - Bioverfahrenstechnik, S. 69, Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden 1992

⁵⁸ Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

⁵⁹ Sickerwasser-DOC: im Sickerwasser gelöster organischer Kohlenstoff (DOC = diluted organic carbon)

⁶⁰ Haider, K.: Biochemie des Bodens, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

⁶¹ Giffhorn, F.: Fungal pyranose oxidases: occurrence, properties and biotechnical applications in carbohydrate chemistry, Appl Microbiol Biotechnol 54, S. 727 – 740, 2000

Bei der ligninolytischen Depolymerisation oxidieren **Laccasen** (67000 Da, blaue Proteine) σ - und p -Phenole sowie aromatische Amine und reduzieren molekularen Sauerstoff zu Wasser.⁶² Das katalytische Zentrum dieser kupferhaltigen Monophenoloxidasen besteht nach Hublik und Schinner⁶³ aus 3 verschiedenen Kupfertypen mit verschiedenen Funktionen. Kupfer vom Typ 1 katalysiert den Elektronentransfer, Typ 2 aktiviert den molekularen Sauerstoff und Typ 3, ein Kupfer-Dimer, ist für die Sauerstoffaufnahme verantwortlich. Der Reaktionsmechanismus lässt sich vereinfacht durch folgende Formeln ausdrücken:

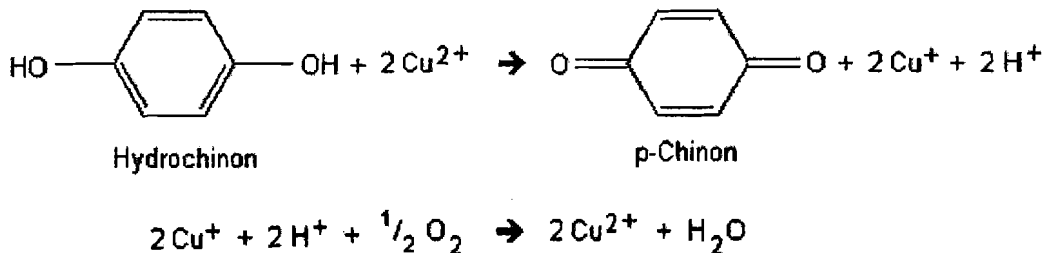
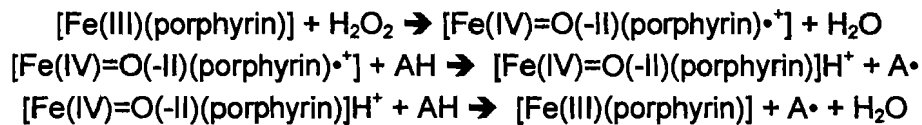


Abbildung 7: Reaktionsschema der Laccase (Hublik und Schinner, geändert).

In den meisten Fällen führt die Oxidation der Substrate durch Laccasen zur Polymerisation (oxidative Kupplung). Phenole polymerisieren über C-C- und C-O-Kupplungen, aromatische Amine über N-N- und C-N-Kupplungen. Die Polymerisate gelten als weniger toxisch.^{64 65 66} Deshalb schlagen Hublik und Schinner eine Immobilisierung von Laccase mit *Eupergit*[®] (Röhm, Darmstadt) zur Abwasserreinigung vor.

Die katalytischen Reaktionen von Mangan-Peroxidase und Ligninase folgen dem Grundschema der allgemeinen Peroxidase-Reaktion und können in drei Schritten beschrieben werden.⁶⁷



Mit Wasserstoffperoxid als Donor katalysiert **Mangan-Peroxidase** die Oxidation von Mn^{2+} zu Mn^{3+} , das mit organischen Substraten Chelate mit hohem Redoxpotential bildet. Die Mn^{3+} -Chelate können frei diffundieren. In Anwesenheit von Sauerstoff, das die Kupplung von Radikalen verhindert, kann Lignin terminal depolymerisiert werden.

⁶² Chen, C. L., Chua, M. G. S., Evans, J. E., Chang, H. M., Kirk, T. K.: Chemistry of lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*, Int Symp Wood Pulping Chem 3, S. 75 – 87, Stockholm 1981

⁶³ Hublik, G., Schinner, F.: Characterization and immobilization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* and its use for the continuous elimination of phenolic pollutants, Enzyme and Microbial Technology 27, S. 330 - 336; 2000

⁶⁴ Dec, J., Bollag, J. M.: Detoxification of substituted phenols by oxidoreductive enzymes through polymerization reactions, Arch environ Cintam Toxicol 19, S. 543 – 50, 1990

⁶⁵ Bollag, J. M.: Shuttleworth, K. L., Anderson, D. H.: Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds, Appl Environ Microbiol 53, S. 3086 – 3091, 1988

⁶⁶ Nannipieri, P., Bollag, J. M.: Use of enzymes to detoxify pesticide-contaminated soils and waters, J Environ Qual S. 510 -517, 1991

⁶⁷ Henriksen, A.: Plants Peroxidases, <http://jerne.ki.ku.dk/~anette/html/peroxidases.html> (Stand: 16.8.00)

Der unspezifische Radikalmechanismus der H_2O_2 -abhängigen **Ligninase** führt zur Spaltung verschiedener Bindungen, einschließlich von Aromatenstrukturen.

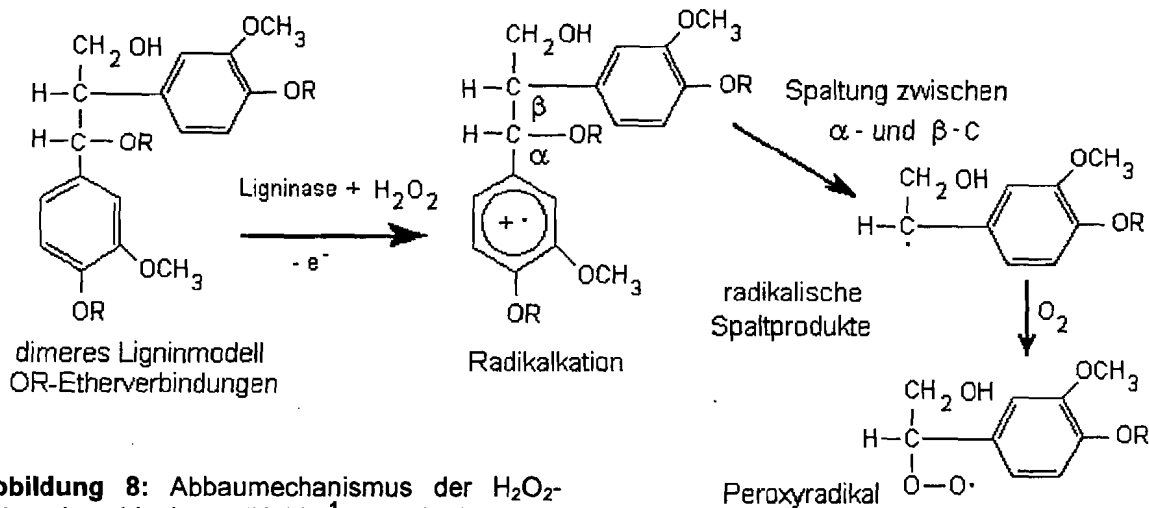


Abbildung 8: Abbaumechanismus der H_2O_2 -abhängigen Ligninase (Haider¹, geändert).

Das ligninolytische System wird durch sezernierte Proteasen reguliert. So zerschneidet die Serin-Protease PoS1 Isoenzyme der Laccase in *Pleurotus ostreatus*.⁶⁸ Für *Phanerochaete chrysosporium* ist der Einfluss einer extrazellulären Protease auf die Lignin-Peroxidase beschrieben.^{69, 70} In Kulturen mit limitierten Nährstoffen werden Laccasen und unspezifizierte Peroxidasen von *Trametes versicolor* durch die irreversible Zerstörung von Serin-Proteasen durch PMSF aktiviert, während die Aktivität der Ligninase durch die Zugabe von PMSF gehemmt wird.⁷¹

Bergbauer und Heinfling⁷² beschäftigen sich mit der Transformation von Reaktivfarbstoffen durch die Pilze *Bjerkandera adusta* und *Trametes versicolor*. Diese Arten wurden aufgrund eines Screenings von Pilzen auf die Entfärbung von Azo- und Phthalocyaninfarbstoffen ausgewählt.

Swamy und Ramsay⁷³ untersuchte die Entfärbung einer ganzen Reihe von Textilfarbstoffen durch die Weißfäulepilze *Bjerkandera sp.*, *Phanerochaete chrysosporium* und *Trametes versicolor*. Die besten Ergebnisse wurden mit *Trametes versicolor* erzielt.

⁶⁸ Palmieri, G., Bianco, C., Cennamo, G., Giardina, P., Marino, G., Monti, M., Sannia, G.: Purification, Characterization and Functional Role of a Novel Extracellular Protease from *Pleurotus ostreatus*, *Appl Env Microbiol* 67 (6), S. 2754 - 2759, 2001

⁶⁹ Dosoretz, C. G., Dass, B., Reddy, A., Grethlein, H. E.: Protease-mediated degradation of lignin peroxidase in liquid cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl Env Microbiol* 56, S. 395 - 400, 1980

⁷⁰ Dass, S. B., Dosoretz, C. G., Reddy, C. A., Grethlein, H. E.: Extracellular proteases produced by the wood-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* under ligninolytic and non-ligninolytic conditions, *Archives of Microbiology* 163 (4), S. 254 - 258, 1995

⁷¹ Staszczak, M., Zdunek, E., Leonowicz, A.: Studies on the role of proteases in the white-rot fungus *Trametes versicolor*: Effect of PMSF and chloroquine on ligninolytic enzymes activity, *J Basic Microbiol*, 40 (1), S. 51 - 63, 2000

⁷² Bergbauer, M., Heinfling, A.: Mikrobielle Reinigung von Abwässern der Textilfärberei durch Pilze und Bakterien, SFB 193 A 11, TU Berlin, www.tu-berlin.de/fb6/itu/sfb193/S193TP.html (Stand: 7.7.00)

⁷³ Swamy, J., Ramsay, J. A.: The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes, *Enzyme and Microbial Technology* 24, S. 130 - 137, 1999

Der Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* spaltet mit Hilfe von Peroxidasen Lignin-Chromophore und dechloriert organische Verbindungen. Ein Tropfkörperreaktor mit *Phanerochaete chrysosporium* wurde von Messner et al. zur Reinigung von Bleichereiabwässern entwickelt (MYCOPOR[®]-Verfahren⁷⁴).

Die Gattung *Pleurotus* zeichnet sich vor allen durch die Sezernierung von Laccasen aus. Der Abbau von PAKs durch *Pleurotus ostreatus* wurde in den Dissertationen von Eschenbach⁷⁵ und Wolter⁷⁶ beschrieben.

Die GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH⁷⁷ hat einen Bioreaktor für die Bodensanierung schadstoffbelasteter Böden durch *Phanerochaete chrysosporium* entwickelt. Bodenschadstoffe wie Pestizide aus der Landwirtschaft, Benzo(a)pyren und ähnlich giftige polyzyklische Aromate (PAK) aus einem stillgelegten Münchner Gaswerk, aus Altlasten und aus Raffinerien sollen mit diesem Reaktor gereinigt werden.

Dittmann⁷⁸ testete die Biodegradation und Akkumulation von 3-Chlorbenzoesäure (3CBS) durch Weißfäule- und Mykorrhizapilzarten sowie durch Wurzeln höherer Pflanzen. Die Pilze mit den höchsten Abbauraten für 3CBS waren *Heterobasidion annosum* und *Trametes versicolor*.

Dobner⁷⁹ untersuchte den biologischen Abbau von TNT durch die Weißfäulepilze *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* und *Trametes versicolor* in Kombination mit mykorrhizierten Gehölzen. „So bewegten sich die Abbauleistungen von *P. chrysosporium* in einem Bereich von 34 – 43 %. Bei *P. ostreatus* lagen in zwei Ansätzen die Abbauraten bei 19 % und im dritten Ansatz jedoch bei 42 %. *T. versicolor* hingegen baute TNT zu 99 % ab.“

Durch Geleinschluss-Immobilisierung von *Trametes versicolor* wurde an der Universität Karlsruhe in Zusammenarbeit mit der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig ein elegantes Verfahren zur Behandlung refraktärer Stoffe in der Abwasserreinigung

⁷⁴ Messner, K., Srebotnik, E., Jaklin Farcher, S.: MYCOPOR-Verfahren; Inst. f. Biochemische Technologie und Mikrobiologie der TU Wien, www.tuwien.ac.at/histu/pers/11056.html (Stand: 19.12.01) Österreichisches Patent Nr. 390791, Wien 1990

⁷⁵ Eschenbach, A.: Einfluss von *Pleurotus ostreatus*, Kompost, *Sphingomonas paucimobilis* und der Kontaminationsdauer auf den Verbleib und Abbau ¹⁴C-markierter polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) in Altlastböden, Dissertation, TU Hamburg-Harburg 1995

⁷⁶ Wolter, M.: Abbau von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen durch den Weißfäulepilz *Pleurotus* sp. Florida. Dissertation, Institut für Pflanzenernährung und Bodenkunde, Völkenrode Sonderheft 204, Braunschweig 1999

⁷⁷ Grill, A.: Bodensanierung auf biochemischem Weg - Ein Pilz mit Appetit auf Gift, mensch + umwelt 3, GSF - Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GmbH 1997

⁷⁸ Dittmann, J.: Akkumulation und Biodegradation von im Bioschlamm vorhandener 3-Chlorbenzoesäure durch Pilze insbesondere Mykorrhizapilze und durch Wurzeln höherer Pflanzen. Physiologische Pflanzenanatomie der Universität Bremen, Zentrum für Umweltforschung und Umwelttechnologie (UFT), www.uft.uni-bremen.de/pflanzenanatomie/dittmann.htm (Stand: 21.01.02), Dissertation 1999

⁷⁹ Dobner, I.: Untersuchungen über den biologischen Abbau von 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) durch Weißfäulepilze in Kombination mit mykorrhizierten Gehölzen, Physiologische Pflanzenanatomie der Universität Bremen, Zentrum für Umweltforschung und Umwelttechnologie (UFT), www.uft.uni-bremen.de/pflanzenanatomie/dobner.htm (Stand: 19.12.01)

entwickelt.^{80 81} Bakterien können das Gelgitter nicht durchdringen und die eingeschlossenen Pilze verdrängen, während das Abwasser das Gelgitter durchströmt. Synergieeffekte mit Bakterien können in einem Reaktor realisiert werden. „Das ligninolytische Enzymsystem des Weißfäulepilzes *Trametes versicolor* ist ... potentiell in der Lage, organische Verbindungen wie Kunststoffe (PE-, PE-Stärke-, Stärke-Vinylalkohol-Folien), PAH, TNT bzw. Farbstoffe (Poly-R478), Dioxine, Benzo(a)pyren, PCBs, etc. zu transformieren bzw. einem weiteren bakteriellen Abbau zugänglich zu machen“ (Leidig).⁸²

Auf Anregung von Knackmuss in der Beiratssitzung vom 04.09.2000 wurde Kontakt zur Arbeitsgruppe Wetzstein aufgenommen, die sich mit dem Abbau von antibakteriell wirkenden Chemotherapeutika (Gyrasehemmer) durch holzabbauende Pilze befasst. Nach Wetzstein⁸³ ist der Braunfäulepilz *Gloeophyllum striatum* ein sehr starker OH-Radikalbildner. Wetzstein et al. zeigten die Degradation der beiden schwer abbaubaren Fluorchinolone Enrofloxacin⁸⁴ und Ciprofloxacin⁸⁵ mit diesem Pilz. Die Arbeitsgruppe belegte (Schlosser et al.⁸⁷), dass das Enzymsystem von *Gloeophyllum striatum* Metabolite von 2,4-Dichlorphenol bildet, die den Endprodukten der Fenton-Reaktion (siehe Methodenteil) mit diesem Stoff entsprechen.

Der Reaktorbetrieb für die Deponiesickerwasserreinigung sollte unter stickstofflimitierten Bedingungen stattfinden. Es bietet sich daher eine Behandlung des Retentatstroms der Nanofiltration durch Weiß- bzw. Braunfäulepilze an, da Stickstoff in der ersten Biostufe weitestgehend eliminiert werden soll. Metabolite können dann in einer nachgeschalteten Belebtschlammstufe bakteriell degradiert werden.

⁸⁰ Leidig, E., Greiff, K.: Neues Verfahren im Laborversuch: Weißfäulepilze zum Abbau wasser- und bodengefährdender Stoffe, Inst. f. Ingenieurbiologie und Biotechnologie des Abwassers der Uni Karlsruhe, Pressemitteilung Nr. 90 vom 17.8.98

⁸¹ Leidig, E., Prüsse, U., Vorlop, K.-D., Winter, J.: Biotransformation of Poly R-478 by continuous cultures of PVAL-encapsulated *Trametes Versicolor* under non-sterile conditions, *Bioprocess Engineering* 21, S. 5 – 12, Springer Verlag 1999

⁸² Leidig, E.: Ergebnisse bisheriger Untersuchungen, isww.bau-verm.uni-karlsruhe.de/~iba/Leidig/TV.html (nicht mehr vorhanden)

⁸³ Wetzstein, H.-G.: persönliche Mitteilung im September 2000, Landwirtschaftszentrum Monheim der Bayer AG

⁸⁴ Martens, R., Wetzstein, H.-G., Zadrazil, F., Capelari, M., Hoffmann, P., Schmeer, N.: Degradation of the Fluoroquinone Enrofloxacin by Wood-Rotting Fungi; *Appl Env Microbiol* 62 (11), S. 4206 – 4209, 1996

⁸⁵ Wetzstein, H.-G., Schmeer, N., Karl, W.: Degradation of the Fluoroquinone Enrofloxacin by the Brown Rot Fungus *Gloeophyllum striatum*: Identification of Metabolites; *Appl Env Microbiol* 63 (11), S. 4272 – 4281, 1997

⁸⁶ Wetzstein, H.-G., Stadler, M., Tichy, H.-V., Dalhoff, A., Karl, W.: Degradation of Ciprofloxacin by Basidiomycetes and Identification of Metabolites generated by the Brown Rot Fungus *Gloeophyllum striatum*; *Appl Env Microbiol* 65 (4), S. 1556 – 1563, 1999

⁸⁷ Schlosser, D., Fahr, K., Karl, W., Wetzstein, H.-G.: Hydroxylated Metabolites of 2,4-Dichlorphenol Imply a Fenton-Type Reaction in *Gloeophyllum striatum*, *Appl Env Microbiol* 66 (6), S. 2479 – 2483, 2000

2 Material und Methoden

2.1 Deponiesickerwasser

Die Märkische Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft (MEAB) stellt für die Laborversuche unterschiedlich stark belastetes Sickerwasser aus den Siedlungsabfalldeponien Schöneiche und Vorketzin zur Verfügung.

Aus Transportgründen wird für den Betrieb der Laboranlagen auf das Umkehrosmose-Konzentrat der Sickerwasserbehandlungsanlage Schöneiche zurückgegriffen, welches dann auf die ursprüngliche Rohsickerwasser-Konzentration zurückverdünnt wird (i. d. R.: 2 : 3). Zeitweilig wird das Umkehrosmose-Konzentrat auch unverdünnt verwendet, um die Belastbarkeit der Mikroflora zu testen.

2.2 Animpfen der Laborkläranlage

Potentielle mikrobielle Spezialisten aus dem Sickerwasser werden angereichert und für die Inbetriebnahme der Laborkläranlagen verwendet. Zusätzlich wird Belebtschlamm aus der Schlammrückführung der kommunalen Kläranlage Ruhleben (Berliner Wasserbetriebe) an das Deponiesickerwasser adaptiert.

2.3 Reaktortypen und -komponenten

Für die Behandlung von Deponiesickerwasser kommen zwei biologische Verfahren zum Einsatz:

- Im **Belebungsverfahren mit integrierter Immobilisierung** (Wirbelschichtreaktor und Rührreaktor) werden die in Form von Belebtschlammflocken vergesellschafteten Mikroorganismen mit dem Abwasserstrom durch die Reinigungsanlage transportiert. Die suspendierte Biomasse wird durch Mikrofiltration vom Abwasser getrennt.
- In **reinen Trägerbiologien** (Festbettreaktor und Tropfkörperreaktor) bewirken die in einem aktiven Biofilm wachsenden Mikroorganismen die Reinigung des Abwassers. Festbettreaktoren sind für Belebtschlamm oder spezielle Pilzkulturen und Tropfkörperreaktoren ausschließlich für spezielle Pilzkulturen vorgesehen.

2.3.1 Festbettreaktor

Im Festbettreaktor sind die Träger, auf denen die Zellen fixiert werden, so eng gepackt, dass bezogen auf das verfügbare Reaktorvolumen, die höchsten Stoffumsatzmengen pro Zeiteinheit möglich sind.⁸⁸ Sie können sowohl von oben als auch von unten angeströmt werden.

⁸⁸ Hartmeier, W.: Immobilisierte Biokatalysatoren; Springer Verlag 1986

Strömt man eine Schüttung von unten an, stellt sich mit zunehmender Strömungsgeschwindigkeit eine steigende Druckdifferenz ein. Steigert sich die Geschwindigkeit weiter, nimmt auch der Druckverlust bis zum so genannten Lockerungspunkt immer mehr zu. Von diesem Punkt an beginnt sich eine Wirbelschicht auszubilden, d.h., die Schüttung befindet sich in Schwebelage. Ein von oben angeströmtes Bett hat den Vorteil, dass es nicht gelockert wird.

Durch die Fixierung der Biomasse auf Immobilisierungskörpern in einem Festbett erübrigt sich die Trennung des Abwasserstroms von der Biologie durch eine nachgeschaltete Mikrofiltration oder Sedimentation. Organismen mit langsamen Wachstumsraten (Stufe 1: Nitrifikanten, Stufe 2: Bakterien oder Pilze mit Potential für die Degradation von refraktären Stoffen) haben die Chance, sich im System unabhängig von der Verweilzeit des Abwassers zu etablieren. Das Schlammalter ist im Prinzip unbegrenzt.

Der Zustrom des Abwassers erfolgt von unten und steigt durch das durch Siebe fixierte Festbett nach oben.

Die Anbringung eines Belüftungsrings unterhalb des Festbetts optimiert in aeroben Reaktoren die Durchmischung des Abwassers. In anaeroben Fermentern bewirkt eine zusätzliche Kreislaufführung von oben nach unten eine ausreichende Kontaktzeit der Biomasse mit Abwasser.

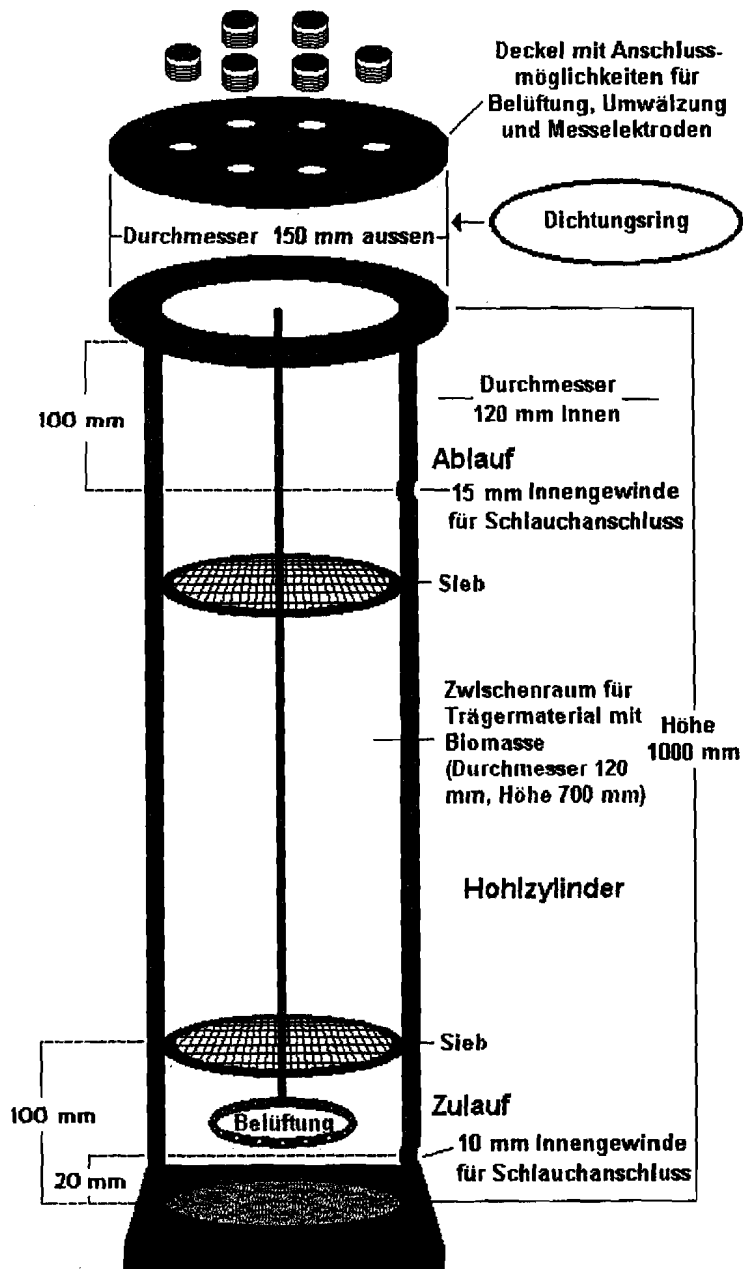


Abbildung 9: Festbettreaktormodul für die Laborkläranlage (Entwurf: Arens, Umsetzung: Posorski)

2.3.2 Wirbelschichtreaktor

Im Wirbelschichtreaktor wird die Ausbildung einer Wirbelschicht durch Konstruktionen mit großem Verhältnis von Durchmesser zu Höhe, durch eingebaute Schikanen, durch hohen Gaseintrag oder durch gasfreisetzende Reaktionen begünstigt. Die lose eingesetzten Immobilisierungskörper zur Fixierung der Biomasse werden in Schwebelage gehalten. Ansonsten ist der Reaktor baugleich mit einem Suspensionsreaktor und wird analog reguliert.

2.3.3 Rühr- oder Suspensionsreaktor

Kennzeichnend für den Rührreaktor ist, dass durch hohe Rührerleistungen schnelle Durchmischungen und hohe Sauerstoffübergangsleistungen erreicht werden können. Die dabei auftretenden hohen Scherkräfte können zu starken Belastungen und Abrieb der Biomasse führen. Die hier verwendeten Suspensionsreaktoren enthalten zur Erweiterung des Spektrums an ökologischen Nischen Behälter mit integrierten Immobilisierungskörpern.

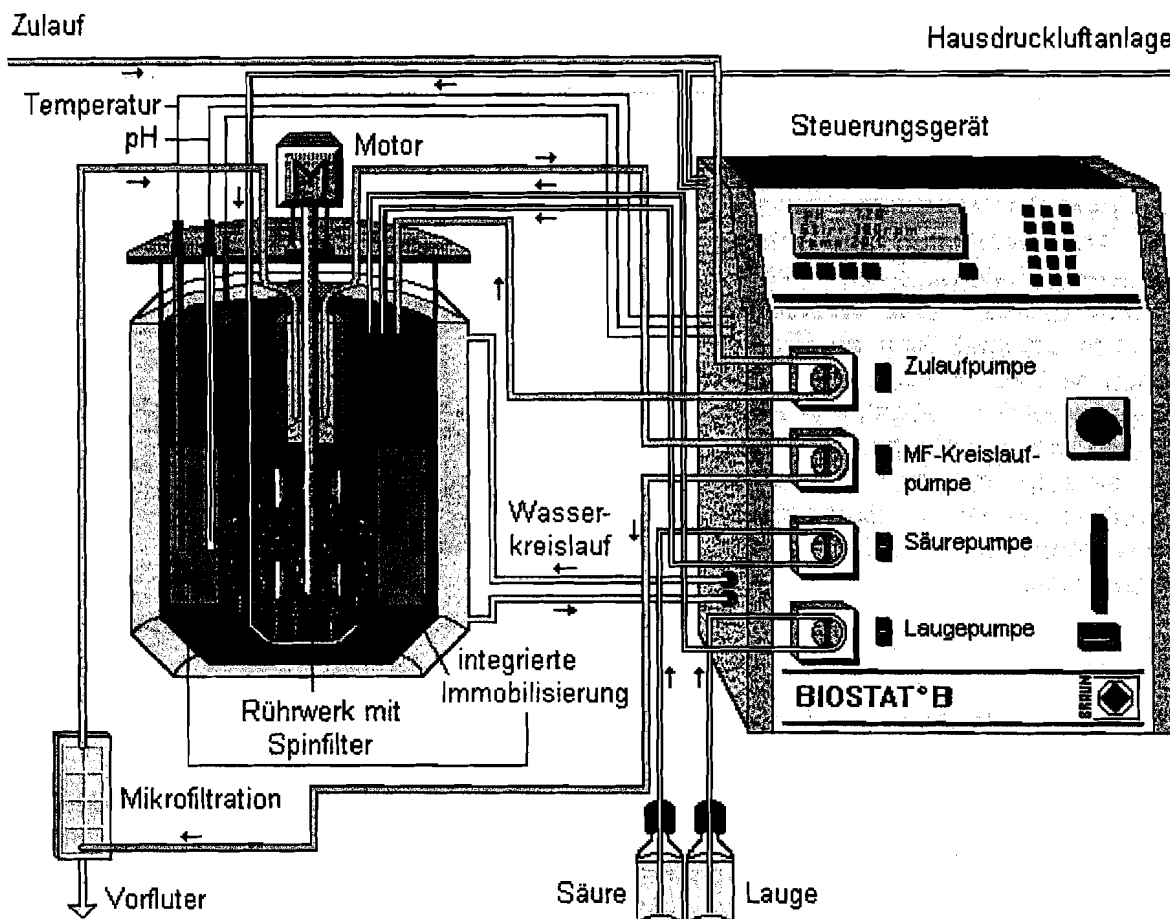


Abbildung 10: Aufbau und Steuerung eines Rührreaktors

Durch *Biostat-B*[®]-Steuerungsgeräte können die äußeren Bedingungen konstant gehalten werden:

- Temperatur: Fermenter-Doppelmantel mit Wasserkreislauf und Thermostat, Regulierung über Temperatursonde
- pH-Wert: Elektroden abhängige Zudosierung von Natronlauge und Salzsäure
- Belüftung: Hausdruckluftanlage, Messung des Sauerstoffpartialdrucks, Durchflusssteuerung

Die Rühr- und Wirbelschichtreaktoren sind durch ein Mikrofiltrationssystem begrenzt (siehe unten).

2.3.4 Tropfkörperreaktor

Zur Simulation einer weitergehenden Deponiesickerwasserreinigung durch Braun- bzw. Weißfäulepilze wird ein Tropfkörperreaktor nach folgendem Schema konzipiert (siehe Abbildung).

Das NF-Konzentrat wird über zwei Stränge in den Reaktor geleitet und durch Nebeldüsen über rotierende Siebe versprüht. Die Siebe enthalten Rindenmulch als Trägermaterial für Pilzkulturen. Die Pilzkulturen mit den besten Abbaureisultaten aus vorangegangenen Batchversuchen kommen zum Einsatz. Das versprühte Konzentrat sammelt sich am Reaktorboden, von wo es über eine Pumpe niveaureguliert abgeführt wird. Zusätzlich wird das Konzentrat durch eine Kreislaufpumpe zum Zulaufsystem zurückgepumpt, um die Kontaktzeit des Konzentrats mit den Pilzkulturen zu erhöhen.

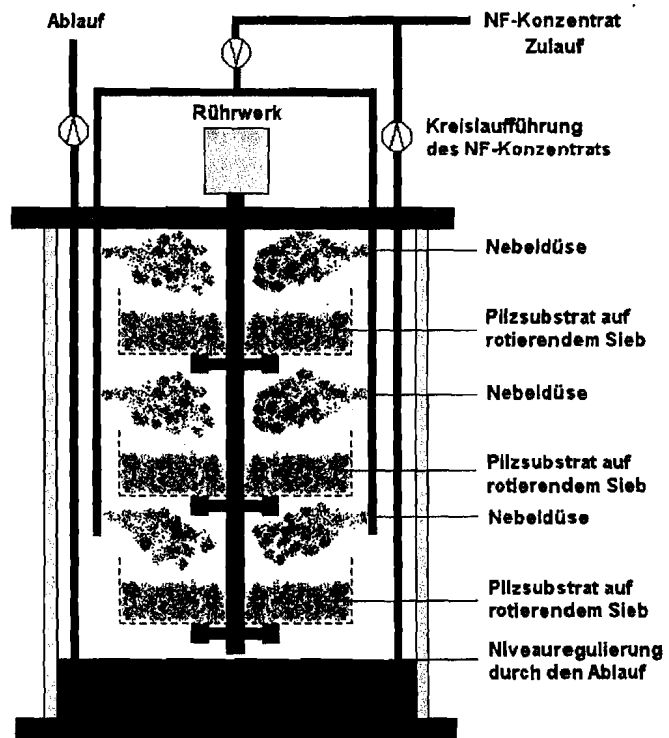


Abbildung 11: Prototyp eines Pilz-Tropfkörper-Reaktors.

2.3.5 Immobilisierungskörper zur Fixierung von Mikroorganismen

Die Abbauleistungen der spezifisch adaptierten Mikroorganismen (Belebtschlamm oder gezüchtete Mischkulturen) können durch Immobilisierung optimiert werden (siehe Einleitung). Die Polyurethan-Schaumstoffwürfel kommen in allen Reaktoren zum Einsatz (Reaktorkonfigurationen siehe vorangegangene Abschnitte).

Tabelle 5: Kenndaten der Immobilisierungskörper

Material	Polyurethan
Form	Würfel
Abmessungen	10 mm ³
Porenvolumen	95 %
Porosität	45 ppi
Dichte	16 kg/m ³
Temperaturbeständigkeit	-35°C bis +130°C
Beständigkeit gegen NaOH:	gut
Beständigkeit gegen HCl	gut
Mechanische Eigenschaften	gut
Hohe Beständigkeit gegenüber	Ozon, Witterung und Alterung

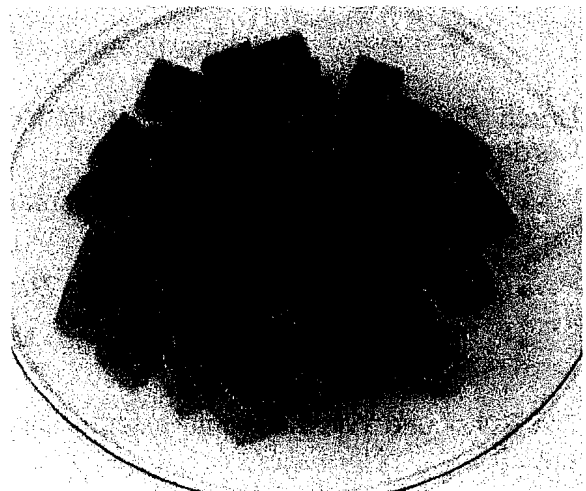


Abbildung 12: Polyurethan-Schaumstoffwürfel zur Biomasse-Immobilisierung in den Laborkläranlagen

Pilze, die zur Degradation refraktärer Stoffe in der Biostufe 2 eingesetzt werden, werden auf verschiedenen Substraten wie Polyurethan (siehe oben) oder Rindenmulch (rechts) immobilisiert. Mit Hilfe von Analysesieben (*Retsch*, Haan, Deutschland) mit Maschenweiten von 7, 4 und 2 mm wird der Rindenmulch nach und nach fein gesiebt.

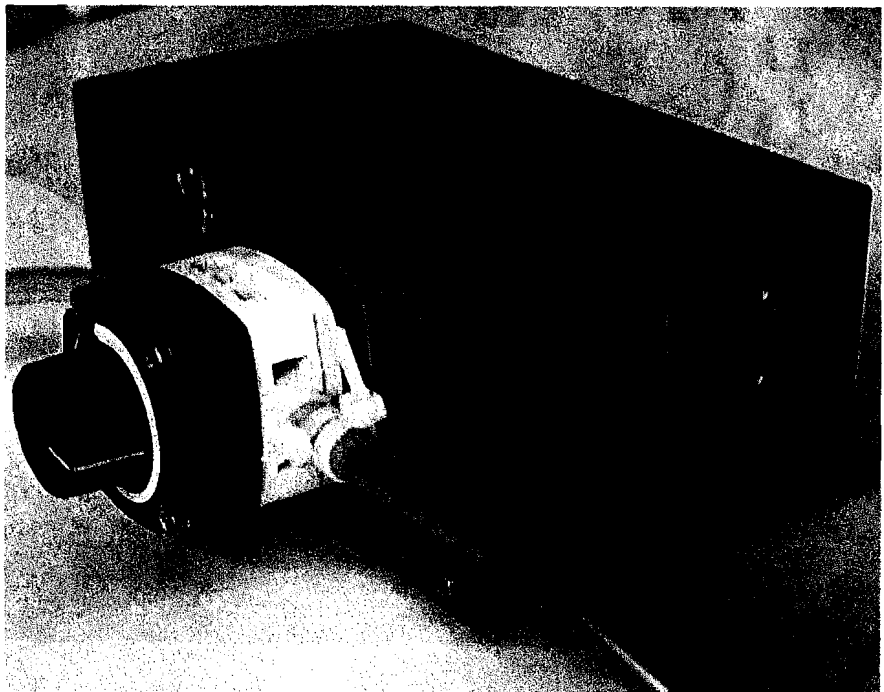
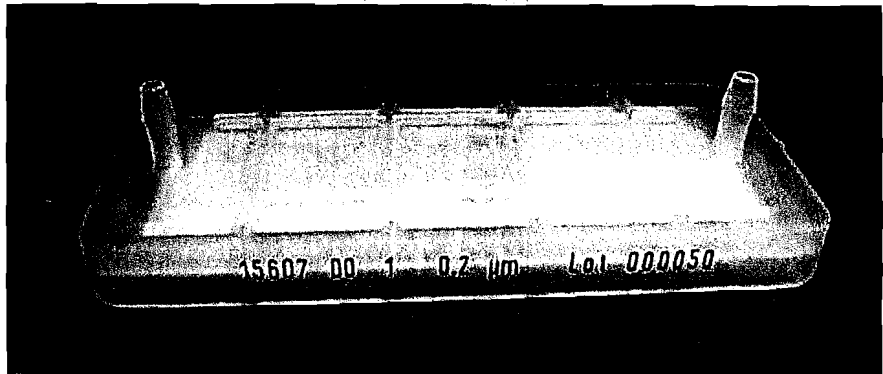


Abbildung 13: Rindnemulch zur Pilz-Immobilisierung in der Biostufe 2.

2.4 Filtrationssysteme für die Laborkläranlage

2.4.1 Mikrofiltration

Zur Abtrennung der Biomasse werden die Abwässer aus den Rühr- und Wirbelschichtreaktoren mit Membranpumpen vom Typ *Liquiport*[®] ND 100 (0,2 – 1 l/min., 1 bar, KNF Flodos, Sursee Schweiz) zu Crossflow-Mikrofiltrationsmembranen (*Sartocor*[®] *Micro*, 15607-00-1 aus Polysulfon, Filterfläche 50 cm², Porengröße 0,2 µm, Permeatleistung: ca. 1 – 1,5 l/d, Arbeitsdruck 1 bar, Sartorius, Göttingen) weitergeleitet.



Abbildungen 14 (oben) und 15 (rechts): Mikrofiltrationsmembran *Sartocor*[®]-*Micro* und KNF-Dosierpumpe *Liquiport*[®] (Fotos: Arens 2003).

2.4.2 Nanofiltration

Durch Nanofiltration sollen die Reststoffe des in der ersten Biostufe vorbehandelten Depo-
niesickerwassers aufkonzentriert und einer weitgehenden Reinigung zugeführt werden.

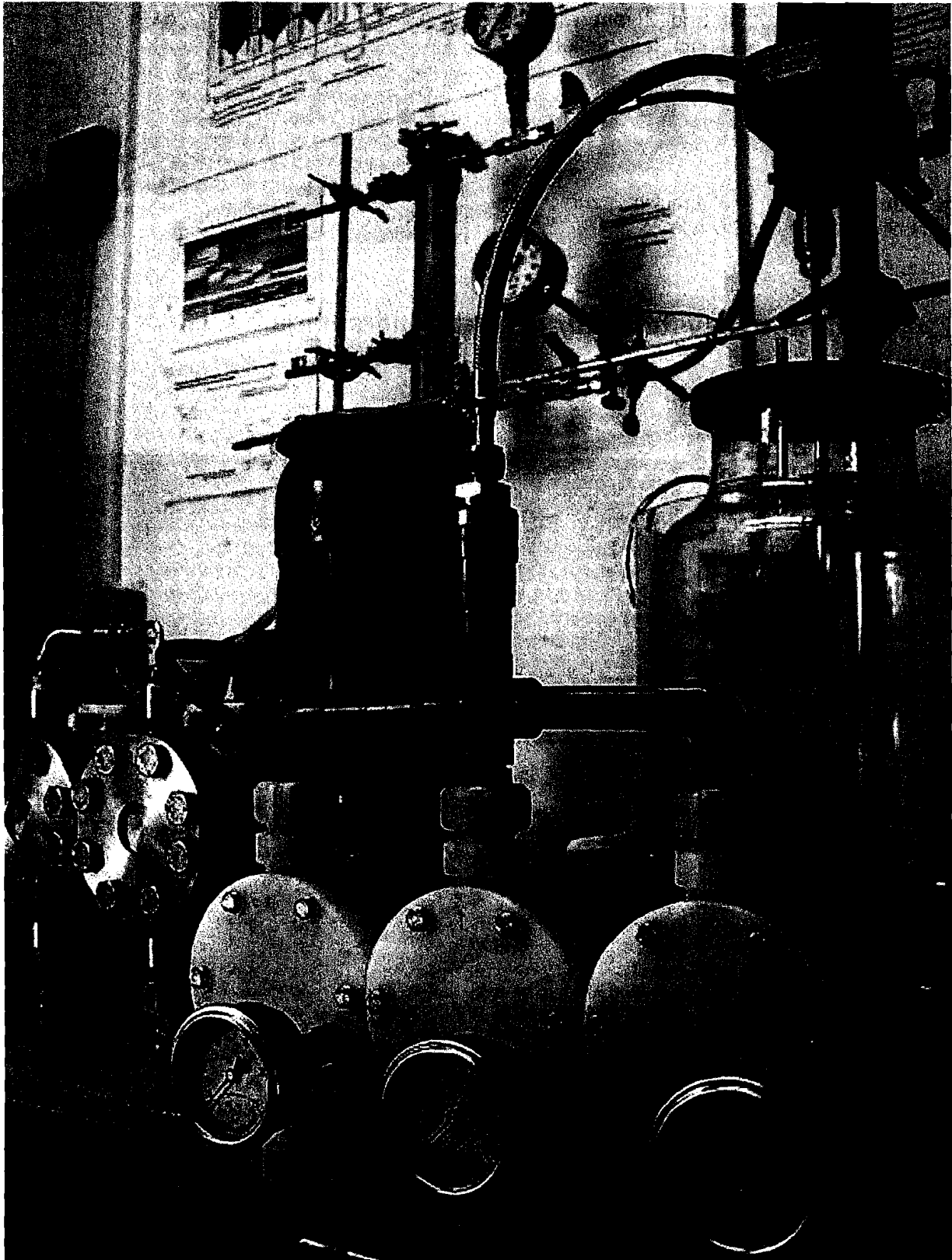


Abbildung 16: Nanofiltrationsanlage - LEWA ecodos® 90 triplex (im Vordergrund) und Millipore Helicon™ Modul Typ RO-4 mit Nanomax-50™ Membran (im Hintergrund oben, Foto: Arens 2003.).

Die Nanofiltrationsanlage (*Helicon™* Modul Typ RO-4 mit *Nanomax-50™* Membran, *Millipore*, Bedford USA) wird mit einer Dreifach-Membranpumpe *LEWA ecodos® 90* (LEWA Herbert Ott GmbH & Co. KG, Leonberg) betrieben. Die um 120° versetzten Wellen der drei regulierbaren 90-Liter-Pumpenköpfe erlauben eine kontinuierliche Überströmung der Nanofiltrationsmembran von optimalen 240 l/h bei einem Transmembrandruck von 6 bis 8 bar. Die Regulation erfolgt über die Pumpe sowie über die den Modulein- und -ausgang begrenzenden Kugelventile und Manometer.

Das *Helicon™* RO-4-Modul nach ISO 9000 besteht aus Edelstahl und hat eine Länge von 30,5 cm sowie einen Durchmesser von 4,6 cm. Über TriClamp-Anschlüsse ist das Modul auf der Zustrom- und Retentatseite mit Manometern (EN 837-1) verbunden.

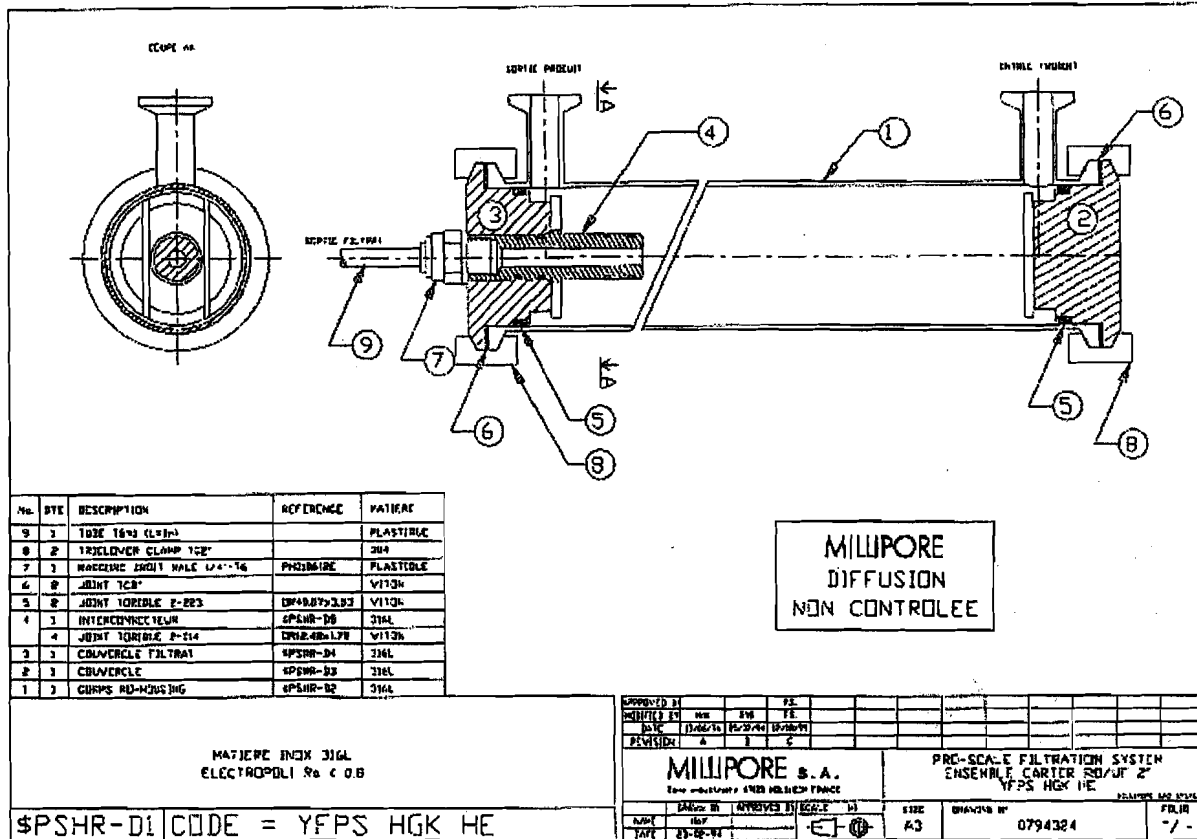


Abbildung 17: Aufbau des *Helicon™* Moduls nach *Millipore*

Tabelle 6: Betriebsbedingungen des *Helicon™* Moduls mit *Nanomax50™* Membran

Empfohlener Transmembrandruck:	4,8 – 27,4 bar
Empfohlene Zufussrate:	240 l/h
Retentatfluss:	60 l/h
Maximaler Druckabfall:	0,27 bar
Maximaler Transmembrandruck:	41 bar
Maximaler transmembraner Umkehrdruck:	0,3 bar
Langzeit-Betriebstemperatur:	4 – 50°C
pH-Wert bei Langzeitbelastung durch den Zufuhrstrom:	pH 4 – 10
pH-Wert während der Reinigung bei 40°C (max. 360 h):	pH 2 – 4 und 10 – 11

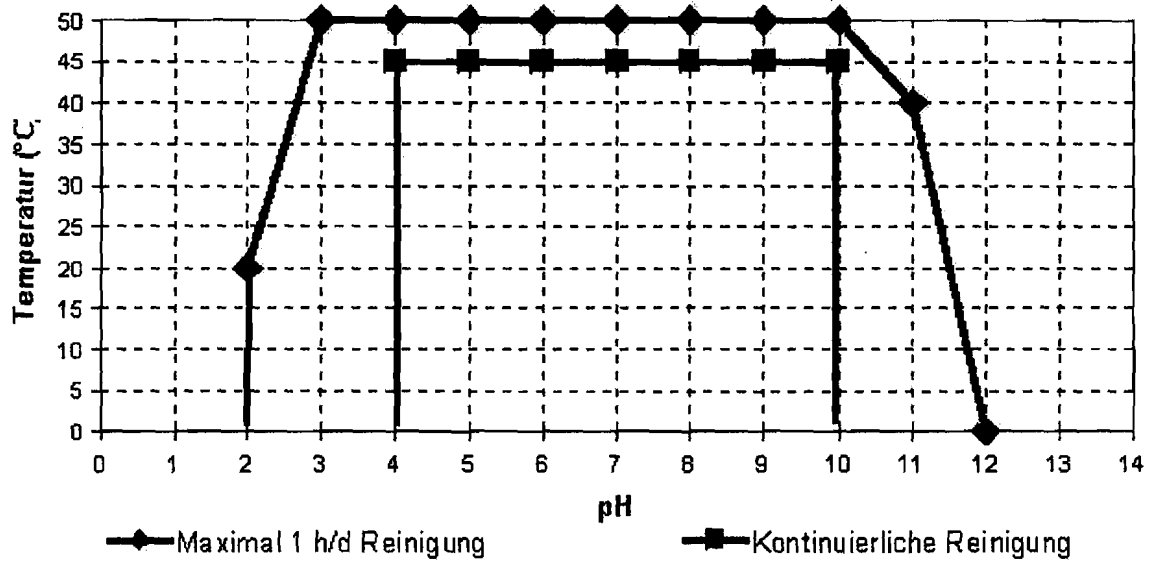


Abbildung 18: Leistungsmerkmale eines *Helicon*-Moduls

Die *Nanomax50™* Membran ist ein Spiralwickelmodul mit einer Filterfläche von 0,4 m².

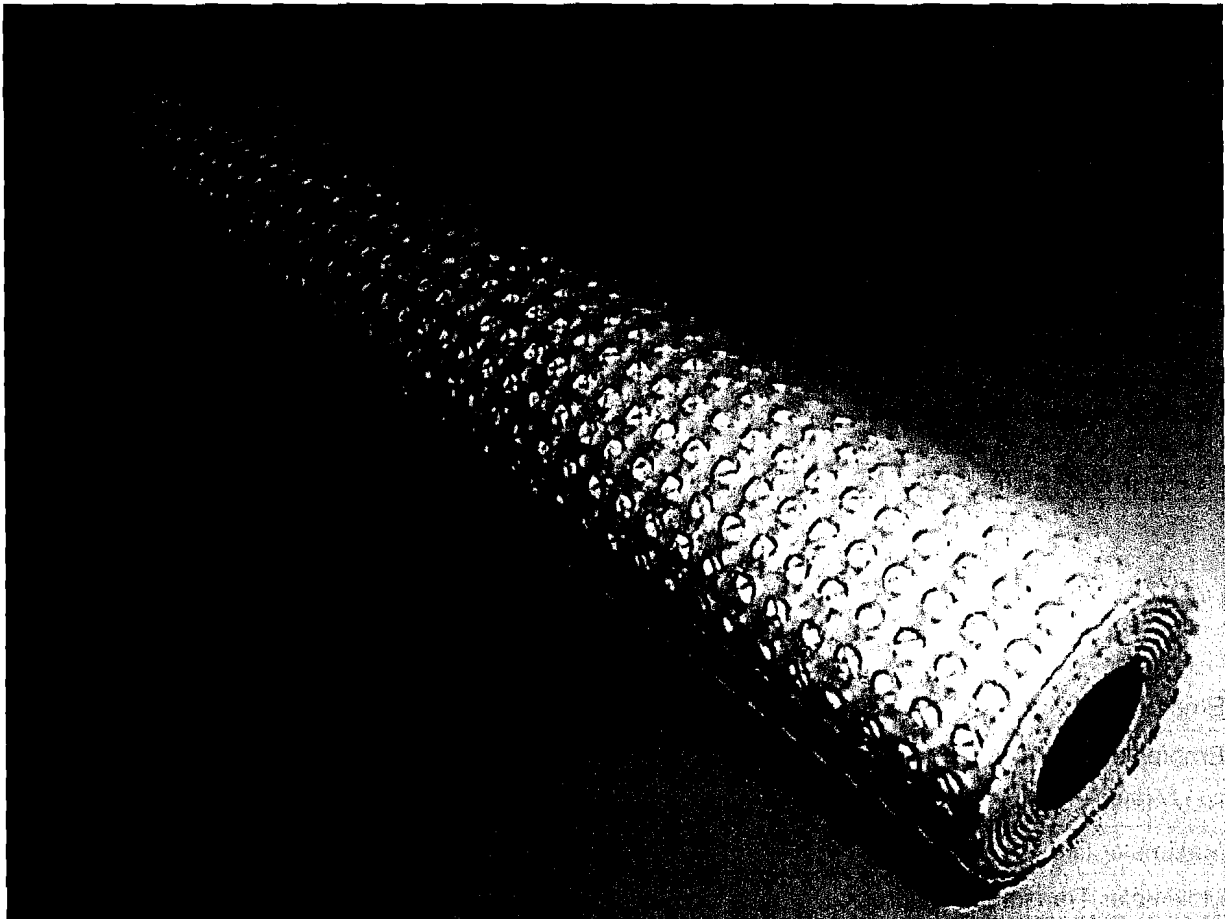


Abbildung 19: *Nanomax50™* Membran (Foto: Arens 2003).

Tabelle 7: Materialien der Nanomax50™Membran

Membran		Polyamid
Äußere Hülle		Polypropylen
Separatoren	Retentat Permeat	Polypropylen epoxidharzbeschichtetes Polyester
Kern, Interkonnectoradapter, Anti-Teleskop-Scheiben		Polysulfon
Kleber		Urethan
Verstärkung		Polypropylen
O-Ringe		Buna N

Tabelle 8: Typische Retention einer Nanomax50™Membran

NaCl	1000 mg/l bei 7 bar	65 %
MgSO ₄	2000 mg/l bei 7 bar	96 %
Glucose (180 Da)	1000 mg/l bei 7 bar	80 %
Saccharose (342 Da)	1000 mg/l bei 7 bar	97 %
Penicillin G (334 Da)	1 % in Wasser bei 7 bar	99,5 %
Penicillin G	0,5 % in 50 % Ethanol bei 14 bar	99,5 %

Trenngrenze organische Stoffe: ≈ 350 Dalton (Da)⁸⁹

Vor dem Integritätstest sollte die Leitfähigkeit des Zulaufwassers ermittelt werden. Der Zulaufbehälter wird mit der entsprechenden Salzlösung gefüllt. Durch langsames Hochfahren der Pumpe wird zunächst die Luft aus dem Gehäuse entfernt. Permeat- und Retentatstrom werden in den Zulauftank zurückgeführt. Nach Erhöhung des Transmembrandrucks auf 7 bar werden die Flussraten nach der folgenden Tabelle eingestellt.

Tabelle 9: Integritätstest

Testbedingungen	Nanomax 50
Zulaufwasser	2000 mg/l MgSO ₄
Temperatur	25 °C
Transmembrandruck	7 bar
Rückhalt	≥ 96 %
Zuflussrate	3 l/min
Retentatfluss	0,8 l/min
Maximaler Druckabfall	0,27 bar

Zeit, Druck, Temperatur und Flussraten des Zulaufs und des Permeats werden in Intervallen von 10 min. notiert. Die Leitfähigkeit von Zulauf und Permeat wird solange alle 10 min. abgelesen, bis zwei Proben maximal ± 3 % voneinander abweichen. Der Salzurückhalt wird berechnet. Die Salzkonzentration ist keine lineare Funktion der Leitfähigkeit und umgekehrt. Es muss sichergestellt sein, dass eine Eichkurve der Salzkonzentration gegen die Leitfähigkeit erstellt wird, für 0 – 2000 mg/l Salzlösungen mit dem aktuell verwendeten Zulaufwasser. Der

⁸⁹ 1 Da = $1,6605655 \times 10^{-24}$ g ($^{1/12}$ Masse eines neutralen ¹²C-Atoms)

Test wird solange wiederholt, bis die Salzkonzentrationen in einem akzeptablen Bereich liegen.

Zur Gewinnung von NF-Konzentrat wird der Zulauf tank mit dem in der Biostufe 1 vorbehandeltem Sickerwasser befüllt. Die Prozedur beginnt durch Hochfahren der Pumpe bei geöffneten Ventilen, um die Luft aus dem Membrangehäuse zu entfernen. Retentat- und Permeatstrom werden bis zum Erreichen eines stabilen Betriebszustandes in den Zulaufbehälter zurückgeleitet. Nach Entfernen der Luft wird der gewünschte Betriebsdruck von 6 bis 8 bar eingestellt und der Permeatstrom in einen Ablaufbehälter geleitet.

Pflege wird erforderlich, wenn Biofouling auftritt oder das System länger als eine Woche außer Betrieb genommen wird. Die Bakterienzellzahl im Permeat und Retentat kann dann signifikant ansteigen. An den Rohrrinnenwänden und den Druckbehältern bilden sich schleimige Ablagerungen. Die Membran wird zunächst mit VE-Wasser (vollentsalztes Wasser) oder Permeat vorgespült und gründlich entwässert. Alkalische Lösungen entfernen Proteine, Polysaccharide und Lipide. Laugen mit einem pH von 11 töten bei 25°C – 40°C über 60 min. viele Bakterien, aber keine Sporen ab. Biofouling kann so auf den *Nanomax*-Membranen größtenteils entfernt und die Keimzahl gesenkt werden. Bei der Verwendung einer alkalischen Reinigungslösung darf ein pH-Wert von 11 nicht überschritten werden. Die Aufkonzentrierung durch den Retentatstrom muss berücksichtigt werden. Tenside und Komplexbildner können Biofilme, Öle und andere fettlösliche Organika entfernen. Die vollständige Entfernung dieser Mittel nach der Reinigung ist schwierig.

Wenn der Salzgehalt des Permeats spürbar steigt oder der Zulaufdruck signifikant um 10 % bis 15 % abfällt, muss das System gereinigt werden. Saure Lösungen entfernen anorganische Ablagerungen (Scaling durch Calcium, Eisen, Magnesiumsalze, Metalloxide und Nukleinsäuren). Phosphorsäure mit einem pH von 2 – 3 inhibiert das Wachstum vieler Bakterien, aber nicht von Pilzen und Hefen. Säuren begünstigen die Fällung von Biomasse, so dass Säuren erst nach Entfernen von Biofouling auf der Membran eingesetzt werden. Bei pH 2 sollte die Temperatur 25°C, bei pH 3 45°C für einen Zeitraum von 60 min. nicht übersteigen. Die Aufkonzentrierung durch den Retentatstrom muss berücksichtigt werden.

Zur Konservierung wird 0,1%-ige Natriumdisulfit-Lösung verwendet. Bei der Bereitung der Lösung muss das Wasservolumen in den Rohrleitungen, Schläuchen und Druckbehältern einkalkuliert werden. Die Natriumdisulfit-Lösung wird 1 h im Kreis gefahren. Wenn die Maßnahmen abgeschlossen sind, den Inhalt des Reinigungsbehälters verwerfen. Zur Konservierung der Membran verbleibt die Natriumdisulfit-Lösung im System. Wenn die Membran wieder in Betrieb genommen wird, sollte die Membran für 1 h gespült werden, um das verbliebene Pflegemittel zu entfernen.

Tabelle 10: Erprobte Reinigungs- und Pflegemittel für die Nanofiltrationsmembran

Ablagerung	Mittel
Mineralien	HCl, pH 2
Calcium	Zitronensäure, pH 2
Barium	Phosphorsäure, pH 2
Strontiumsalze	Sulfonsäure, pH 2
Eisen oder Mangan	<i>Pfizer</i> IPA 403
Organische Verbindungen	NaOH, pH 11
Schlamm	0,5 % NaOH + 0,1 % SDS, mit HCl auf pH 11 eingestellt
Bakterielle Kolloide	1 % Trinatriumphosphat + 1 % Natriumtripolyphosphat + 0,1 % SDS + 1 % Na ₄ -EDTA, mit HCl auf pH 11 eingestellt <i>Pfizer</i> IPA 411
Konservierung (Schutz vor Bakterien)	0,1% Natriumdisulfit

2.5 Auslegung der Laborkläranlage zur Behandlung von Schön-eicher Rohsickerwasser

2.5.1 Sickerwasservorlage

Durch kontinuierliches, langsames Umrühren des Sickerwassers im Zulaufbehälter werden Partikel, die nach längeren Standzeiten bei Raumtemperatur ausfallen, in Schwebelage gehalten und den Bioreaktoren zugeführt. Fäulnisprozesse werden durch den Lufteintrag reduziert.

2.5.2 Ausgangskonfiguration der Biostufe 1 inklusive Filtration

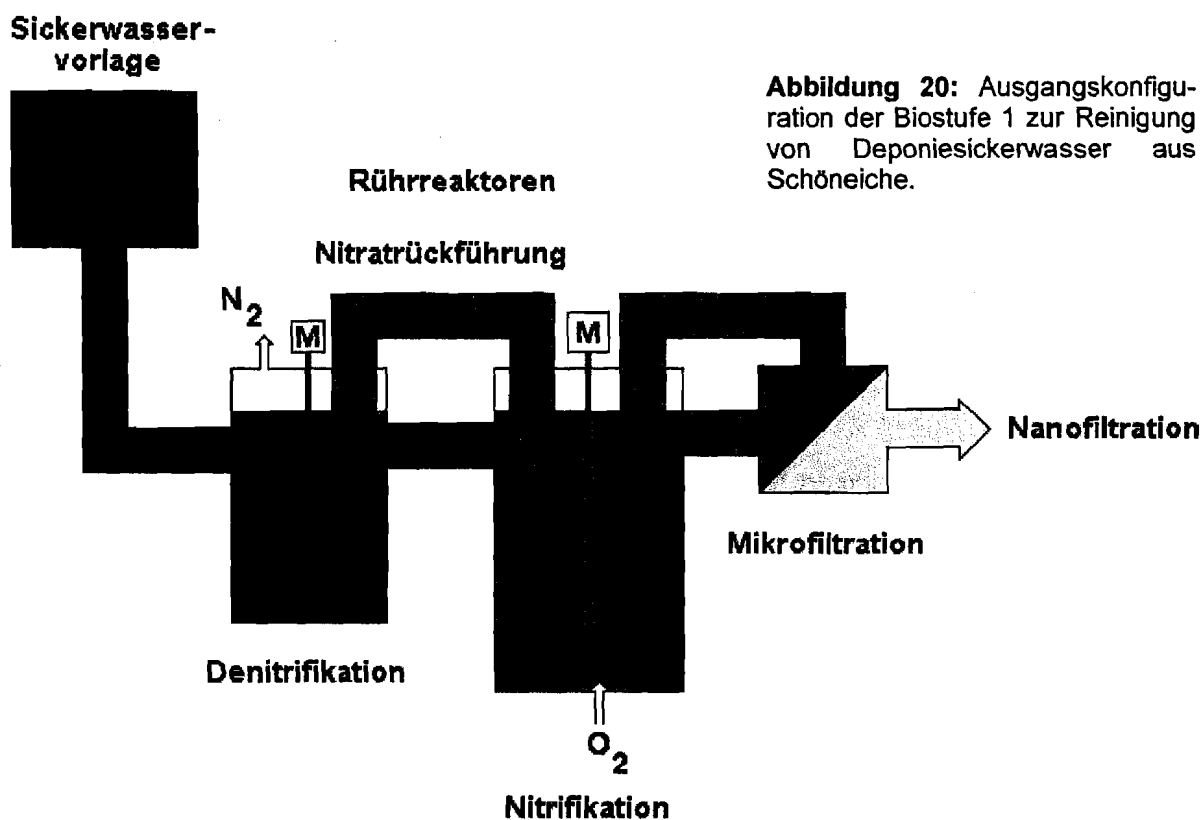


Abbildung 20: Ausgangskonfiguration der Biostufe 1 zur Reinigung von Deponiesickerwasser aus Schöneiche.

Zur beschleunigten Besiedlung der ersten Biostufe kann kommunaler Belebtschlamm aus der Schlammrückführung des Berliner Klärwerks Ruhleben durch die stufenweise Umstellung des Zulaufs von kommunalem Abwasser auf Rohsickerwasser adaptiert werden. Durch die Zufuhr des Sickerwassers werden nach und nach auch standorteigene Mikroorganismen etabliert. Die äußeren Bedingungen in den *Biostat-B*[®]-Laborkläranlagen (B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen) werden möglichst konstant gehalten. Die Durchflussrate beträgt 1 l Sickerwasser pro Tag. Leitfähigkeitselektroden regulieren den Zustrom und dadurch die Reaktorfüllstände.

Da die denitrifizierenden Bakterien Kohlenstoff für die Nitratreduktion benötigen, wird das Sickerwasser zunächst über einen unbelüfteten Rührreaktor für die Denitrifikation (Volumen: 5 Liter) geleitet, um die Sickerwasserinhaltsstoffe als Kohlenstoffquelle zu nutzen. Das Nitrat wird aus dem nachgeschalteten Nitrifikationsreaktor in den unbelüfteten Fermenter zurückgepumpt (1 l/d Abwasser). Durch eine Rührgeschwindigkeit von 100 rpm (rounds per minute) kann der entstehende molekulare Stickstoff entweichen (Reduktion von Schwimmschlamm). Poröse Keramikblöcke (2 x 1 x 2 cm³) sind als Immobilisierungskörper in einem Maschen-

drahtzylinder im Reaktor integriert, um das Spektrum ökologischer Nischen für Denitrifikanten zu erweitern.

Zum Nitrifikationsreaktor (aerober Rührreaktor, Volumen: 10 Liter) werden 2 bis 2,5 Liter Sickerwasser pro Tag niveaureguliert geleitet. Hier findet die Oxidation von Ammonium zu Nitrat und der oxidative Abbau der organischen Verbindungen statt. Der Reaktor wird belüftet (2 l/min.) und mit 220 rpm gerührt. Die Reaktortemperatur wird über einen Wasserkreislauf (Fermenter-Doppelmantel) auf 20 °C und ein pH-Wert von 7 durch eine automatisierte Titration eingestellt. Die Dosierpumpen für 0,5 M NaOH und 0,5 M HCl werden über eine pH-Elektrode reguliert. Zur Habitaterweiterung aerober und fakultativer Abbauspezialisten werden Polyurethan-Schaumstoffwürfel als Immobilisierungskörper in zwei perforierte Kunststoffbehälter gegeben und im Reaktor fixiert.

Das Abwasser des Nitrifikationsreaktors wird über eine *Liquiport*[®]-Membranpumpe mit einer *Sartocoon*[®]-Micro-Filtrationsanlage filtriert. Die Mikrofiltration (MF) ist so eingestellt, dass die Überströmung der Membran mit 1 l/min bei 2 bar ca. 1 bis 1,5 Liter Permeat pro Tag ergibt (siehe Filtrationssysteme).

Das gesammelte MF-Permeat wird mit einer Dreifach-Membranpumpe *LEWA ecodos*[®] 90 über ein *Helicon*[™]Nanofiltrationsmodul Typ RO-4 mit einer *Nanomax-50*[™]Membran aufkonzentriert (siehe Filtrationssysteme für die Laborkläranlage).

2.5.3 Erster Umbau der Biostufe 1

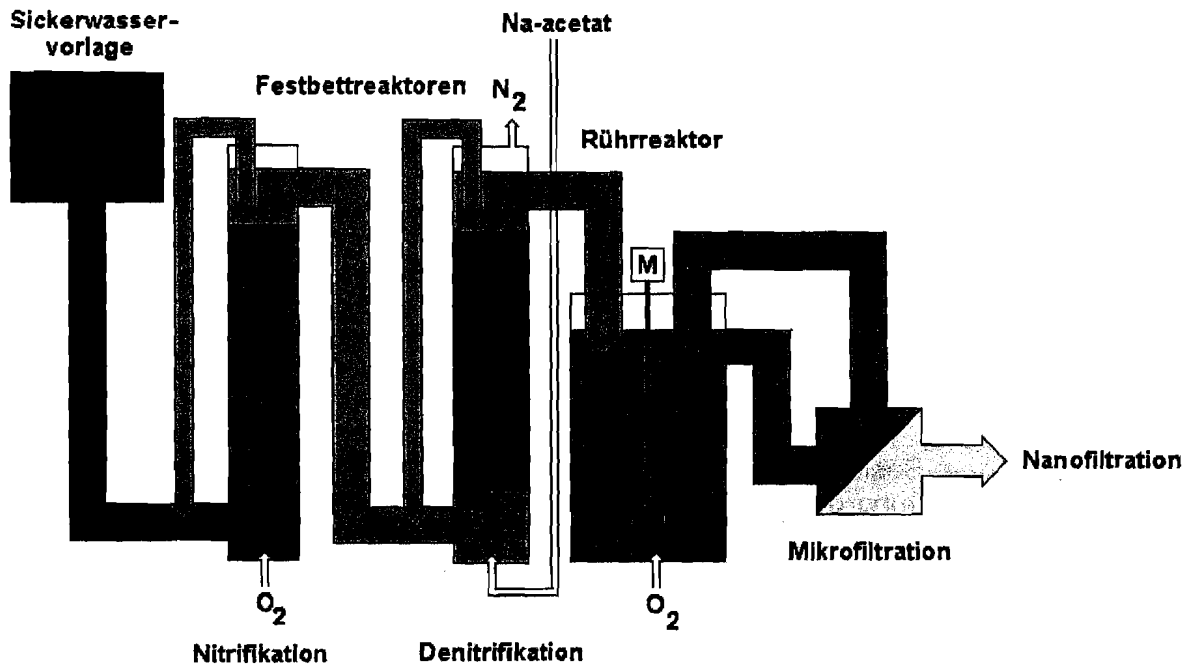


Abbildung 21: Erster Umbau der Biostufe 1 zur Schöneicher Sickerwassereinigung.

Zur Steigerung des Stickstoffumsatzes sind nach ersten Versuchsläufen Umbaumaßnahmen in der ersten Biostufe erforderlich. Die Nitratrückführung der Ausgangskonfiguration kann nicht verhindern, dass permanent ein Teil des Nitrats die Anlage über den Ablauf verlässt. Der im Sickerwasser enthaltene Kohlenstoff ist nur eingeschränkt für die Denitrifikanten verwertbar. Da Kohlenstoff zudosiert werden muss, kann die Denitrifikation genauso gut nachgeschaltet sein.

Die extrem langsamen Wachstumsraten der ammoniakoxidierenden Bakterien (Generationszeiten von 8 bis 24 h) erfordern ein hohes Schlammalter. Dies wird durch die Immobilisierung der Nitrifikanten in einem vorgeschalteten Festbettreaktor gewährleistet. Nitrifikanten bevorzugen ein pH-Optimum von 7,5 bis 8,0 (entspricht in etwa dem pH des Rohsickerwassers). Durch die Belüftung von unten und eine zusätzliche Kreislaufführung (ca. 1 l/min.) mit einer Membranpumpe (*Liquiport* 0,2 – 1 l/min., 1 bar, KNF Neuberger) wird das Abwasser optimal verwirbelt.

Das gebildete Nitrat wandert in ein unbelüftetes Denitrifikationsfestbett, wo es unter Zugabe einer Kohlenstoffquelle eliminiert werden soll. Als Kohlenstoffquelle dient 0,25 M Natriumacetat (pH 8,25), das im Gegensatz zur Essigsäure die saure Nitrifikationsreaktion (pH 5,5) puffert und nicht wie Methanol die Immobilisierungskörper aus Polyurethan angreift. In Intervallen von 4 Stunden werden mit Hilfe einer zeitgesteuerten Pumpe 25 ml Natriumacetat in den Denitrifikationsreaktor eingeleitet (150 ml/d). Durch eine Umwälzpumpe wird auch in diesem Reaktor das Sickerwasser zusätzlich im Kreis geführt, um die Bakterien optimal zu versorgen.

Der nachfolgende *Biostat-B[®]*-Rührreaktor hat aufgrund der integrierten Immobilisierungskörper aerobe und anoxische Zonen. Neben überschüssigem Natriumacetat sollen die organischen Inhaltsstoffe des Deponiesickerwassers weiter degradiert werden.

2.5.4 Zweiter Umbau der Biostufe 1

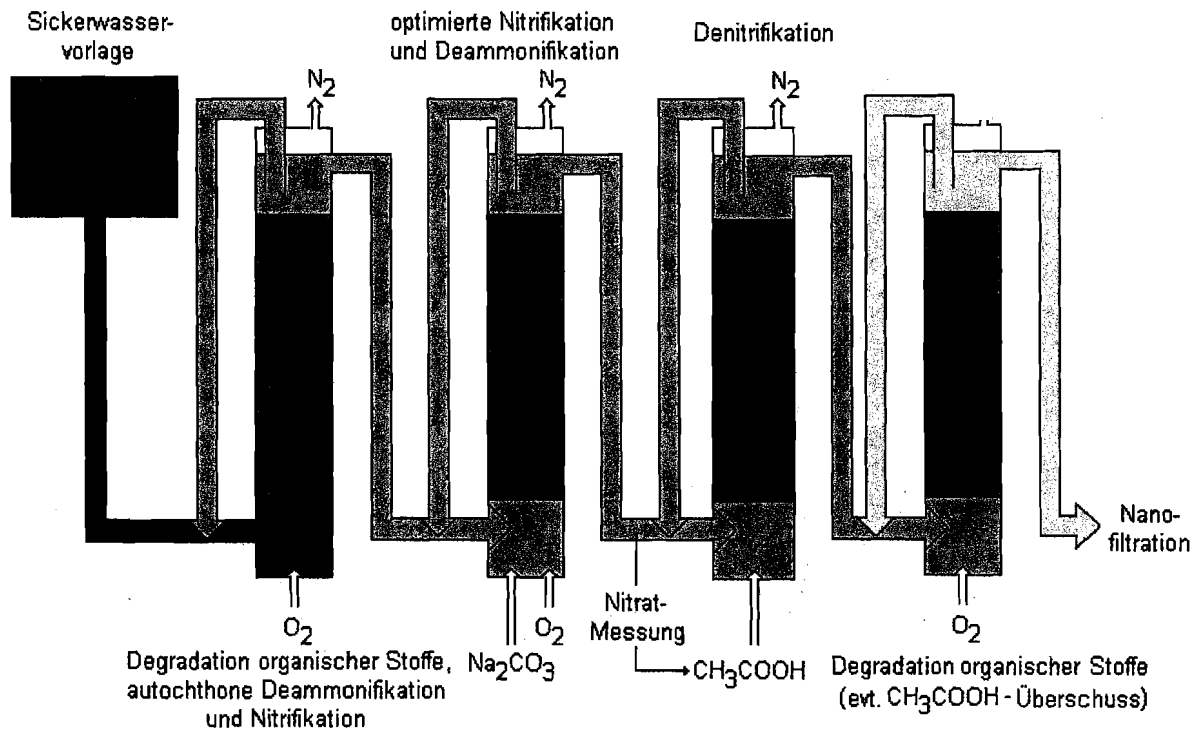


Abbildung 22: Optimierte Konfiguration der Biostufe 1 zur Schöneicher Sickerwassereinigung.

In einer zweiten Umbaumaßnahme wird vor einer aeroben Ammonium-Oxidationsstufe ein aerobes Festbett zur bakteriellen Degradation organischer Verbindungen geschaltet, um den autotrophen Bakterien bessere Wachstumsbedingungen zu gewähren.. Der Reaktor zur Ammonium-Oxidation ist lichtgeschützt, und die Bakterien werden mit 0,1 M Sodalösung (Na_2CO_3) als anorganische Kohlenstoffquelle versorgt. Der Natriumcarbonat-Puffer (pH 11) neutralisiert die Salpeterbildung (gelöstes Nitrat). Durch die Sodatitration kann der anaerobe Denitrifikationsreaktor mit Essigsäure als organischer Kohlenstoffquelle versorgt werden. Der

Rührreaktor wird durch ein aerobes Festbett zum weiteren bakteriellen Abbau organischer Stoffe ersetzt. Auf eine Mikrofiltration als Abschluss der ersten Biostufe kann dann verzichtet werden.



Abbildung 23: Optimierte Konfiguration der Biostufe 1 mit vier in Reihe geschalteten Festbettreaktoren (Bildmitte). Der Rührreaktor links dient zur Anreicherung von Ammoniumoxidierern aus dem Schöneicher Rohsickerwasser, der rechte ist ein Versuchreaktor mit Weißfäulepilzen für die Biostufe 2.

2.5.5 Biostufe 2

Das in Biostufe 1 vorbehandelte Deponiesickerwasser wird durch Nanofiltration in zwei Teilströme getrennt. Das Filtrat wird in den Vorfluter geleitet, während das Konzentrat in einer zweiten Reinigungsstufe nachbehandelt werden muss.

Drei Anlagenvarianten zur bakteriellen Behandlung der schwer abbaubaren Stoffe wurden zunächst von Blum im Rahmen seiner Diplomarbeit⁹⁰ mit Deponiesickerwasser in Betrieb genommen und nach und nach auf das NF-Konzentrat aus der Biostufe 1 umgestellt. Durch die Zufuhr von Rohsickerwasser sollen autochthone Mikroorganismen in den Systemen etabliert werden. Das Ablaufwasser dieser Reaktoren wird in den Vorfluter geleitet.

Außerdem sollen Holz abbauende Pilze zur Entfernung der refraktären Verbindungen getestet werden. Da die Stoffwechselprodukte von Bakterien verwertet werden können, ist hier eine Kreislaufführung zur Biostufe 1 vorgesehen. Bei dieser Konfiguration wird das behandelte Sickerwasser ausschließlich als Filtrat der Nanofiltration in den Vorfluter geleitet.

Die Durchflussrate aller Reaktortypen beträgt jeweils 1 l/d.

Rührreaktor mit Belebtschlamm

Als Rührreaktor wird ein 10-Liter-*Biostat*[®]-Fermenter (B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen) betrieben. Die Temperatur wird über einen Wasserkreislauf (Fermenter-Doppelmantel) auf 20°C eingestellt. Ein pH-Wert von 7 wird durch Zudosierung von 0,5 M NaOH und 0,5 M HCl (mittels pH-Elektrode gesteuert) eingehalten. Für den aeroben Abbau des Sickerwassers wird die Anlage über einen Kompressor belüftet (2 l Luft / min.) und die Rührgeschwindigkeit im Reaktor zunächst auf 220 rpm eingestellt. Um ein möglichst breites Spektrum an Habitaten für mikrobielle Spezialisten zu bieten, werden Trägermaterialien für Biofilme in den Reaktor gegeben. Die Immobilisierungskörper werden in zwei perforierten Kunststoffbehältern im Reaktor fixiert.

Um den Verlust von mikrobiellen Spezialisten auszuschließen, wird durch Mikrofiltration (*Sartocoon*[®]-*Micro*) hinter den Suspensionsreaktoren ein geschlossener Kreislauf für die Bakterien der zweiten Stufe erzeugt.

Wirbelschichtreaktor mit Belebtschlamm

Als Modell für einen Wirbelschichtreaktor steht ein 10-Liter-Fermenter zur Verfügung. Der Wirbelschichtreaktor enthält frei schwebende Polyurethan-Schaumstoffwürfel zur Immobilisierung der Biologie. Das NF-Konzentrat wird in den unteren Bereich des Reaktors eingeleitet. Durch die Luftzufuhr (4 l Luft / min.) von unten wird das NF-Konzentrat und das Trägermaterial verwirbelt. Gegebenenfalls kann ein *IKA*-Rührwerk *RE 162/P* (*Janke & Kunke*) zugeschaltet werden, um die Verwirbelung zu unterstützen. Zur pH-Kontrolle wird ein *Beckmann Zeromatic IV* pH-Meter verwendet. Die Mikrofiltration erfolgt auch hier über eine *Sartorius*-Membran.

Festbettreaktor mit Belebtschlamm

Der Zustrom des NF-Konzentrats erfolgt von unten, und das Konzentrat steigt durch das durch Siebe fixierte Festbett nach oben. Trägermaterial für den Belebtschlamm ist Polyurethan. Ein Belüftungsring unterhalb des Festbetts bewirkt die Durchmischung des Abwassers (2 l/min. Luft). Eine zusätzliche Kreislaufführung mit einer *Liquiport*-Membranpumpe (1 l/min., 1 bar, KNF Neuberger) von oben nach unten optimiert die Kontaktzeit der Biomasse mit dem Abwasser. Um auf eine Mikrofiltration in der zweiten Biostufe zur Rückhaltung der Biomasse verzichten zu können, bietet sich ein aerober 10-Liter-Festbettreaktor als Alternative zum Suspensions- und Wirbelschichtreaktor an. Zur pH-Kontrolle wird ein *Beckmann Zeromatic IV* pH-Meter verwendet.

90 Blum, H.: Mikrobiologischer Abbau vorgereinigter, aufkonzentrierter Deponiesickerwässer in verschiedenen Bioreaktortypen, Diplomarbeit in diesem Projekt, Technische Fachhochschule Berlin, Juni 2000

Festbettreaktor mit speziellen Pilzkulturen

Pilzkulturen, die vorher durchgeführten Batchversuchen das NF-Konzentrat abbauen können, kommen als Mischkultur zum Einsatz. So sollen auch Synergieeffekte unterschiedlicher Stoffwechselwege genutzt werden. Zur Immobilisierung werden alternativ Schaumstoffwürfel und Rindenmulch verwendet. Rindenmulch soll als Substrat für die ligninolytischen Pilze dienen, so dass das NF-Konzentrat als Co-Substrat verwertet wird.

Tropfkörperreaktor mit speziellen Pilzkulturen

Das NF-Konzentrat wird über zwei Stränge in den Reaktor geleitet und durch Nebeldüsen über rotierende Siebe versprüht. Die Siebe enthalten Rindenmulch als Trägermaterial für Pilzkulturen. Das versprühte Konzentrat sammelt sich am Reaktorboden, von wo es über eine Pumpe niveaureguliert abgeführt wird. Zusätzlich wird das Konzentrat durch eine Kreislaufpumpe zum Zulaufsystem zurückgepumpt, um die Kontaktzeit des Konzentrats mit den Pilzkulturen zu erhöhen.

2.6 Auslegung der Laborkläranlage zur Behandlung von Vorketziner Rohsickerwasser

Für die Gewährleistung eines kontinuierlichen Betriebs wird das Sickerwasser über eine Vorlage in eine kombinierte Biologie geleitet. Durch langsames Umrühren des Sickerwassers im Zulaufbehälter werden Partikel, die nach längeren Standzeiten bei Raumtemperatur ausfällen, in Schwebelage gehalten und den Bioreaktoren zugeführt.

Die äußeren Bedingungen in der *Biostat-B*[®]-Laborkläranlage (B. Braun Biotech International GmbH, Melsungen) werden möglichst konstant gehalten. Die Durchflussrate beträgt 1 bis 1,5 l Sickerwasser pro Tag, der Versuchszeitraum 60 Tage. Eine Leitfähigkeitselektrode reguliert den Zustrom und dadurch den Reaktorfüllstand. Da die denitrifizierenden Bakterien Kohlenstoff für die Nitratreduktion benötigen, wird das Sickerwasser zunächst über einen unbelüfteten Denitrifikationsreaktor (Volumen: 5 Liter) geleitet, um die Sickerwasserinhaltsstoffe als Kohlenstoffquelle zu nutzen. Das Nitrat wird aus dem nachgeschalteten Nitrifikationsreaktor in den unbelüfteten Fermenter zurückgepumpt (1 l/d Abwasser). Durch eine Rührgeschwindigkeit von 100 rpm (rounds per minute) kann der entstehende molekulare Stickstoff entweichen (Reduktion von Schwimmschlamm). Poröse Keramikblöcke (2 x 1 x 2 cm³) sind als Immobilisierungskörper in einem Maschendrahtzylinder im Reaktor integriert, um das Spektrum ökologischer Nischen für Denitrifikanten zu erweitern.

Zum Nitrifikationsreaktor (Volumen: 10 Liter) werden 2 bis 2,5 Liter Sickerwasser pro Tag niveaureguliert geleitet. Hier findet die Oxidation von Ammonium zu Nitrat und der oxidative Abbau der organischen Verbindungen statt. Der Reaktor wird belüftet (2 l/min.) und mit 220 rpm gerührt. Die Reaktortemperatur wird über einen Wasserkreislauf (Fermenter-Doppelmantel) auf 20 °C eingestellt und ein pH-Wert von 7 durch eine automatisierte Titration eingehalten. Die Dosierpumpen für 0,5 M NaOH und 0,5 M HCl werden über eine pH-Elektrode reguliert. Zur Habitaterweiterung aerober und fakultativer Abbauspezialisten werden Polyurethan-Schaumstoffwürfel als Immobilisierungskörper in zwei perforierte Kunststoffbehälter gegeben und im Reaktor fixiert.

Das Abwasser des Nitrifikationsreaktors wird mit einer *Sartocon*[®]-Micro-Filtrationsanlage filtriert. Die Überströmung der MF-Membran mit 1 l/min bei 2 bar ergibt ca. 1 bis 1,5 Liter MF-Permeat pro Tag.

Das gesammelte Abwasser wird über ein Nanofiltrationsmodul aufkonzentriert. Der Großteil des Abwassers wird als NF-Permeat in den Vorfluter geleitet, während der konzentrierte Rest in die Vorlage der Biologie zurückgepumpt wird.

2.7 Schwärzung des Rohsickerwassers in der Vorlage der Modellkläranlage

Nach längerer Standzeit verfärbt sich unter anaeroben Bedingungen Deponiesickerwasser durch die Bildung eines Niederschlags schwarz. Aufgrund des Geruchs nach Schwefelwasserstoff werden sulfatreduzierende Bakterien (Desulfurikanten) als Verursacher vermutet. In der „Sulfat-Atmung“ wird der Substratwasserstoff einer organischen Komponente auf Sulfat als terminaler Elektronenakzeptor übertragen, wobei das Sulfat zu Sulfid reduziert wird:⁹¹



Mit im Sickerwasser gelösten Metallen reagiert Schwefelwasserstoff zu schwerlöslichem, schwarzen Metallsulfiden (Reststoffproblematik), die die Schwarzfärbung des Abwassers bewirken⁹².

Der Nachweis von sulfatreduzierenden Bakterien wird von Baumgardt⁹³ im Rahmen seiner Diplomarbeit durchgeführt. Sulfatreduzierende Bakterien reichern sich in Medien mit Lactat und Sulfat an. Lactat, ein mögliches Endprodukt anderer anaerober Abbauewege, dient als Elektronendonator und Kohlenstoffquelle. Der im Sulfat vorhandene Sauerstoff wird veratmet.

Medium B nach Postgate⁹⁴

KH ₂ PO ₄	0,5 g
NH ₄ Cl	1 g
CaSO ₄ x 2 H ₂ O	1 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2 g
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5 g
Natriumlactat-Lsg. (50 %)	5 g
Hefeextrakt	1 g
pH 7,5	in 1 l H ₂ O

In ein Kulturröhrchen werden 5 ml Nährlösung gefüllt und autoklaviert. Das fertige Medium enthält einen Bodensatz. In die Nährlösung wird ein zum Glühen gebrachter Eisennagel (reduziertes Eisen mit negativem Redoxpotential) und 0,1 ml Rohsickerwasser gegeben. Das Kulturröhrchen wird mit einem eingestochenen Stück Parafilm verschlossen und in einen Anaerobiertopf gegeben. Im Topf stellt eine Packung *Oxoid AnaeroGen AN 25* ein sauerstofffreies Milieu her. Der Sauerstoff wird mit Ascorbinsäure in einer exothermen Reaktion entfernt. Der Anaerobierindikator Resazurin (*Oxoid BR 55*) ist zur Kontrolle im Topf befestigt. Die Inkubation erfolgt für 2 bis 6 Tage bei 30°C im Dunkeln. Die Schwärzung der Kultur (Eisensulfid) und der Geruch nach Schwefelwasserstoff zeigen eine erfolgreiche Anreicherung von Desulfurikanten an. Die Bakterien wachsen vor allem im Sediment und an der Glaswand. Eine grobe Charak-

⁹¹ Schlegel; H.G.: Allgemeine Mikrobiologie, 6. Auflage, S. 307 ff., Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1985

⁹² Bast, E.: Mikrobiologische Methoden, S. 144, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg - Berlin 1999

⁹³ Baumgardt, J.: Charakterisierung von Bakterien und Pilzen in der biologischen Reinigung von Deponiesickerwasser, Diplomarbeit in diesem Projekt, Freie Universität Berlin, Dezember 2000

⁹⁴ Postgate, J.R.: in: Holt, J.G., Krieg, N.R. (Hrsg.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1 S. 666 - 672, Williams & Wilkins, London, 1984

terisierung erfolgt über Lichtmikroskopie im Abgleich zu Bergey's Manual.⁹⁵ Von einer Identifizierung über biochemische Tests wird aus Zeitgründen abgesehen.

2.8 Nitrifizierende Bakterien im Rohsickerwasser

Ammoniakoxidierende Bakterien (Nitrifikanten) im Rohsickerwasser können mit der folgenden Nährlösung⁹⁶ nach Soriano und Walker selektioniert und nachgewiesen werden.

Medium nach Soriano und Walker⁹⁷		Spurenelemente-Lösung nach Pfennig und Trüper⁹⁸	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g	EDTA	5,2 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,04 g	FeSO ₄ x 7H ₂ O	2,0 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,04 g	ZnSO ₄ x 7H ₂ O	150 mg
KH ₂ PO ₄	0,2 g	MnCl ₂ x 4 H ₂ O	100 mg
Spurenelemente-Lösung mit EDTA	1,0 ml	H ₃ BO ₃	62 mg
Phenolrot	0,5 mg	CoCl ₂ x 6 H ₂ O	190 mg
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen		CuCl ₂ x 2H ₂ O	17 mg
		NiCl ₂ x 6H ₂ O	24 mg
		Na ₂ Mo ₄ x 2H ₂ O	36 mg
		mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

Das Medium wird mit 5 %-iger Na₂CO₃- bzw. K₂CO₃-Lösung auf pH 7,5 - 8,0 eingestellt. Nach Animpfen mit Deponiesickerwasser wird die Kultur 1 bis 4 Monate bei 25°C bis 30°C ohne Schütteln im Dunkeln bebrütet. Die nicht sterilisierte Nährlösung wird mit 5 Verdünnungsstufen des Inokulums beimpft, um auch langsamer wachsende Nitrifikanten zu erfassen. Anfangs wird der Farbumschlag mit Natriumcarbonatlösung nachtitriert, bis ein zarter Rosaton erreicht wird. Die Kulturen werden alle 2-3 Tage auf Farbveränderungen kontrolliert. Der qualitative Nachweis von ammoniakoxidierenden Bakterien wird über den Farbumschlag des pH Indikators geführt: Durch die Oxidation des Ammoniaks zu salpetriger Säure (Nitrit) erfolgt der Farbumschlag des pH-Indikators Phenolrot von Rot nach Gelb.

2.9 Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus der Laborkläranlage

Im Rahmen seiner Diplomarbeit werden von Baumgardt⁹⁹ aerob kultivierbare Mikroorganismen der Laborkläranlage isoliert und charakterisiert.

⁹⁵ Widdel, F., Pfennig, N.: Dissimilatory Sulfate- or Sulfur-reducing Bacteria: in: Holt, J.G., Krieg, N.R. (Hrsg.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1 Section 7, S. 663 - 679, Williams & Wilkins, London, 1984

⁹⁶ Bast, E.: Mikrobiologische Methoden, S.145ff., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg - Berlin 1999

⁹⁷ Soriano, S. Walker, N.: J. Appl. Bacteriol. 31, S. 493 - 479. 1868

⁹⁸ Pfennig, N. Trüper, H.G.: in: The Prokaryotes, Vol. 1, S. 279 - 289, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1981

Die Schwierigkeit der Kultivierung autochthoner Mikroorganismen aus unbekanntem Ökosystemen auf Agarplatten ist ein bekanntes Problem. Je nach Wahl des Agars sind nur 1 % bis 5 % der Mikroorganismen aus Belebtschlamm kultivierbar. Die besten Ergebnisse erzielt man mit Agarplatten auf der Basis des jeweiligen Abwassers. Die von Baumgardt isolierten Mikroorganismen spiegeln daher nur einen Teil der in der Laborkläranlage lebenden Mikroflora wider. So werden bei der mikroskopischen Untersuchung häufig „Bäumchenbakterien“ vom Typ *Zoogloea* und Fadenbildner wie *Sphaerotilus* beobachtet, die sich auf Agarplatten auf Sickerwasserbasis gegenüber der schneller wachsenden Konkurrenz nicht durchsetzen können, obwohl sie an das Substrat genauso gut angepasst sind. Ein weiterer Grund ist, dass die Kolonien auf der Agarmatrix direkt der Luft ausgesetzt und nicht untergetaucht sind. Da der Abbau organischer Sickerwasserinhaltsstoffe in den belüfteten Reaktoren erfolgt, werden nur die aerob kultivierbaren Mikroorganismen charakterisiert.

Die Ausgangskultur ist keine Reinkultur, sondern stets ein Gemisch von Mikroorganismen. Erst nach mehrmaligem Ausstreichen auf „standortnahen“ Nährmedien erfolgt nach und nach die Vereinzelnung der Kolonien hin zu Reinkulturen. Die Eigenschaften der isolierten Population können dann untersucht und ihr Potential zum Abbau refraktärer Sickerwasserbindungen beurteilt werden.

2.9.1 Gewinnung von Reinkulturen aus der Laborkläranlage

Aus dem Suspensionsreaktor der aeroben Biostufe 1 (Ausgangskonfiguration) wird eine Probe mit einer vermuteten Zellzahl von 10^8 bis 10^{10} pro ml entnommen. Mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung wird eine Verdünnungsreihe erstellt, welche Konzentrationen von 10^2 bis 10^6 Zellen pro ml liefert, die dann auf Sickerwasser-Agar ausgestrichen werden.

Sickerwasser-Agar zur aeroben Kultivierung der Mikroorganismen und der anschließenden Gewinnung von Reinkulturen wird folgendermaßen hergestellt. Umkehr osmose-Konzentrat aus Schöneiche wird 2 : 3 auf die ursprüngliche Rohsickerwasser-Konzentration verdünnt und mit Agar-Agar versetzt. Eine Dampfsterilisation des

Sickerwasser-Agar

UO-Konzentrat	400 ml
VE-Wasser	600 ml
Agar-Agar	15 g

Sickerwasser-Agars bei 121 °C und 1 bar für 20 min. kann unter Umständen Ausfällungen des komplexen Stoffgemisches Sickerwasser verursachen. Beim Auftreten von Ausfällungen wird auf die Dampfsterilisation verzichtet, und stattdessen wird der Agar kurz über dem Bunsenbrenner aufgekocht. Den Agar wird auf pH 7 eingestellt. Die Inkubation erfolgt bei Raumtemperatur (RT), die Lagerung bei 4°C. Die Kolonien werden insgesamt 5 bis 7 mal auf Sickerwasserplatten übertragen, um Reinkulturen zu erhalten. Die Kultivierung auf Sickerwasserplatten stellt sicher, dass nur solche Organismen kultiviert werden, die im Sickerwasser enthaltene Nährstoffe assimilieren können. Die Kulturen behalten ihre speziellen Abbaueigenschaften, können aber aufgrund der Zusammensetzung des Nährbodens untypische Kolonieförmigkeiten annehmen.

Bakterielle Reinkulturen werden daher zur Charakterisierung auf LB-Agar übertragen und Reinkulturen von Pilzen auf Malz-Agar kultiviert, um genügend hohe Zellzahlen zu erreichen und Interaktionen durch störende chemische Einflüsse unbekannter Inhaltsstoffe des Deponiesickerwassers auf das jeweilige Testsystem zu vermeiden. Die Organismen werden je nach Wachstumsgeschwindigkeit unterschiedlich lange bei RT kultiviert und maximal 4 Wochen bei 4° C gelagert.

⁹⁹ Baumgardt, J.: Charakterisierung von Bakterien und Pilzen in der biologischen Reinigung von Deponiesickerwasser, Diplomarbeit in diesem Projekt, Freie Universität Berlin, Dezember 2000

LB-Agar (Bakterien)		Mit allen isolierten Reinkulturen werden mindestens 128 Stoffwechselltests durchgeführt. Mikroorganismen, die nicht klar als gramnegativ eingestuft werden können, werden weiteren 50 Tests unterzogen.	Malz-Agar (Pilze)	
Bactotrypton	10 g		Malzextrakt	10 g
Hefeextrakt	5 g		Agar-Agar	15 g
NaCl	10 g		mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	
Bakteriologischer Agar	15 g			
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen				

Nach der Gewinnung von Reinkulturen erfolgt die Identifizierung der Mikroorganismen anhand ihrer morphologischen und physiologischen Eigenschaften.

2.9.2 Prüfung der Temperaturabhängigkeit

Die isolierten Stämme werden auf LB-Platten ausgestrichen und 36 h bei 4°C, 20°C, 37°C und 42°C bebrütet. Die Temperaturabhängigkeit kann ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung einzelner Bakterienarten innerhalb einer Gattung sein (Beispiel: Pseudomonaden der Fluoreszenz-Gruppe).

2.9.3 Morphologisches Bild

Morphologische Merkmale wie Zellform, Sporenbildung, Koloniebildung und Beweglichkeit erlauben eine grobe Zuordnung der isolierten Mikroorganismen zu bestimmten Gruppen und führen zu gruppenspezifischen Stoffwechseluntersuchungen. Mit Hilfe von Färbetechniken können weitere charakteristische Merkmale identifiziert werden. Die mikroskopischen Arbeiten werden an einem *Olympus BH2* Stereomikroskop bei 1000-facher Vergrößerung im Hellfeld- und im Phasenkontrast-Modus durchgeführt.

2.9.4 Lactophenolblau-Färbung

Lactophenolblau (*Merck 13741*) färbt Pilze. Mycel und Conidien erscheinen in klarem Blau und geben Informationen zur weiteren Charakterisierung.

Ein Tropfen Lactophenolblau wird auf einen Objektträger gegeben. Ein ca. 4 cm langer Tesafilmstreifen wird mit der Klebeseite nach außen zu einem Ring geformt, welcher mit Daumen und Zeigefinger gehalten wird. Auf Malz-Agar isolierte Pilzkolonien werden vorsichtig mit der klebenden Seite des Tesafilmstreifens in einer abrollenden Bewegung aufgenommen und möglichst ohne größere Lufteinschlüsse auf den Objektträger geklebt, so dass das Lactophenolblau den gesamten Streifen benetzt. Das Präparat kann nun weiter mikroskopisch untersucht werden.

2.9.5 Gramfärbung

Bei der Gramfärbung werden die Organismen abhängig von ihrem Zellwandaufbau unterschiedlich gefärbt. Die dreidimensionale Struktur des Mureinsakkulus der Zellwand reagiert unterschiedlich auf die Behandlung mit Jod-Kaliumchlorid. Bei einem mehrschichtigen Aufbau des Sakkulus führt Jod-Kaliumchlorid zu einer strukturellen Veränderung, so dass dieser undurchlässiger wird. Die Färbung mit Kristallviolett kann dann auch mit Lösungsmitteln nicht wieder herausgewaschen werden. In diesem Fall spricht man von einem grampositiven Organismus.

Zunächst wird ein Tropfen physiologischer Kochsalzlösung auf einen fettfreien Objektträger pipettiert. Mit einem sterilen Zahnstocher oder einer Impföse wird jeweils eine Einzelkolonie aus den Reinkulturen entnommen und auf dem Objektträger in der Salzlösung homogenisiert. Das Präparat wird an der Luft getrocknet und anschließend über offener Flamme hitzefixiert. Frisch filtrierte Kristallviolett-Lösung wird aufgetropft und nach 45 s mit Lugols Lösung überschichtet. Das Präparat wird mit VE-Wasser gründlich gewaschen und vorsichtig mit der Entfärbelösung entfärbt. Die verbleibenden Reste des Entfärbers werden wiederum mit VE-Wasser fortgespült. Zur Gegenfärbung Safranin-Lösung wird aufgetropft und nach 20 s mit VE-Wasser abgespült. Nach dem Trocknen werden die Präparate unter dem Mikroskop untersucht.

Tabelle 11: Lösungen für die Gramfärbung

Reagenz	Produkt	Inhalt	Konzentration
Salina		NaCl	9 g/l
Kristallviolett Lösung:	Merck 9218	Karbolgentianaviolett	25 %
Lugols Lösung:	Merck 9261	Jod-Jodkalium	1 %
Grams Safranin-Lösung	Merck 9217	Safranin	unverdünnt
Grams Entfärber:		Ethanol / Aceton	1 : 1

2.9.6 Methylenblau-Färbung

Eine Vielzahl von Pro- und Eukaryonten bilden unter Nährstoffmangel (insbesondere Sulfatmangel) Polyphosphatgranula. Die Granula bestehen aus langen, linearen Ketten aus Orthophosphatresten, welche über energiereiche Phosphoanhydridbindungen miteinander verknüpft sind. Diese Speichereinheiten werden auch metachromische Granula genannt, da sie die Absorptionsmaxima vieler kationischer Farbstoffe (z. B. Methylenblau) in einen kürzeren Wellenlängenbereich verschieben. Polyphosphatgranula bilden u. a. *Spirillum*, *Acinetobacter*, *Klebsiella* aus. Die Bakterienzellen sind blau gefärbt, Polyphosphatgranula erscheinen purpurn bis violett.^{100 101}

Gesättigte alkoholische Methylenblau-Stammlösung: Methylenblau wird mit 100 ml auf 50°C im Wasserbad angewärmtem 96%-igen Ethanol übergossen. Nach mehrmaligen kräftigem Schütteln wird der Ansatz 2 - 3 Tage lichtgeschützt stengelassen. Der Ansatz ist in einer braunen Flasche mehrere Jahre haltbar. Für die Mikroskopie wird Löfflers Reagenz (Methylenblau-Lösung) frisch angesetzt:

Tabelle 12: Löfflers Reagenz

Lösung A: Methylenblau-Stammlösung	30 ml
Lösung B: 0,01%ige (w/v) Kalilauge	100 ml

Lösung A unter Rühren zu B geben

Den hitzefixierten Ausstrich wird vollständig für 30 s mit Methylenblau-Lösung bedeckt. Die Färbelösung wird abgossen und unter einem weichen Leitungswasserstrahl gespült. Das Präparat ist bereit zur mikroskopischen Auswertung.

¹⁰⁰ Bast; E.: Mikrobiologische Methoden, S. 257, Spektrum Akademischer Verlag GmbH 1999

¹⁰¹ Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H.G.: Biology of the Prokaryotes, S.191, Thieme Verlag 1999

2.9.7 Sudanschwarz Färbung

Granula und Fetttropfchen aus Polyhydroxyfettsäuren (meist Poly-3-hydroxybuttersäure; PHB) lassen sich durch lipophile Farbstoffe wie Sudanschwarz anfärben. Granula assoziierte Depolymerasen überführen PHB in D(-)-3-hydroxybutyrat. Nach dessen Oxidation wird mit Hilfe von spezifischen Dehydrogenasen Acetoacetat gebildet. CoA vom Succinyl-CoA bildet dann aus dem Acetoacetat Acetacetylacetat, welches sich mit Schwefel zu Acetyl-CoA verbindet. Mikroorganismen mit Lipideinschlüssen nehmen eine blaugraue bis schwarze Färbung an (z.B. *Pseudomonas*, *Alcaligenes lates*, *Bacillus megaterium*).^{102 103}

Sudanschwarz-B-Lösung: 0,3 g Sudanschwarz in 100 ml 70%-igem Ethanol lösen, kurz aufkochen, vor Gebrauch filtrieren

Einen Tropfen Sudanschwarz wird in die Mitte eines Objektträgers gegeben, und eine winzige Menge des Inokulums mit der sterilen Impföse in diesem Tropfen verteilt. Nach Auflegen eines Deckgläschen lässt man die Färbelösung ca. 15 min einwirken. Die überschüssige Flüssigkeit am Rand des Deckgläschens wird mit den Filterstückchen abgesaugt und das Präparat unter dem Hellfeld mikroskopiert.

2.9.8 Aminopeptidasetest

Der Aminopeptidasetest (*Bactident*[®] Aminopeptidase Teststäbchen, *Merck 13301*) wird für die Überprüfung oder als Ersatz für die Gramfärbung verwendet. Die L-Alanin-Aminopeptidase ist ein in der Bakterien-Zellhülle lokalisiertes Enzym, das mit relevanter Aktivität praktisch nur bei gramnegativen Bakterien gefunden wurde. Dieses Enzym spaltet die Aminosäure L-Alanin von diversen Substraten ab. Auf den Teststäbchen befindet sich L-Alanin-4-Nitroanilid als Substrat. Dieses wird bei der Anwesenheit von L-Alanin-Aminopeptidase in den gelben Farbstoff 4-Nitroanilin umgesetzt.

Mit der Impföse wird eine Einzelkolonie vom Nährboden entnommen. Die Bakterienmasse wird in einem Reagenzröhrchen mit 200 µl sterilen VE-Wasser suspendiert und das Teststäbchen in die Bakteriensuspension eingetaucht. Die Inkubationszeit für diese Reaktion beträgt 10 Minuten bei 37°C. Die Verfärbung des Teststäbchens wird notiert.

2.9.9 Oxidasetest

Der Oxidasetest (*Bactident*[®] Oxidase Teststäbchen, *Merck 13300*) ist ein Nachweis für die Anwesenheit von Cytochromoxidase, einem Enzym der Eisenporphyrin-Gruppe. Cytochromoxidase ist in der Lage, eine ganze Reihe von organischen Substanzen zu reduzieren, unter anderem auch das auf dem Teststäbchen befindliche 1-Naphthol und N,N-Dimethyl-1,4-Phenylendiammoniumchlorid, welches unter Bildung des Kondensationsmoleküls Indolphenolblau reduziert wird.

Ein Tropfen physiologischer Kochsalzlösung wird auf einen Objektträger pipettiert. Mit einer sterilen Impföse wird eine gut isolierte Kolonie vom Anzuchtmedium abgenommen und in der Salzlösung homogenisiert. Das Teststäbchen wird in das Homogenisat getaucht. Nach einer Reaktionszeit von 5 min. wird die Verfärbung des Streifens notiert.

¹⁰² Bast; E.: siehe oben, S. 239 - 240

¹⁰³ Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H.G.: siehe oben, S.190

2.9.10 Selektionierung auf speziellen Nährböden

Die Selektiv-Agar werden zur Vorcharakterisierung der Mikroorganismen oder zur weiteren Differenzierung physiologischer Tests (siehe weiter unten) verwendet. Verfärbungen der Nährböden beruhen in der Regel auf sauren oder alkalischen Reaktionen, die durch pH-Indikatoren angezeigt werden. Einzelheiten zur Differenzierung der verschiedenen Bakterien über die Kolonieform, -größe und -farbe sind im *Merck Nährboden-Handbuch*¹⁰⁴ sowie im *Oxoid-Handbuch*¹⁰⁵ nachzulesen.

Mit **Brolacin-Agar** (*Merck 1638*) können gram-negative Bakterien differenziert werden. Die unterschiedliche Verwertung von Lactose führt zu einer Zu- oder Abnahme des pH-Werts im Medium und ermöglicht eine Differenzierung der Kolonien. Der grüne Agar färbt sich unter Säurebildung gelb und bei alkalischer Reaktion blau. Eine zusätzliche Differenzierung ist über die Kolonieform und -färbung möglich. Die Inkubation erfolgt für 24 h bei 37°C.

Thioglycolat-Medium (*Oxoid CM 23*) ermöglicht die Kultivierung obligat oder fakultativ anaerober Keime. Von den aerob kultivierten Sickerwasserorganismen können nur die fakultativen wachsen. Reagenzgläser werden mit 10 ml Medium beschickt und mit einer Einzelkolonie beimpft. Die Röhrchen werden mit Wasseragar überschichtet und mit Parafilm verschlossen, um einen Sauerstoffeintrag zu vermeiden. Das grüne Medium reagiert auf einen Sauerstoffeintrag mit einem Farbumschlag des Resazurin nach Rosa. Mit diesem Test wird die Fähigkeit zur Glucose-D(+)-Fermentation untersucht. Zellwachstum bzw. eine Trübung im unteren sauerstofffreien Bereich des Röhrchens wird als positive Reaktion bewertet. Die Inkubation erfolgt für 48 h bei RT.

Mit **Glutamat-Stärke-Phenolrot-Agar** (*Merck 10230*) können Pseudomonaden (blauviolette Kolonien) und Aeromonaden (gelbe Kolonien) nachgewiesen werden (Inkubation für 3 d bei 25°C). Enterobacteriaceen werden gehemmt.

Mit **SIM-Agar** können Enterobacteriaceen aufgrund der H₂S- und Indol-Bildung sowie der Beweglichkeit differenziert werden. Die Beweglichkeit der Bakterien zeigt sich durch eine diffuse Trübung entlang des Stichkanals, die Unbeweglichkeit durch Wachstum ausschließlich entlang des Stichkanals. Die H₂S-Bildung wird durch eine Schwärzung des Agars sichtbar. Der Indol-

Brolacin-Agar (pH 7,3)

Pepton	7 g
Hefeextrakt	2 g
Fleischextrakt	2 g
L-Cystein	0,128 g
Bromphenolblau	0,030 g
Lactose	5 g
Agar-Agar	16 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

Thioglycolat-Medium G (pH 7,2)

Pepton aus Casein	15 g
Hefeextrakt	5 g
D(+)-Glucose	5,5 g
L-Cystein	0,5 g
NaCl	2,5 g
Natriumthioglycolat	0,5 g
Resazurin-Natrium	0,001 g
Geliemittel	0,75 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

GSP-Agar (pH 7,2)

Natrium-L(+)-glutamat	10 g
Stärke, löslich	20 g
Kaliumhydrogenphosphat	2 g
Magnesiumsulfat	0,5 g
Phenolrot	0,36 g
Penicillin	100000 I.E.
Agar-Agar	16 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

SIM -Agar (pH 7,3)

Pepton aus Casein	20 g
Pepton aus Fleisch	6,6 g
Ammoniumeisen(III)-citrat	0,2 g
Natriumthiosulfat	0,2 g
Agar-Agar	3 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

¹⁰⁴ **Merck:** Nährböden Handbuch, Darmstadt 1989

¹⁰⁵ **Unipath GmbH:** Oxoid-Handbuch, Wesel 1993

Nachweis erfolgt abschließend durch Überschichten des Agars mit Kovacs Reagenz (*Bactident® Indol, Merck 11350*) und dessen Rotfärbung nach zehn Minuten. Der halbfeste Agar in Kulturröhrchen wird durch Stichverfahren angeimpft und bei 37°C 24 h bebrütet.

Önöz-Agar (*Oxoid CM 597*) dient zur Identifizierung von Salmonellen und anderen Enterobacteriaceen. Brillantgrün und die Gallosalze hemmen das Wachstum grampositiver Organismen. Coliforme werden durch die hohe Citrat- und Thiosulfat-Konzentration gehemmt. Lactose- und Saccharose-Stoffwechsel zeigt das Indikatortestsystem Neutralrot / Metachromgelb an. Thiosulfat und Eisen-Ionen verursachen die Schwärzung der H₂S-Bildner. Anilinblau erleichtert die Identifizierung von *Citrobacter*. Eine Differenzierung der *Enterobacteriaceae* ist über die Koloniform und -färbung möglich (Inkubation für 16 bis 24 h bei 36°C).

Pseudomonaden der Fluoreszenz-Gruppe bilden auf **King-Agar B** grünlich gelb fluoreszierende Kolonien bei Inkubation für 3 d bei 22°C oder für 1 d bei 37°C. Die Fluorescein-Bildung kann bei Tageslicht oder besser unter einer UV-Lampe beobachtet werden.

Cetrimid-Agar (*Merck 1638*) ermöglicht die Differenzierung von Pseudomonaden der Fluoreszenz-Gruppe. Die Pyocyanin-Bildung von *Pseudomonas aeruginosa* verläuft bei einer Inkubation bei 42°C für 48 h ungehindert.

Önöz-Agar (pH 7,0)

Hefeextrakt	3 g
Fleischextrakt "Lab-Lemco"	6 g
Pepton	6,8 g
Lactose	11,5 g
Saccharose	13 g
Gallensalzmischung Nr. 3	3,825 g
tri-Natriumcitrat-5,5-hydrat	9,3 g
Natriumthiosulfat	4,25 g
1-Phenylalanin	5 g
Eisen (III) -citrat	0,5 g
Magnesiumsulfat	0,4 g
Brillantgrün	0,00166 g
Neutralrot	0,022 g
Anilinblau	0,25 g
Metachromgelb	0,47 g
di-Natriumhydrogenphosphat	1 g
Agar-Agar	12 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

King-Agar B Base (pH 7,1)

Proteose-Pepton	20 g
Glycerin (87%)	10 g
tri-Kaliumphosphat	1,8 g
Magnesiumsulfat	1,5 g
Agar-Agar	10 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

Cetrimid-Agar (pH 7,2)

Pepton aus Gelatine	20 g
Magnesiumchlorid	1,4 g
Kaliumsulfat	10 g
N-Cetyl-N,N,N-trimethylammoniumbromid	0,3 g
Glycerin (87%)	10 g
Agar-Agar	18 g
mit H ₂ O auf 1 Liter auffüllen	

2.9.11 Biochemische Bakteriencharakterisierung

Zur Differenzierung der Bakterienstämme können mit entsprechenden *API*-Teststreifen von *bioMérieux* parallel 20 bis 50 biochemische Reaktionen durchgeführt werden. Aus den positiven und negativen Reaktionen resultiert ein numerisches Profil. Basierend auf einer Datenbank bekannter Bakterienprofile errechnet die Software **APILAB plus** aus diesem Profil die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Bakterienart. Die Ergebnisse werden mit der Prozentidentifizierung (%ID) und dem Index T angegeben. Die Prozentidentifizierung drückt die Nähe des in der Datenbank gefundenen Profils zu dem der Reinkultur aus. Der Index T drückt den typischen Charakter des identifizierten Stammes innerhalb eines Taxons aus. Er errechnet sich aus dem Mittelwert der einem gespeicherten Profil widersprechenden Reaktionen und umfasst einen Zahlenraum von 0 bis 1:

Ausgezeichnete Identifizierung	%ID \leq 99,9, T \leq 0,75
Sehr gute Identifizierung	%ID \leq 99,0, T \leq 0,5
Gute Identifizierung	%ID \leq 90,9, T \leq 0,25
Akzeptierbare Identifizierung	%ID \leq 80,0, T \leq 0

Bei niedrigen Wahrscheinlichkeiten für eine oder mehrere Arten oder dem Auftreten sich widersprechender Reaktionen werden zusätzliche Untersuchungen vorgeschlagen. Für eine abschließende Bewertung ist ein Vergleich mit Standardwerken der systematischen Bakteriologie (z. B. Bergey's¹⁰⁶) unerlässlich.

Das **Testkit API 50 CHB[®]** wird zur Charakterisierung von aeroben grampositiven Sporenbildnern (*Bacillus*) verwendet. Mit den Reinkulturen werden 50 Tests durchgeführt, welche die Assimilation von Zuckern bzw. die Produktion von Säure durch Wachstum oder Farbumschlag indizieren. Die im Testkit API 50 CHB[®] enthaltenen Kohlenhydrat-Tests sind folgendermaßen angeordnet:

Tabelle 13: Stoffwechselltests mit API 50 CHB[®]

Streifen 1	Streifen 2	Streifen 3	Streifen 4	Streifen 5
0 Kontrolle	10 Galactose	20 α -Methyl-D-Mannosid	30 Melibiose	40 D-Turanose
1 Glycerol	11 Glucose	21 α -Methyl-D-Glucosid	31 Saccharose	41 D-Lyxose
2 Erythrit	12 Fructose	22 N-Acetyl-Glucosamin	32 Trehalose	42 D-Tagatose
3 D-Arabinose	13 Mannose	23 Amygdalyin	33 Inulin	43 D-Fucose
4 L-Arabinose	14 Sorbose	24 Arbutin	34 Melezitose	44 L-Fucose
5 Ribose	15 Rhamnose	25 Esculin	35 Raffinose	45 D-Arabit
6 D-Xylose	16 Dulcitol	26 Salicin	36 Stärke	46 L-Arabit
7 L-Xylose	17 Inositol	27 Cellobiose	37 Glycogen	47 Gluconat
8 Adonit	18 Mannit	28 Maltose	38 Xylit	48 2-Keto-Gluconat
9 β -Methyl-D-Xylosid	19 Sorbit	29 Lactose	39 Gentobiose	49 5-Keto-Gluconat

Einige gut isolierte Kolonien werden in 1 ml physiologischer NaCl-Lösung resuspendiert. In einer zweiten NaCl-Lösung mit einem Volumen von 5 ml wird solange aus der ersten Suspension nachtitriert, bis deren Dichte optisch auf den McFarland-Standard 2,0 eingestellt ist. Die Anzahl der Tropfen werden notiert. Eine Ampulle API 50 CHB Medium wird mit der doppelten Tropfenmenge des zuvor notierten Wertes beimpft und gründlich durchmischt. Anschließend werden die 50 Mikroröhrchen unter Vermeidung von Bläschenbildung gefüllt und bei 37°C für 48 h bebrütet. Die Ablesung der Streifen erfolgt nach 24 und 48 h. Nach dem angegebenen Zeitraum werden die Ergebnisse auf dem Ergebnisblatt notiert und jedes Röhrchen mit Phenolrotindikator auf Säurebildung überprüft (Farbumschlag von Rot nach Gelb). Bei Esculin (Röhrchen Nr. 35) wird eine positive Reaktion durch einen Farbumschlag nach Schwarz angezeigt.

¹⁰⁶

Krieg, N. R., Holt, J. G.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume I-IV, Williams & Wilkins 1984

Der Testkit API 20 NE[®] ist ein System zur Identifizierung von gramnegativen Nicht-Enterobacteriaceen und basiert auf der Analyse der Kohlenhydratassimilation, kombiniert mit 8 konventionellen, bakteriologischen Tests. Untersucht werden die folgenden Reaktionen:

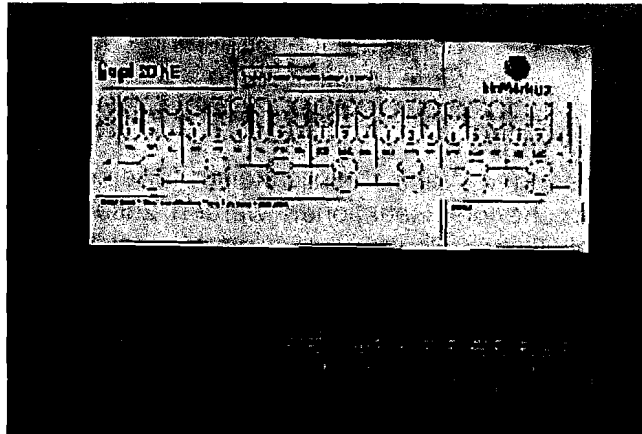


Abbildung 24: Testkit 20 NE

Tabelle 14: Stoffwechselfests mit API 20 NE [®]		ARA	Arabinose Assimilation
NO ₃	Nitratreduktion zu Nitrit und Nitratreduktion zu Stickstoff	MNE	Mannose Assimilation
TRP	Indol-Nachweis	NAG	N-Acetylglycosamin Assimilation
GLU	Glucose Fermentation	MAL	Maltose Assimilation
ADH	Arginindihydrolase	GNT	Gluconat Assimilation
URE	Urease	CAP	Caprat Assimilation
ESC	Esculin Hydrolyse	ADI	Adipat Assimilation
GEL	Gelatine Hydrolyse	MLT	Malat Assimilation
PNPG	β-Galactosidase	CIT	Citrat Assimilation
GLU	Glucose Assimilation	PAC	Phenylacetat Assimilation

Zur Vorbereitung der Tests werden entsprechend der Anzahl der Proben Röhrrchen mit 2 ml 0,85%-iger Kochsalzlösung beschickt und 20' bei 120°C und 1 bar autoklaviert. In die Inkubationswanne werden 5 ml VE-Wasser gegeben, um ein Eintrocknen der Proben zu verhindern. Die Nummer der Untersuchungsprobe wird auf dem dafür vorgesehenen Teil der Inkubationswanne notiert. Für die Vorbereitung des Inokulums werden 1 - 4 gut isolierte Kolonien von der Agarplatte abgenommen. Die Bakterien werden in dem Röhrrchen mit 2 ml 0.85 % steriler Kochsalzlösung homogenisiert. Um bei allen Ansätzen die ungefähr gleiche Menge an Zellen einzusetzen, wird die Trübung der Bakteriensuspension überprüft und entsprechend dem McFarland-Standard 0.5 angesetzt.

Die Taschen für die Fermentationstests NO₃⁻ bis PNPG werden nur im unteren Bereich unter Vermeidung von Blasenbildung gefüllt. Für die Assimilationsreaktionen werden 200 µl Suspension in eine Ampulle AUX-Medium pipettiert und unter Vermeidung von Blasenbildung homogenisiert. Die Reaktionstaschen der Tests GLU bis PAC werden so mit der Suspension gefüllt, dass deren Oberflächen horizontal oder leicht konvex, niemals aber konkav verlaufen. Die Taschen für die Fermentationstests GLU, ADH und URE werden mit Paraffinöl überschichtet (konvexer Meniskus). Die Inkubationswanne wird verschlossen und bei 30°C für 24 h inkubiert. Nach 24 h werden auf dem Ergebnisblatt zunächst alle Spontanreaktionen notiert (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).

Zum Nachweis einer Nitratreduktion wird ein Tropfen der Reagenzien NIT 1 und NIT 2 in die Reaktionstasche NO₃ gegeben. Nach 5 min. wird abgelesen: Eine rote Färbung zeigt eine positive Reaktion an, die auf dem Ergebnisblatt entsprechend notiert wird. Ein falsch negatives Ergebnis kann unter Umständen auf eine Stickstoffproduktion zurückgeführt werden (Bläschenbildung). In diesem Fall wird 2 - 3 mg Zinkpulver in das NO₃-Becherrchen gegeben. Ist die Flüssigkeit nach 5 min. immer noch farblos, wird die Reaktion als positiv auf dem Er-

gebnisblatt notiert. Wird sie rosarot, ist die Reaktion negativ, da das in der Tasche vorhandenen Nitrat durch Zink zu Nitrit reduziert wurde. Die TRP-Reaktion des Testkits ist eine Wiederholung des getrennt durchgeführten Indol-Nachweises (siehe SIM-Agar). Bei Zugabe von einem Tropfen JAMES-Reagenz zeigt ein unmittelbarer Farbumschlag nach rosa eine positive Indol-Reaktion an. Bei den Assimilationsreaktionen wird das Bakterienwachstum bewertet. Eine Trübung in der Reaktionstasche zeigt eine positive Reaktion an. Wird ein schwaches Wachstum beobachtet, wird der Teststreifen erneut für 24 h inkubiert. In diesen Fällen werden die Tests NO₃ und TRP sofort hoch (konvexer Meniskus) mit Paraffinöl überschichtet.

Der Testkit API ID 32 E[®] ist ein System zur Identifizierung von gramnegativen, nicht anspruchsvollen Stäbchen. Getestet werden die in der nächsten Tabelle dargestellten Stoffwechselreaktionen.

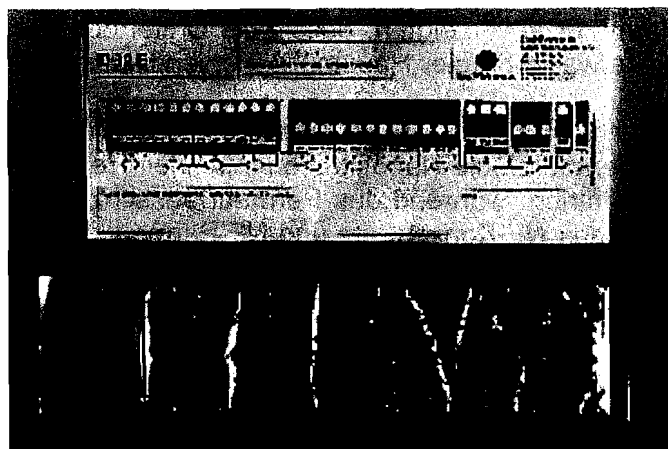


Abbildung 25: Testkit ID 32 E

Tabelle 15: Stoffwechselfests mit API ID 32 E [®]		MNT	Malonat
<u>ODC</u>	Ornithindecaboxylase	IND	Indol-Produktion
<u>ADH</u>	Arginindihydrolase	βNAG	N-Acetyl-β-Glucosaminidase
<u>LDC</u>	Lysindecaboxylase	βGAL	β-Galactosidase
<u>URE</u>	Harnstoff	GLU	Glukose (Säurebildung)
<u>LARL</u>	L-Arabitol (Säurebildung)	SAC	Saccharose
<u>GAT</u>	Galacturonat (Säurebildung)	LARA	L-Arabinose
<u>5KG</u>	5-Ketogluconat (Säurebildung)	DARL	D-Arabitol
LIP	Lipase	GLU	Glucosidase
RP	Phenolrot (Säurebildung)	GAL	Galactosidase
βGLU	β-Glucosidase	TRE	Trehalose (Säurebildung)
MAN	Mannit (Säurebildung)	RHA	Rhamnose (Säurebildung)
MAL	Maltose (Säurebildung)	IND	Inosit (Säurebildung)
ADO	Adonit (Säurebildung)	CEL	Cellobiose
PLE	Palatinose (Säurebildung)	MAL	Maltosidase
βGUR	β-Glucuronidase	AspA	L-Aspartat-Arylamidase

Analog zu API 20 NE wird eine Bakteriensuspension mit 2 ml steriler 0,85 %-iger Kochsalzlösung auf eine Dichte von 0,5 McFarland eingestellt. In jede Vertiefung des Teststreifens werden 55 µl pipettiert. Die Reaktionstaschen ODC, ADH, LDC, URE, LARL, GAT und 5KG werden mit 2 Tropfen Paraffinöl überschichtet. Die Streifen werden mit dem dafür vorgesehenen Deckel verschlossen und 24 h bei 35°C inkubiert. Nach der Inkubation werden die Farbreaktionen in den Taschen notiert.

2.10 Untersuchung der Eigenfärbung des Deponiesickerwassers

Die von Niederschlägen abhängigen Konzentrationsschwankungen der Sickerwasserinhaltsstoffe und deren komplexe Zusammensetzung erlauben nur eine grobe Charakterisierung der organischen Inhaltsstoffe. Da das Sickerwasser den Deponiekörper durchdringt, können wasserlösliche Huminstoffe und niedermolekulare organische Stoffe aufgenommen werden. Harms et al.¹⁰⁷ zeigten, dass zwei Drittel des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) im Sickerwasser dreier Hausmülldeponien Huminstoffe waren.

Die hochmolekularen Verbindungen des biologisch vorbehandelten Deponiesickerwassers werden durch die Nanofiltration mit einer Trenngrenze von ca. 350 Dalton¹⁰⁸ im Retentat aufkonzentriert, während das Permeat ausschließlich niedermolekulare Stoffe enthält. Die Färbung des NF-Konzentrats und NF-Permeats kann einen ersten Anhaltspunkt über die Molekülgröße der die Färbung verursachenden Verbindungen liefern.

2.10.1 Spektralanalyse des biologisch behandelten Deponiesickerwassers

Die Absorption des biologisch vorbehandelten Deponiesickerwassers (NF-Permeat und NF-Konzentrat) sowie von standardisierten Humin- und Fulvosäuren wird über das Wellenlängenspektrum zwischen 200 und 1100 nm mit einem *Shimadzu-UV160*-Spektralphotometer ermittelt. Absorptionsmaxima in definierten Bereichen können Hinweise auf molekulare Strukturen geben.

Als Referenzen werden *Suwanee River Fulvosäure (IHSS¹⁰⁹ 1R101F)* und wasserlösliches Humussäure-Natriumsalz (*Aldrich H1.675-2*) in Konzentrationen von 50 mg/l verwendet.

2.11 Braun- und Weißfäulepilze zur weitergehenden Sickerwasserreinigung

Zur Optimierung der weitergehenden Deponiesickerwasserreinigung werden Braun- und Weißfäulepilze kultiviert. In Reihenuntersuchungen soll geklärt werden, welche Pilze am besten geeignet sind, den Rest-CSB des Konzentrats aus der Nanofiltration abzubauen.

2.11.1 Stämme

Die unten genannten Pilze stammen von der DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH. Die Bezeichnung, Herkunft und Eigenschaften der Pilze sind

¹⁰⁷ Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

¹⁰⁸ 1 Dalton = $1,6605655 \times 10^{-24}$ g

¹⁰⁹ IHSS: International Humic Substances Society, Department of Soil, Water, and Climate, University of Minnesota

dem DSMZ-Katalog entlehnt.¹¹⁰ Die Taxonomie orientiert sich nach dem National Center of Biotechnology Information¹¹¹.

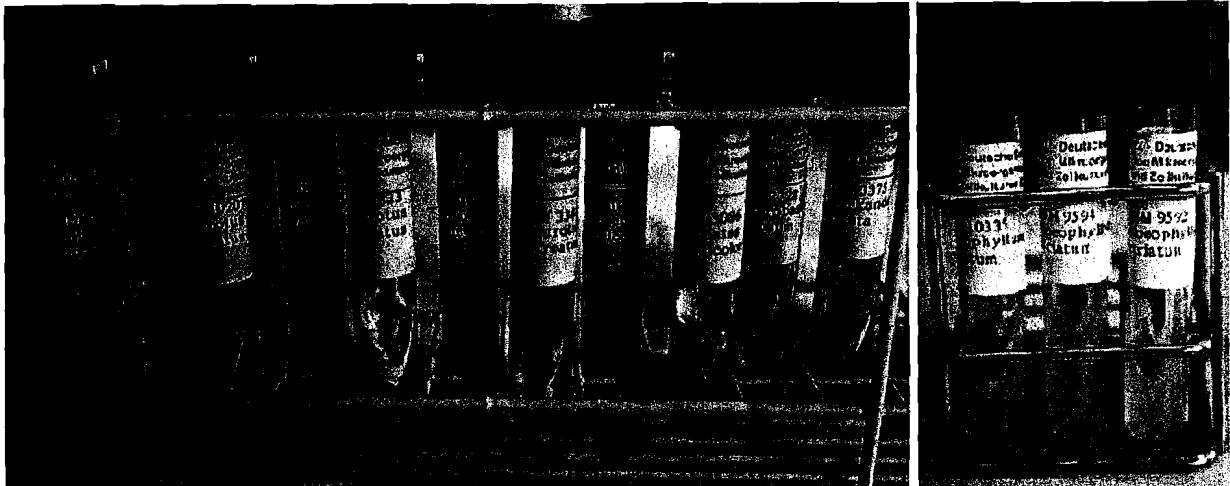


Abbildung 26: Weiß- (links) und Braunfäulepilze (rechts) der DSMZ Braunschweig.

Bjerkandera adusta (angebrannter Rauchporling, Ordnung Aphyllophorales, Familie Coriolaceae, Weißfäule)

- Stamm DSMZ 3375: ← Ch. Thielke

Gloeophyllum striatum (Blättling, Ordnung Aphyllophorales, Familie Polyporaceae, Braunfäule)

- Stamm DSMZ 9592: CCB 177 ← F. Zadrazil: ← R. Maziero, CCB Sao Paolo, Brasilien, Assis, Abbau von Enrofloxacin¹¹² und PAH.
- Stamm DSMZ 9594: CCB 188 ← F. Zadrazil: ← R. Maziero, CCB Sao Paolo, Brasilien, Jarinu, Abbau von Enrofloxacin¹¹³ und PAH.
- Stamm DSMZ 10335: FPRL 204 A ← H. G. Wetzstein, Leverkusen: ← NCWRF, *Mitragyna ciliata*, Guayana, Abbau von Enrofloxacin¹¹⁴.

Heterobasidion annosum (Wurzelschwamm, Ordnung Agaricales, Familie Schizophyllaceae, Rotfäule der Fichte)

- Stamm DSMZ 2728: ATCC 28222 ← A. Haars ← C. Volger ← H. Zycha, F21 (*Fomes annosus*), *Picea abies* (Fichte). Produktion von Laccase¹¹⁵ und Aryl- β -glucosidase¹¹⁶.

¹¹⁰ DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH: Catalogue of Strains 1998, sixth edition, Braunschweig 1998 (siehe auch: www.dsmz.de)

¹¹¹ The NCBI Taxonomy Homepage: www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html

¹¹² Martens, R., Wetzstein, H.-G., Zadrazil, F., Capelari, M., Hoffmann, P., Schmeer, N.: Degradation of the Fluoroquinone Enrofloxacin by Wood-Rotting Fungi; *Appl Env Microbiol* 62 (11), S. 4206 – 4209, 1996

¹¹³ ebenda

¹¹⁴ ebenda

¹¹⁵ Haars, A., Hüttermann, A.: Laccase induction in the white-rot fungus *Heterobasidion annosum* (Fr.) Brel. (*Fomes annosus* Fr.. Cooke), *Arch. Microbiol.* 134, S 309 –313, 1983

Phanerochaete chrysosporium (Ordnung Aphyllophorales, Familie Corticiaceae, Weißfäule)

- **Stamm DSMZ 1547:** ATCC 32529, CBS 246.84, ← K. Eriksson: Fichtenspäne. Produktion von Cellobiose-Oxidase¹¹⁷, 1,4-β-Glucosidase¹¹⁸ und Cellulase¹¹⁹, Syringasäure-Metabolismus¹²⁰
- **Stamm DSMZ 1556:** ATCC 34541, IFO 31249, ← T.K. Kirk ← FPRL, ME-446, auf Holzspänen von *Fagus grandifolia*, Waterville, Maine, USA 1964, ligninolytisch¹²¹, Produktion von Ligninase¹²² und H₂O₂-abhängiger Oxidase¹²³, Frucht bildend¹²⁴, mischfunktionelle Oxigenasen für Estradiol¹²⁵
- **Stamm DSMZ 9620:** CCB 478, ← F. Zadrazil: ← M. Capelari, CCB Sao Paolo, Brasilien, Abbau von PAH

Pleurotus cystidiosus (Ohrenseitling, abalone mushroom, Ordnung Agaricales, Familie Pleurotaceae, Weißfäule)

- **Stamm DSMZ 1019:** ATCC 34678, CBS 297.35, IFO 30790 ← K. Esser (*P. corticatus*) ← M. Semerdzieva, 486 ← K. Lohweg, 55 ← F. Kaufert, 2 A. *Liquidambar styraciflua*. Oak Grove Louisiana, USA 1931, Produktion von Laccase¹²⁶

Pleurotus ostreatus (Austernpilz, -seitling, -schwamm, Ordnung Agaricales, Familie Pleurotaceae, Weißfäule)

-
- ¹¹⁶ Hüttermann, A., Volger, C.: Induction of aryl-β-glucosidase in *Fomes annosus* by cellobiose, Arch. Microbiol. 93, S 195 - 204, 1973
- ¹¹⁷ Eriksson, K. E., Ayres, B.: Cellobiose oxidase. Purification and partial characterization of a hemoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*, European Journal of Biochemistry 90, S. 171 - 181, 1978
- ¹¹⁸ Deshpande, V., Eriksson, K. E., Petterson, B.: Production, purification and partial characterization of 1,4 β-glucosidase enzymes from *Sporotrichum pulverulentum*, European Journal of Biochemistry 90, S. 191 - 198, 1978
- ¹¹⁹ Process Biochem. 19, S. 65 - 66, 1984
- ¹²⁰ Eriksson, K. E., Gupta, J.K., Nistida, A., Rao, M.: Syringic acid metabolism by some white-rot, soft-rot and brown-rot fungi, Journal of General Microbiology 130, S. 2457 - 2464, 1984
- ¹²¹ Keyser, P., Kirk, T. K., Zeikus, J. G.: Ligninolytic enzyme system of *Phanerochaete chrysosporium*: Synthesized in the absence of ligninin response to nitrogen starvation, Journal of Bacteriology, 135, S. 790 - 797, 1978
- ¹²² Jäger, A., Croan, S., Kirk, T. K.: Production of ligninases and degradation of lignin in agitated submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, Appl Environ Microbiol 50, S. 1274-1278, 1985
- ¹²³ FEBS Letters 169, S.1437 - 150, 1984
- ¹²⁴ Gold, M. H., Cheng, T.: Conditions for fruit body formation in the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*, Arch Microbiol 121, S. 37 - 41, 1979
- ¹²⁵ Williamson, J., van Orden, D., Rosazza, J.P.: Microbiological hydroxylation of estradiol: formation of 2- and 4-hydroxyestradiol by *Aspergillus alliaceus*, Appl Environ Microbiol 49, S. 563 - 567, 1985
- ¹²⁶ Blach, R., Esser, K.: Functions of enzymes in wood destroy fungi. II. Multiple forms of Laccase in white rot fungi, Arch Microbiol 109, S. 271 - 277, 1975

- **Stamm DSMZ 1020:** ATCC 34673, ← K. Esser ← M. Semerdzieva, VII, Produktion von Laccase
- **Stamm DSMZ 1833:** ← O. Meyer ← K. H. Steinkraus, Verwertung von Lignocellulose
- **Stamm DSMZ 3344:** ← Ch. Thielke; Stamm „Florida“, Abbau von PAKs

Trametes versicolor (Schmetterlingstramete, -porling, Ordnung Aphyllophorales, Familie Coriolaceae, Weißfäule)

- **Stamm DSMZ 1977:** ← H. Hippe (*Polysporus versicolor*) ← K. Halder
- **Stamm DSMZ 3086:** ← EMPA St. Gallen, 159 ← CTB 863a, Einsatz im DIN-Holzschutzmittel-Test¹²⁷

2.11.2 Dauer- und Stammkulturen

Die DSMZ-Pilze werden in Röhrchen mit Malzextrakt-Sojapepton-Schrägagar (DSMZ-Agar 90) geliefert.¹²⁸

DSMZ-Agar 90

Auf Malzextrakt-Agar (Agar 90 ohne Sojapepton) werden die Pilze für den ständigen Gebrauch bei RT bis zu 7 d kultiviert und anschließend bei 4°C gelagert.

Malzextrakt	10 g
Sojapepton	3 g
Agar	15 g
plus 1 Liter H ₂ O	

Zur Konservierung werden von den Pilzen Dauerkulturen mit DSMZ-Medium 90 (ohne Agar) in 17% Glycerin angelegt und bei -70°C gelagert.

2.11.3 Modifizierte NF-Konzentrat-Medien

Entsprechend den Anforderungen an eine weitergehende biologische Deponiesickerwasserreinigung werden die Pilze zur besseren Adaption an das NF-Konzentrat in modifizierten Medien bzw. Nährböden bei RT kultiviert. Ziel ist die Aktivierung des ligninolytischen Enzymsystems der Pilze zur Aufspaltung des NF-Konzentrats.

Das Pilzmedium nach Kirk et al.¹²⁹ wird unter Berücksichtigung der Methoden von Tien und Kirk¹³⁰ sowie von Schlosser et al.¹³¹ in die Varianten K1- und K2-Medium abgewandelt.

-
- ¹²⁷ DIN 52176: Testing of wood preservatives; determination of the preventive effects of wood preservatives; tested with wood destroying basidiomycetes according to the wood block method in Kollie flasks, Berlin 1972
- ¹²⁸ DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH: Catalogue of Strains, S. 312, Braunschweig 1998
- ¹²⁹ Kirk, T. K., Ibach, R., Mozuch, M. D., Conner, A. H., Highley, T. L.: Characteristics of cotton cellulose depolymerised by a brown-rot fungus, by acid, or by chemical oxidants, Holzforschung 45, S. 239 – 244, 1991
- ¹³⁰ Tien, M., Kirk, T. K.: Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*, Methods in Enzymology 161, S. 238 – 249, 1988
- ¹³¹ Schlosser, D., Grey, R., Fritsche, W.: Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor*. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood, Appl Environ Microbiol 47, S. 412 – 418, 1997

Basismedium

MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂	0,1 g
10 mM FeSO ₄ x 7 H ₂ O	1 ml
Kirk-Mineralsalz-Stammlösung	10 ml
Kirk-Vitamin-Stammlösung	1,5 ml

optionale Zusätze: K1- und K2-Supplemente,
Agar und/oder Rindenmulch

mit NF-Konzentrat auf 1 Liter auffüllen

Eisen(II)sulfat wird abweichend von der Publikation separat ins Medium gegeben, um Ausfällungen beim Sterilisieren der Mineralsalzlösung (20 min., 121°C, 1 bar) zu vermeiden. Vor der Sterilisation des Vollmediums (ebenfals 20 min., 121°C, 1 bar) wird der pH aller modifizierten Medien und Agar auf 5 eingestellt. Zur Vermeidung einer thermischen Zersetzung wird die Kirk-Vitamin-Stammlösung in Aliquots zu 1,5 ml bei -20°C eingefroren und steril filtriert in das abgekühlte Medium geben.

Kirk-Mineralsalz-Stammlösung

MgSO ₄ x 7 H ₂ O	3 g
Nitritotriessigsäure (Tritiplex I)	1,5 g
NaCl	1 g
MnCl ₂ x 2 H ₂ O	523 mg
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	183 mg
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	100 mg
AlK(SO ₄) ₂ x 12 H ₂ O	10 mg
NaMoO ₄ x 2 H ₂ O	12 mg
CuSO ₄	6,4 mg
H ₃ BO ₃	10 mg

mit H₂O auf 1 Liter auffüllen

Kirk-Vitamin-Stammlösung

Pyridoxinhydrochlorid (Vitamin B ₆ x HCl)	10 mg
4-Aminobenzoesäure (Vitamin H')	5 mg
Calcium-D(+)-pantothenat (Vitamin B ₅)	5 mg
DL- α -Liponsäure	5 mg
Nicotinsäure	5 mg
Riboflavin (Vitamin B ₂)	5 mg
Thiaminhydrochlorid (Vitamin B ₂)	5 mg
D-Biotin (Vitamin H, B ₇)	2 mg
Folsäure (Vitamin M, B ₁₁ , BC)	2 mg
Cyanocobolamin (Vitamin B ₁₂)	0,1 mg

mit H₂O auf 1 Liter auffüllen

K1-Medium (Konzentratmedium 1)

KH ₂ PO ₄	2 g
---------------------------------	-----

K2-Medium (Konzentratmedium 2)

2,2-Dimethyl-bernsteinsäure	4,4 g
di-Ammoniumtartrat	0,11 g

Vorteil des K2-Mediums gegenüber K1 ergeben, wird es nicht weiter verwendet. Mit 15 g/l Agar können die K1- und K2-Medien als Nährböden verwendet werden.

M-Medium (Minimalmedium)

KH ₂ PO ₄	2 g
---------------------------------	-----

plus 1 Liter NF-Konzentrat pH 5

K1- und K2-Medium unterscheiden sich in der Pufferung. K1 wird durch KH₂PO₄ gepuffert. Die Zugabe von 2,2-Dimethyl-bernsteinsäure erlaubte Swamy und Ramsay¹³² eine exzellente pH-Kontrolle und damit eine effektive Steigerung der Entfärbungsreaktion von Textilfarbstoffen durch Pilze. Viele Arbeitsgruppen verwenden zusätzlich di-Ammoniumtartrat zur Pufferung und als N-Quelle. Sollte sich kein

In M-Medien wird untersucht, ob die Weiß- und Braunfäulepilze das NF-Konzentrat als alleinige C- und N-Quelle verwerten können. KH₂PO₄ dient lediglich als Puffer.

2.11.4 Spaltung des NF-Konzentrats mit Fentons Reagenz

Harms et al.¹³³ zeigten, dass etwa 90 % der Huminsäuren und 80 % der Fulvosäuren im Deponiesickerwasser dreier niedersächsischer Hausmülldeponien durch Oxidation (Ozon,

¹³² Swamy, J., Ramsay, J. A.: The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes, *Enzyme and Microbial Technology* 24, S. 130 – 137, 1999

¹³³ Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

H₂O₂, UV) entfernt wurden, wobei die Huminstoffe in kleinere Moleküle umgewandelt wurden, die nachfolgend biologisch (bakteriell) abgebaut werden konnten.

Die Fenton-Oxidationsreaktion verläuft analog zu den Umsetzungen der H₂O₂-abhängigen Fe²⁺-Biokatalysatoren Ligninase und Mangan-Peroxidase der Weiß- und Braunfäulepilze. Nach Knackmuss¹³⁴ kann mit der chemischen Spaltung der organischen Verbindungen des NF-Konzentrats grundsätzlich gezeigt werden, ob ein biologischer Abbau durch Pilze möglich ist. Hintergründe zur Fenton-Reaktion liefern u. v. a. die Arbeiten von Millioli et al.¹³⁵ und Yoon et al.¹³⁶ In der Fenton-Reaktion bilden sich Hydroxyl-Radikale, die organische Verbindungen aufspalten können:



Zur Überprüfung der Spaltung des NF-Konzentrats durch die Fenton-Reaktion werden folgende Ansätze nach dem in der anschließenden Tabelle dargestelltem Schema getestet:

- V 0: NF-Konzentrat
- F 1 – F 4: Fenton-Reagenzien + NF-Konzentrat
- R 1 – R 4: Fenton-Reagenzien + VE-Wasser
- V 1 – V 4: VE-Wasser + NF-Konzentrat

Tabelle 16: Ansätze zum Test von Fentons Reagenz auf das NF-Konzentrat

	10 mM FeSO ₄ (x 7 H ₂ O)		30 % H ₂ O ₂		H ₂ O	NF-Konzentrat
V 0	-	-	-	-	-	10.000 µl
F 1	50 µM	50 µl	0,1 %	34 µl	-	9.916 µl
R 1	50 µM	50 µl	0,1 %	34 µl	9.916 µl	-
V 1	-	-	-	-	84 µl	9.916 µl
F 2	100 µM	100 µl	0,2 %	67 µl	-	9.833 µl
R 2	100 µM	100 µl	0,2 %	67 µl	9.833 µl	-
V 2	-	-	-	-	167 µl	9.833 µl
F 3	500 µM	500 µl	1 %	334 µl	-	9.166 µl
R 3	500 µM	500 µl	1 %	334 µl	9.166 µl	-
V 3	-	-	-	-	834 µl	9.166 µl
F 4	1 mM	1.000 µl	2 %	667 µl	-	8.333 µl
R 4	1 mM	1.000 µl	2 %	667 µl	8.333 µl	-
V 4	-	-	-	-	1.667 µl	8.333 µl

Um die Bildung von Fe(OH)₃ zu verhindern, wird der pH des NF-Konzentrats vorher mit HCl_{konz.} auf 4 - 4,5 eingestellt. Die Ansätze werden über Nacht auf einen Schüttler gestellt.

¹³⁴ Knackmuss, H. J.: Vorschlag in der Beiratssitzung zu diesem Projekt am 4.9.00, Fraunhofer-Gesellschaft für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik Stuttgart

¹³⁵ Millioli, V. S., Freire, D. D. C., Cammarota, M. C.: Testing the efficiency of Fenton's Reagent in treatment of petroleum contaminated sand; Engenharia Térmica, Edição Especial, S. 44-47, Brasilien 2002

¹³⁶ Yoon, J., Lee, Y., Kim, S.: Investigation of the reaction pathway of OH radicals produced by Fenton oxidation in the conditions of wastewater treatment, Water Science & Technology 44 (5), S. 15–21, IWA Publishing 2001

Danach wird der CSB und TOC aller Proben bestimmt. Färbungen und Ausfällungen werden notiert.

In den F-Ansätzen erfolgt die Fenton-Reaktion. Die V-Ansätze zeigen den Verdünnungseffekt der entsprechenden F-Ansätze im Vergleich zu V 0 ohne den Einfluss der Reagenzien auf die Analyseparameter. Die CSB- und TOC-Veränderung durch die Fenton-Reaktion ergibt sich durch den Vergleich der jeweiligen F- und V-Ansätze. Mit den R-Ansätzen wird der separate Einfluss der Reagenzien auf die Analyseparameter ohne das NF-Konzentrat untersucht.

2.11.5 Batchversuch 1: Untersuchung der Abbauleistung durch Weiß- und Braunfäulepilze

Die Abbaueigenschaften der 14 DSMZ-Stämme bezüglich der refraktären Sickerwasserinhaltsstoffe sollen in Schüttelkulturen mit Konzentrat aus der Nanofiltration (NF-Konzentrat) bei RT untersucht werden.

Die 14 DSMZ-Stämme werden in 20 ml modifiziertem DSMZ-Medium 90 in 50-ml-Erlenmeyerkolben kultiviert. Statt Wasser wird das Medium mit Sickerwasserkonzentrat aus der Nanofiltration aufgefüllt. Vor dem Animpfen wird der Ausgangs-CSB (LCK 514 siehe unten) bestimmt. Zu jedem Messpunkt wird je 2 ml Probe steril entnommen und in einer *Heraeus Biofuge 13* bei RT und 10000 rpm für 3 min. abzentrifugiert. Vom Überstand wird 1 ml 1 : 2 verdünnt und für die CSB-Bestimmung verwendet. Um zu testen, ob Abbauprodukte des NF-Konzentrats vorliegen, die bakteriell verwertet werden können, werden die Kulturen mit 200 µl Belebtschlamm angeimpft und geschüttelt. Nach Zentrifugation in einer *Heraeus Biofuge 13* bei RT und 10000 rpm für 3 min. wird mit dem 1 : 2 verdünnten Überstand aus 2 ml Probe der CSB gemessen.

2.11.6 Batchversuch 2: Untersuchung der Abbauleistung durch Weiß- und Braunfäulepilze

Von gut bewachsenen Malzextrakt-Sojapepton-Nährböden (DSMZ-Agar 90) wird pro Stamm je ein Agarblock (Größe: 1 cm³, vgl. auch Schlosser et al.¹³⁷) ausgeschnitten und in je 20 ml K1-Medium in 50-ml-Erlenmeyerkolben kultiviert. Parallel wird ein Leerwert (K1-Medium) angesetzt und gleich behandelt. Zu jedem Messpunkt wird je 2 ml Probe steril entnommen und in einer *Heraeus Biofuge 13* bei RT und 10000 rpm für 3 min. abzentrifugiert. Vom Überstand wird 1 ml 1 : 5 verdünnt und für die TOC-Bestimmung (LCK 383 siehe unten) verwendet. Um zu testen, ob Abbauprodukte des NF-Konzentrats vorliegen, die bakteriell verwertet werden können, werden die Kulturen mit 200 µl Belebtschlamm angeimpft und für 3 d geschüttelt. Nach Zentrifugation in einer *Heraeus Biofuge 13* bei RT und 10000 rpm für 3 min. wird mit dem Überstand eines 2-ml-Aliquots eine weitere TOC-Bestimmung durchgeführt.

¹³⁷ Schlosser, D., Grey, R., Fritsche, W.: Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor*. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood, *Appl Environ Microbiol* 47, S. 412 – 418, 1997

2.12 Anorganische Parameter

2.12.1 Probenaufschluss für die Gesamtanalyse komplexgebundener Parameter

Deponiesickerwasser ist ein komplexes Gemisch aus organischen und anorganischen Inhaltsstoffen. Metalle sind zum Teil in organischen, cyanidischen und anorganischen Chelatkomplexen gebunden und können im sauren Milieu gelöst werden. Gelöste Schwermetalle sind toxisch. Freigesetzte Phosphorverbindungen tragen zur Eutrophierung der Gewässer bei. Ein thermischer Aufschluss von Sickerwasserproben mit Säuren und/oder starken Oxidationsmitteln (Wasserstoffperoxid, Kaliumpersulfat) zerstört die organischen Verbindungen und ermöglicht daher die Beurteilung des Gefahrenpotentials auch gebundener Parameter, da diese unter Umständen nach Einleitung in die Oberflächengewässer remobilisiert werden können. Organische Färbungen des Deponiesickerwassers werden durch den Aufschluss beseitigt, was die photometrische Analyse erleichtert.

Zur Reduzierung der organischen Belastung die Probe auf einen CSB < 1200 mg/l verdünnen (Verdünnungsfaktor bei den späteren Messungen berücksichtigen). In einem 250-ml-Becherglas 50 ml einer (verdünnten) Probe mit 10 Dosierlöffeln *Merck Oxisolv*[®] 1.12936 (Kaliumpersulfat, Kaliumperoxodisulfat) versetzen. Nach Aufkochen unter dem Abzug oder in der Mikrowelle bei 500 W lässt man die Probe abkühlen.

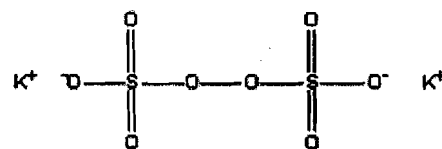


Abbildung 27: Kaliumperoxodisulfat

Bei mangelnder Entfärbung nochmals 10 Dosierlöffel *Merck Oxisolv*[®] zugeben und die Prozedur wiederholen. Probe auf pH 5 einstellen und in 50-ml-Eichkolben überführen; Becherglas mit VE-Wasser vorsichtig nachspülen, Inhalt ebenfalls in den Eichkolben überführen und bis zur 50-ml-Marke des Kolbens mit VE-Wasser auffüllen. Restliche Verfärbungen und Trübungen durch Filtration mit einem Faltenfilter (Schleicher & Schuell 595 ½) unter Hinnahme möglicher Minderbefunde beseitigen. Den Verdünnungsfaktor auf dem Aufschlusskolben vermerken, da er bei der Ermittlung der Endkonzentration berücksichtigt werden muss. Der Aufschluss dient zur Analyse wässriger Proben auf den Gesamtgehalt an Eisen, Zink, Kupfer, Nickel, Blei, Cadmium, Arsen, Quecksilber und Phosphor. Für die $C_{r_{ges}}$ -Bestimmung von *Dr. Lange* ist bereits ein Aufschluss vorgesehen. Der komplexgebundene Anteil eines Parameters ergibt sich aus der Differenz des Gesamtgehalts (Analyse nach Aufschluss) und des Anteils an gelösten Ionen (Analyse ohne Aufschluss).

2.12.2 Eichlösungen für *Merck Spectroquant*[®]

Für die Bestimmung der chemischen Parameter mit *Merck Spectroquant*[®] werden Eichkurven nach DEV durch Verdünnungsreihen aus Stammlösungen mit bekannter Konzentration erstellt. Die Messungen werden mit einem *UV-160-Spektral-Photometer* von *Shimadzu* durchgeführt. Aus den Eichkurven können die unbekanntenen Stoffkonzentrationen von Abwasserproben mit Hilfe von Schnelltests (*Merck Spectroquant*[®]) und photometrischer Messung ermittelt werden. Die Stoffkonzentration c (mg/l) wird durch die Formel

$$c = F * E * V$$

berechnet. E ist die Extinktion und V der Verdünnungsfaktor. Der Faktor $F = c_E / E_E$ wird aus den Eichkurven ermittelt (c_E = Mittelwert der Konzentration der Eichlösung und E_E = Mittelwert der Extinktion der Eichlösung).

Tabelle 17: Eichlösungen nach DEV für Merck Spectroquant®

Merck	Eichlösung	Stammlösung	Standardlösung
14752	Ammonium-sulfat	0,4717 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l N	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l N. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l N.
14776	Natriumnitrit	0,4926 g NaNO_2 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l N	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l N. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l N.
14773	Kaliumnitrat	0,7219 g KNO_3 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l N	
14767	Kupfersulfat	0,251 g CuSO_4 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l Cu	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l Cu. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l Cu.
14842 und 14484	Kalium-dihydrogen-phosphat	0,439 g KH_2PO_4 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l P	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l P. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l P.
14832	Zinkchlorid	0,208 g ZnCl_2 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l Zn.	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l Zn. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l Zn.
14779	Natriumsulfid x 7-9 H_2O	0,2434 g Na_2S in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l S	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l S. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l S.
14761	Eisen(II)sulfat x 7 H_2O	0,4977 g FeSO_4 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l Fe	Standard: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l Fe.
14785	Nickelchlorid x 6 H_2O	0,4048 g NiCl_2 in 1 l H_2O entspricht 100 mg/l Ni.	Standard 1: 10 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 1 mg/l Ni. Standard 2: 100 ml Stammlösung in 1 l H_2O entspricht 10 mg/l Ni.

Die Chemikalien für die Stammlösungen werden vor dem Einwiegen 1 h bei 105°C im Trockenschrank getrocknet. Stammlösungen sind bei 4°C eine Woche haltbar. Standardlösungen werden unmittelbar vor Gebrauch hergestellt. Aus den Standardlösungen werden Verdünnungen in geeichten 50 ml Rundkolben angesetzt, die innerhalb des vorgegebenen Messbereichs liegen.

2.12.3 Gesamt-Stickstoff (Analyse von Ammonium, Nitrit und Nitrat)

Der gelöste Gesamt-Stickstoff resultiert aus der Addition der Komponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat. Der Gesamt-Stickstoff kann als Nitrat bestimmt werden, wenn durch Probenaufschluss alle N-Quellen zu Nitrat oxidiert werden.

Ammonium-Stickstoff wird mit *Merck Spectroquant*[®] 14752 durch Kolorimetrie von blauem 2,2'-Isopropyl-5,5-methyl-indophenol (Berthelots Reaktion) in einem Messbereich von 30 – 3000 µg/l bei einer Wellenlänge von 690 nm mit dem *Shimadzu-UV160*-Photometer nachgewiesen.

Nach Alkalisierung durch NH₄-1B auf pH 13 reagiert Ammonium mit Hypochlorit (NH₄-2B) zu Monochloramin, welches in einer katalysierten Zweistufenreaktion mit Thymol (NH₄-3B) ein blaues Indophenol bildet. Als Katalysator fungiert Nitroprussid-Natrium (giftig).

Originalproben aus Deponiesickerwasser werden klarfiltriert und mindestens 1 : 100 verdünnt. Proben aus behandeltem Sickerwasser werden mindestens 1 : 10 verdünnt.

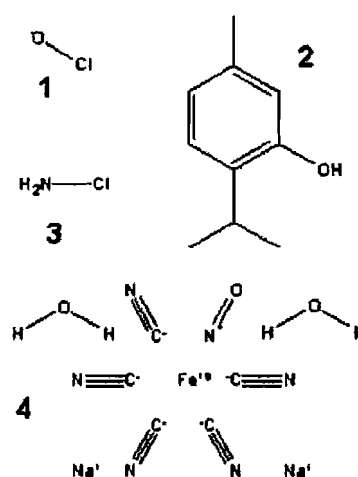


Abbildung 28: 1. Hypochlorit
2. Thymol 3. Monochloramin 4.
Nitroprussid-Natrium

Tabelle 18: Ammonium-Bestimmung

Probenahme (20-30°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von NH ₄ -1B, mischen	0,6 ml
Zugabe von NH ₄ -2B, mischen	1 Mikrolöffel (blau)
Standzeit	5 min.
Zugabe von NH ₄ -3B, mischen.	4 Tropfen
Standzeit	5 min. (bis 50 min.)
Messung	Photometer: 690 nm

Nitrit-Stickstoff reagiert mit Sulfanilsäure zu 4-Diazobenzolsulfonsäure. Durch anschließende Kupplung des diazotierten Amins mit N-[Naphthyl-(1)]-ethylendiammoniumdichlorid entsteht bei einem pH von 2,1 ein rotvioletter Azofarbstoff. Mit *Merck Spectroquant*[®] 14776 wird bei 525 nm in einem Bereich zwischen 30 – 3000 µg/l mit dem *UV160*-Photometer gemessen.

Für die Nitrit-Bestimmung von Deponiesickerwasser wird 1,5 ml Probe mit je 35 µl *Bioquant*[®]-Carrez-Lösung 1 und 2 (*Merck 10537*) in einem 2,2-ml-Eppendorfreaktionsgefäß versetzt, gemischt und bei 10.000 rpm für 2 min. bei RT in einer *Heraeus Biofuge 13* abzentrifugiert. Carrez-Lösung 1 enthält zweiwertiges Blutlaugensalz und Lösung 2 Zinksulfat. An den entstehenden schwer löslichen Niederschlag aus Zn₃[Fe(CN)₆] adsorbieren großmolekulare Substanzen, die ausgefällt werden.

Gemäß der Anzahl der Proben werden Reagenzgläser mit 4 µl 25 %-iger Schwefelsäure und (5000-4-x) µl VE-Wasser vorbereitet. Vom Überstand der Probe wird je nach gewünschter Verdünnungsstufe x µl in ein Reagenzglas überführt. Die Säurezugabe gewährleistet einen pH von 3, so dass die folgende Farbreaktion durch in der Probe enthaltene Puffer nicht gestört wird.

Abbildung 29: 1. Sulfanilsäure 2. N-(1-Naphtyl)-ethylendiammoniumdichlorid

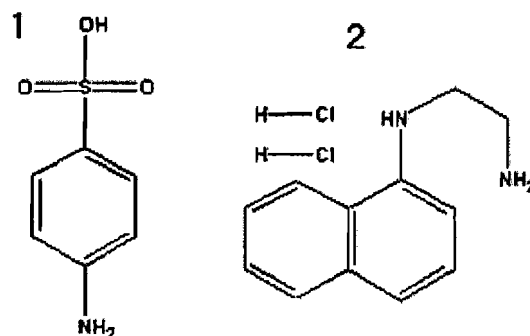


Tabelle 19: Nitrit-Messung

Probenahme (20-40°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von NO ₂ -AN, lösen	1 Mikrolöffel (blau)
Standzeit	10 min. (bis maximal 1000 min.)
Messung	Photometer: 525 nm

Nitrat-Stickstoff bildet in konzentrierter Schwefelsäure (NO₃-2A) mit Nitrospectral (keine Herstellerangaben, NO₃-1A) eine tiefrot gefärbten Nitroverbindung, die in einem Messbereich von 1 bis 90 mg/l mit *Merck Spectroquant*[®] 14773 bei einer Wellenlänge von 515 nm photometrisch nachgewiesen wird. Deponiesickerwasserproben werden 1 : 10 verdünnt. Die Farbkorrektur erfolgt über die photometrische Messung der Probe mit und ohne Nitrospectral gegen einen Reagenzienblindwert. Die Differenz ergibt unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors die Nitratkonzentration.

Tabelle 20: Nitrat-Messung bei gefärbten Proben (Deponiesickerwasser 1 : 10)

:	Analysewert	Färbungswert
Zugabe von NO ₃ -1A	1 Mikrolöffel (blau)	entfällt
Zugabe von NO ₃ -2A (20-35°C)	5 ml (Vorsicht, konz. Schwefelsäure)	
Probenahme (Vorsicht, Wärmeentwicklung!)	1,5 ml Probe (pH 0 bis 13) bzw. 1,5 ml VE-Wasser (Leerwert) zugeben und sofort mischen.	
Standzeit	10 min. (exakt)	
Messung des Analysewerts	Photometer: 515 nm	

$$\text{Nitratgehalt} = (\text{Analysewert} - \text{Färbungswert}) \times 10$$

Tabelle 21: Nitrat-Messung mit klaren Proben

Zugabe von NO ₃ -1A	1 Mikrolöffel (blau)
Zugabe von NO ₃ -2A (20-35°C)	5 ml
Probenahme (Wärmeentwicklung!)	1,5 ml Probe (pH 0 - 13) bzw. Leerwert zugeben.
Standzeit	10 min. (exakt)
Messung des Analysewerts	Photometer: 515 nm
Standzeit	10 min. (exakt)
Messung gegen Blindwert der 1. Messung	Photometer: 515 nm

2.12.4 Gesamt-Phosphor

Durch den Probenaufschluss (siehe Punkt 2.12.1) wird organisch gebundener Phosphor zu Phosphat oxidiert. Gesamt-Phosphor reagiert nun als Phosphat in schwefelsaurer Lösung mit Ammoniumvanadat und Ammoniumheptamolybdat zu einem orangegelben Komplex der Molybdatovanadatophosphorsäure. Dieser Nachweis erfolgt mit *Merck Spectroquant*[®] 14842. Alternativ bildet das aufgeschlossene Phosphat bei *Merck Spectroquant*[®] 14848 mit Molybdat in schwefelsaurer Lösung Molybdatophosphorsäure, die durch Ascorbinsäure zu Phosphormolybdänblau reduziert wird. Der Verdünnungsfaktor des Probenaufschlusses muss

berücksichtigt werden. Feindt¹³⁸ schlägt für die Deponiesickerwasseranalyse bei höheren CSB-Werten mindestens eine Verdünnung von 1 : 10 vor.

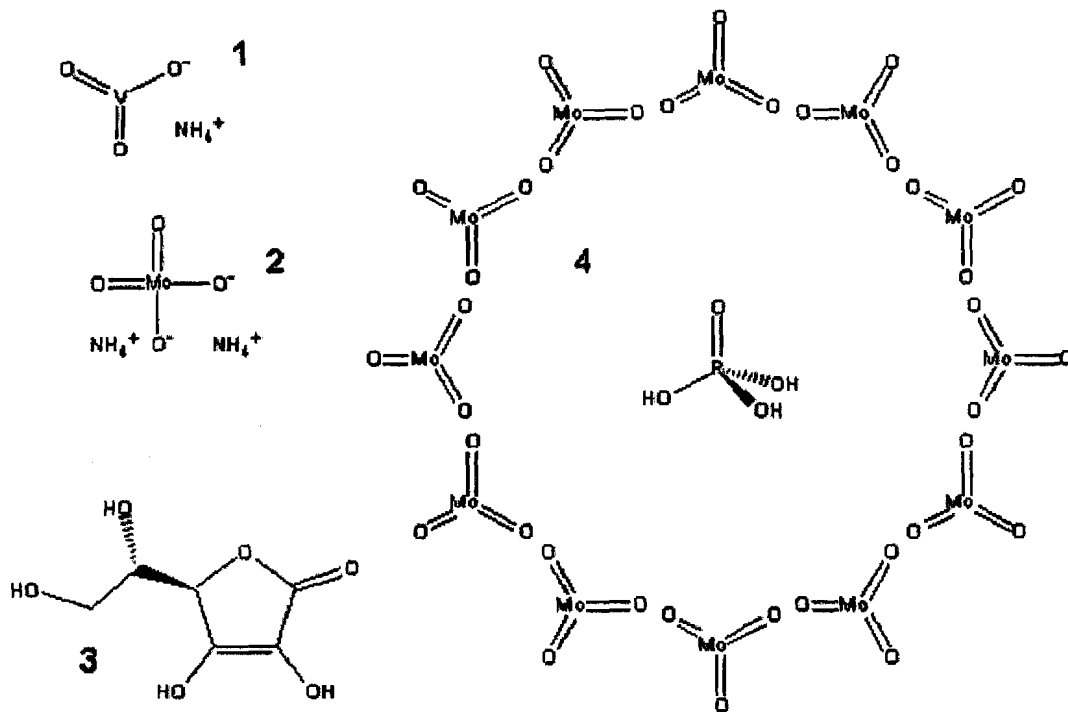


Abbildung 30: 1. Ammoniumvanadat 2. Ammoniummolybdat (nicht komplexiert)
3. Ascorbinsäure 4. Molybdatophosphorsäure

Tabelle 22: Gesamt-Phosphor-Messung (Merck 14848)

Probenahme (10-35°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von P-1A, mischen	5 Tropfen
Zugabe von P-2A, mischen	1 gestrichener Mikrolöffel (blau)
Standzeit	5 min. (bis 60 min.)
Messung	Photometer: 710 nm

Tabelle 23: Gesamt-Phosphor-Messung (Merck 14842)

Probenahme (20-30°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von P-AH, mischen	1,2 ml
Standzeit	2 min. (bis 100 min.)
Messung	Photometer: 400 nm

2.12.5 Cyanid, leicht freisetzbar

Die Instabilität und die Reaktionsfreudigkeit der meisten Cyanide verlangt die möglichst rasche Analyse der Probe. Leicht freisetzbare Cyanide sind definiert als freie Cyanid-Ionen, durch Komplexbildner freisetzbare und durch Chlor zerstörbare Cyanide. Die leicht freisetz-

¹³⁸

Feindt, C.: persönliche Mitteilung, Merck Eurolab GmbH, Juni 2000

baren Cyanide aus Metallcyanokomplexen werden durch den Aufschluss des *Dr.Lange*-Küvettentests LCK 316 messbar.

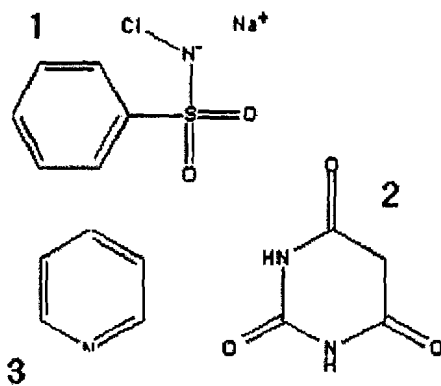


Abbildung 31: 1. Chloramin B 2. Pyridin
3. Barbitursäure

Eine 3 ml Probe wird in einem Reaktionsglas durch 0,2 ml Reagenz A (keine Herstellerangaben) aufgeschlossen. Das Cyanid liegt nach 30 min. Inkubation bei 100°C als leicht dissoziierbares Alkalicyanid vor. Von der Probe wird 1 ml in die Analyseküvette geben, wo die Cyanide mit dem in der Küvette enthaltenen 17 %-igen Chloramin B Chlorcyan bilden. Die Küvette wird mit einem *DosiCap*[®] B, das wahrscheinlich die Barbitursäure enthält (keine Angaben), verschlossen. Die Küvette wird mit 1 ml Pyridin-Salzsäure-Lösung C versetzt. Das Chlorcyan reagiert mit Pyridin zu Glutacondialdehyd, welches mit Barbitursäure einen für Cyanide spezifischen roten Farbkomplex bildet. Als Leerwert wird eine Küvette mit 1 ml aufgeschlossener Probe und 1 ml VE-Wasser verwendet.

Tabelle 24: Bestimmung von leicht freisetzbarem Cyanid

LCK	Probevolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
316	4 ml	0,1 – 0,5 mg/l	Roter Glutacondialdehyd-Barbitursäure-Komplex	588 nm

2.12.6 Gelöstes Sulfid

Die Anwesenheit von Sulfid wird durch den charakteristischen Geruch nach faulen Eiern angezeigt, da Sulfide zum Teil in Form von Schwefelwasserstoff aus dem Deponiesickerwasser entweichen. Der Schwefelwasserstoff kann mit Metallen zu Metallhydrogen- und Metallsulfiden reagieren. Die Analyse sollte daher unmittelbar nach der Probennahme erfolgen.

Mit *Merck Spectroquant*[®] 14779 sind wasserunlösliche Metallsulfide nicht messbar. Neben Schwefelwasserstoff und den Metallhydrogensulfiden werden daher nur die Erdalkali- und Alkalisulfide sowie Aluminium- und Chromsulfid erfasst.



Abbildung 32: N,N'-Dimethyl-1,4-phenylen-diammoniumdichlorid

Nach der Caro-Fischer-Reaktion reagiert Schwefelwasserstoff mit N,N'-Dimethyl-1,4-phenylen-diammoniumdichlorid (HS-2A) zu farblosem Leukomethylenblau. Durch Eisen(II)-sulfat (HS-3A) oxidiert die Verbindung zu Methylenblau. Störungen durch Nitrit werden durch Amidoschwefelsäure (HS-1A) unterbunden. Nach Feindt¹³⁹ verhindern reduzierende Stoffe einer Probe die Oxidation des mit Sulfid und N,N-Dimethyl-p-phenylendiamin gebildeten Leukomethylenblaus durch Eisen(II) zu Methylenblau. Eine Verdünnung der Probe mit Wasser beseitigt diesen Störeinfluss ebenso, wie absorbierende Effekte durch Färbung oder Trübung bei der photometrischen Messung.

¹³⁹

Feindt, C.: persönliche Mitteilung, Merck Eurolab GmbH, Juni 2000

Tabelle 25: Sulfid-Nachweis

Probenahme (5-25°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von HS-1A, mischen	1 Tropfen
Zugabe von HS-2A, mischen	5 Tropfen
Zugabe von HS-3A, mischen	5 Tropfen
Standzeit	5 min. (bis 1 h.)
Messung	Photometer: 665 nm

2.12.7 Chlorid

Der *Dr.Lange*-Küvettentest für Chlorid beruht auf der Umsetzung von Chlorid-Ionen mit Quecksilberthiocyanat zu Quecksilber(II)-chlorid. Parallel wird eine äquivalente Menge Thiocyanat-Ionen freigesetzt, die mit Eisen(III)-Salzen zu Eisen(III)-thiocyanat reagieren. Die Probe wird in die Küvette gegeben, geschwenkt und nach 3 min. mit dem Photometer *LP 2 W* ausgewertet. Der Test toleriert maximal 0,4 mg/l Cyanid und 0,4 mg/l Sulfid.

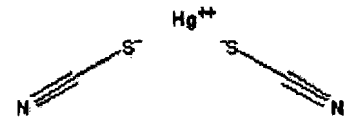


Abbildung 33: Quecksilberthiocyanat

Die Bestimmung von Chlorid ist zwar in Anhang 51 der Abwasserverordnung nicht vorgesehen, aber aus folgenden Gründen ein wichtiger Parameter:

- Chlorid hemmt das Wachstum von *Tetrahymena thermophila* im Protozoen-Toxkit.
- Chlorid stört in die chemische Analyse vieler Parameter.
- Erhöhte Chlorid-Konzentrationen können in den Reaktoren durch verstärkte pH-Regulierung auftreten. Ansteigende Ablaufkonzentrationen sind daher ein Indiz für sich verändernde mikrobielle Stoffwechselprozesse.
- Chlorid ist ein Maß für die Permeabilität der Nanofiltrationsmembran.

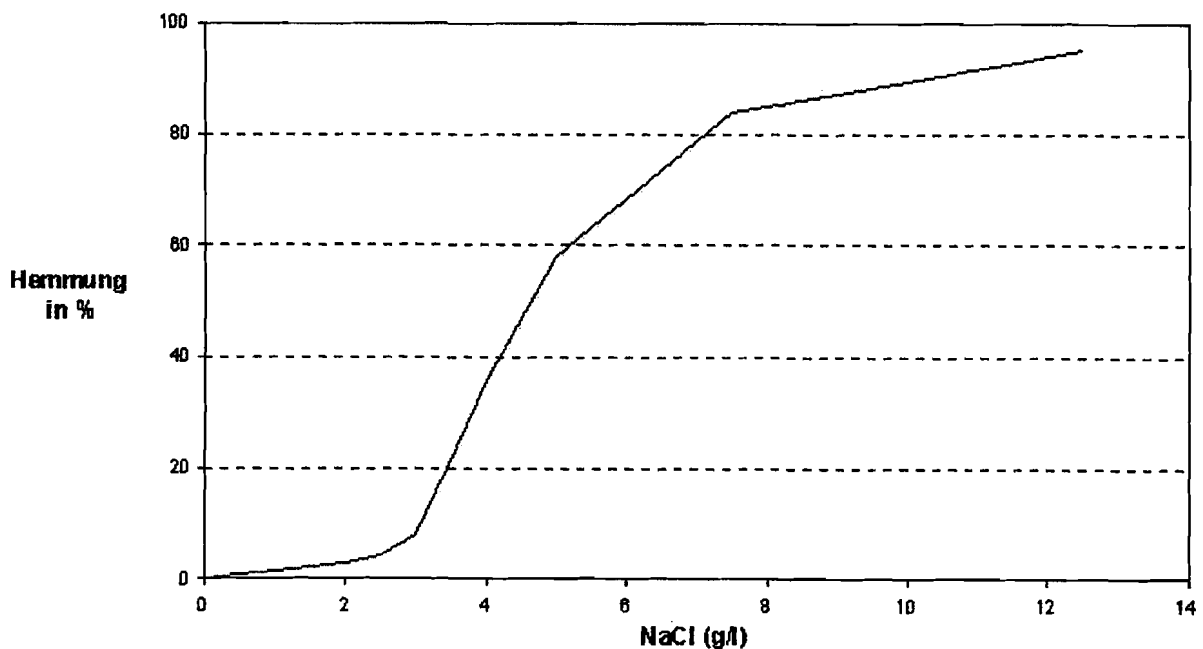


Abbildung 34: Einfluss des Chlorids auf das Wachstum von *Tetrahymena thermophila*.

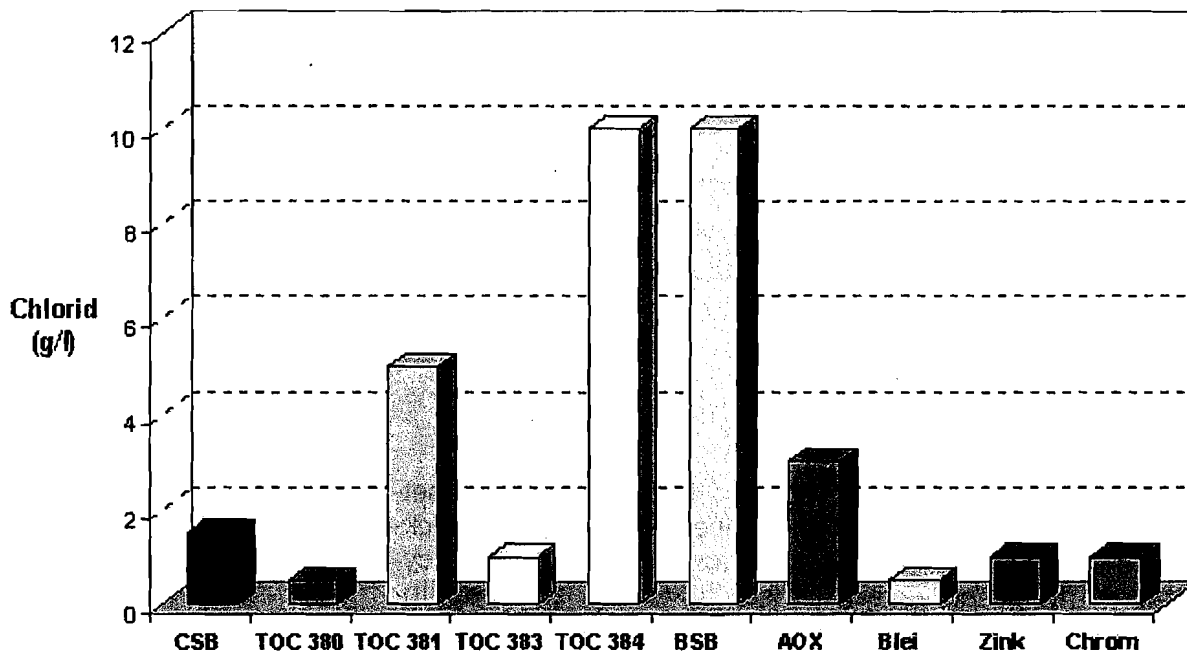


Abbildung 35: Maximale Chlorid-Grenzwerte für die chemische Analyse der aufgeführten Parameter.

Tabelle 26: Chlorid-Messung

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
311	1 ml	1 - 70 mg/l	Farbumschlag	470 nm
311 M	0,1 ml	70 - 1000 mg/l	Farbumschlag	470 nm

2.12.8 Nickel

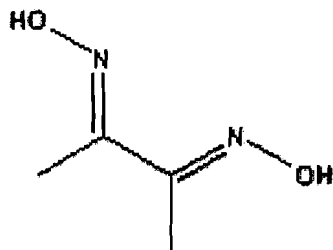


Abbildung 36: Dimethylglyoxim

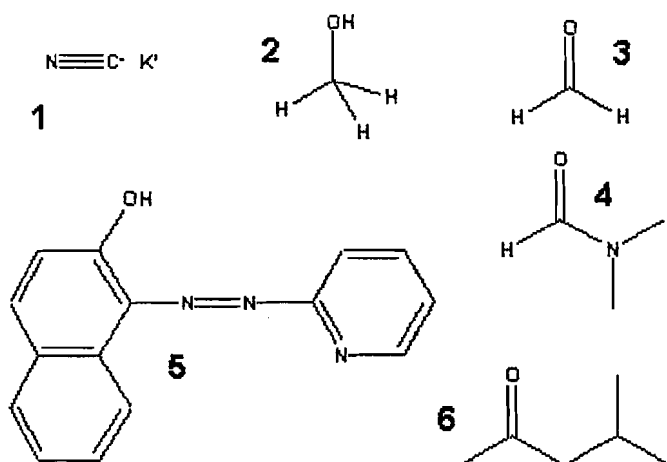
Durch Aufschluss der Probe wird das Nickel aus komplexen Verbindungen herausgelöst und als zweiwertiges Kation mit *Merck Spectroquant*[®] 14785 analysiert.

Die Nickel-Ionen werden durch Jod im Reagenz Ni-1A in höhere Oxidationsstufen überführt. Durch Reagenz Ni-2A mit Ammoniak und farblosen Chelatbildnern wird der pH auf 11,5 eingestellt und das überschüssige Jod gleichzeitig zerstört. Mit Dimethylglyoxim (Butandion-(2,3)-dioxim) in Ni-3A reagiert Nickel zu einem rotbraunen Farbkomplex. Der Verdünnungsfaktor des Probenaufschlusses muss berücksichtigt werden.

Tabelle 27: Nickel-Analyse

Probenahme (20-30°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von Ni-1A, mischen	1 Tropfen
Zugabe von Ni-2A, mischen	2 Tropfen
Zugabe von Ni-3A, mischen	2 Tropfen
Standzeit	5 min. (bis 10 min.)
Messung	Photometer: 445 nm

2.12.9 Zink



Ungelöstes und komplex gebundenes Zink wird durch Probenaufschluss mit *Merck Oxisolv*[®] messbar.

Zn^{2+} -Ionen bilden in alkalischer Lösung mit Pyridylazonaphtol einen roten Chelatkomplex, der extrahiert und photometrisch gemessen werden kann. Chloridkonzentration über 1 g/l stören die Zinkanalyse (*Merck Spectroquant*[®] 14832).

Abbildung 37: 1. Kaliumcyanid 2. Methanol 3. Formaldehyd 4. Dimethylformamid 5. 1-(2-Pyridylazo)-2-naphtol 6. Isobutylmethylketon

Tabelle 28: Zink-Bestimmung

Probenahme (5-35°C, pH 4-10)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von Zn-1A (NaOH), mischen	5 Tropfen \Rightarrow pH > 12
Zugabe von Zn-2A, mischen.	2 Tropfen. Vorsicht, Kaliumcyanid!
Zugabe von Zn-3A, mischen	5 Tropfen (Dimethylformamid)
Zugabe von Zn-4A, mischen	3 Tropfen (Formaldehyd, Methanol)
Zugabe von Zn-5A, mischen	1 gestrichener grauer Mikrolöffel (Natriumdiethyldithiocarbaminat)
Extraktion	5 ml Isobutylmethylketon
Nach kräftigem Schütteln organische Phase (obere, klare Schicht) in Küvette überführen.	30 s
Standzeit	3 min. (bis 100 min.)
Messung	Photometer: 565 nm

2.12.10 Arsen

Der Arsen-Test erfolgt halbquantitativ mit *Merckoquant*[®] 10026. Ein Teststäbchen wird mit der Reaktionszone nach unten in dem Schlitz der Verschlusskappe des Reaktionsgefäßes fixiert, so dass es in zwei Hälften geteilt wird. Zu 5 ml einer aufgeschlossenen Probe gibt man einen Messlöffel Zink und schüttelt. Durch die Zugabe von 10 Tropfen 32%-iger Salzsäure entwickelt sich aus 3- und 5-wertigen Arsenverbindungen der Probe gasförmiger Arsenwasserstoff (Aufschäumen). Deshalb muss das Reaktionsglas unverzüglich geschlossen werden. Der Arsenwasserstoff reagiert mit der mit Quecksilber(II)-bromid getränkten Reaktionszone des Teststäbchens im Gasraum über der Lösung. Nach 30 min. Reaktionszeit, während der zwei- bis dreimal kreisend umgeschüttelt wird, wird das Stäbchen herausge-

nommen, mit VE-Wasser gespült und mit der Farbskala verglichen. Die Farbskala erlaubt die halbquantitative Analyse von 0 - 0,1 - 0,5 - 1,0 - 1,7 - 3 mg/l Arsen. Zwischenfärbungen werden als „kleiner als“ des nächst höheren Wertes bestimmt.

2.12.11 Kupfer

Durch den Aufschluss der Probe werden komplexe Kupferverbindungen [z.B. Tetracyanocuprat(II)] zerstört. Die Hydrolyse von Kupfer wird durch Senkung des pH-Wertes auf 3 erreicht.

Kupfer kann nun mit *Merck Spectroquant*[®] 14767 analysiert werden. Mit Reagenz Cu-1A wird Kupfer in Diamminkuprat(II) überführt, dass mit Cuprizon [Cu-2A, Oxalsäurebis(cyclohexylidenhydrazid)] im alkalischen Tartratmedium unter Bildung eines königsblauen Farbkomplexes reagiert. Nach der Zugabe von Cu-1A sollte der pH zwischen 7,8 und 8,2 liegen. Der Verdünnungsfaktor des Probenaufschlusses muss berücksichtigt werden.

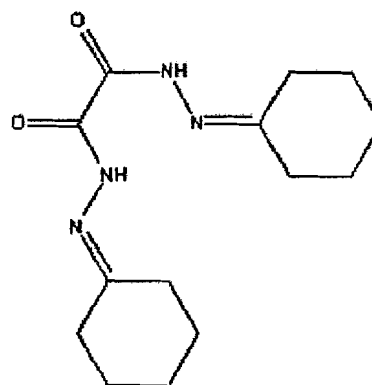


Abbildung 38: Cuprizon

Tabelle 29: Kupfer-Bestimmung

Probenahme (20-30°C)	5 ml Ansatz bzw. 5 ml VE-Wasser (Leerwert)
Zugabe von Cu-1A, mischen	1 gestrichener Löffel (grün)
Zugabe von Cu-2A, mischen	5 Tropfen
Standzeit	5 min. (bis 15 min.)
Messung	Photometer: 595 nm

2.12.12 Blei

Vor der Bleianalyse mit dem Küvettestest *LCK 306* von *Dr. Lange* müssen ungelöstes Bleihydroxid oder komplexe Bleiverbindungen aufgeschlossen werden. Der Ausgangs-pH sollte unter 6 sein, daher wird mit einer Pasteurpipette 1 Tropfen konz. Salzsäure in das Reaktionsglas gegeben. Im angesäuerten Reaktionsglas wird eine aufgeschlossene 10-ml-Probe mit Natriumsalicylat (1 Dosierlöffel Maskierungssubstanz A) versetzt, geschwenkt und 2 min. stehengelassen. In der Zwischenzeit wird die Analysenküvette, die 70 % Kaliumcyanid (sehr giftig) enthält, mit 1,5 ml Lösung B (< 0,5 % NaOH) vorbereitet. Dadurch wird der pH-Wert auf 9 eingestellt.

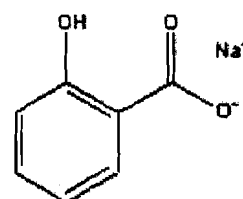


Abbildung 39: Natriumsalicylat

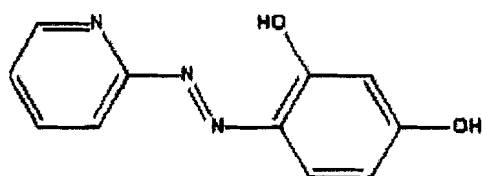


Abbildung 40: 4-(2-Pyridylazo)-resorcin

Blei(II)-Ionen bilden mit 4-(2-Pyridylazo)-resorcin (PAR) bei pH 9 einen roten Komplex.

Nach weiteren 2 min. wird die Analysenküvette im *LP2W*-Photometer auf Null abgeglichen, entnommen und mit 0,3 ml Maskierungslösung C (30 % Triethanolamin, 3 % HCl) versetzt. Nach Schwenken und Inkubation für 1 min. wird gemessen (Taste „Ergebnis“). Nullabgleich und Messung erfolgen für jede

Probe separat. Den Verdünnungsfaktor des Probenaufschlusses muss berücksichtigen werden. Das Testsystem toleriert maximal 500 mg/l Chlorid und, für nicht aufgeschlossenes

Sickerwasser besonders wichtig, nur 50 mg/l Ammonium. Durch den vorausgegangenen Probenaufschluss wird Ammonium zu Nitrat oxidiert.

Tabelle 30: Bleianalyse

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
306	4 ml	0,1 – 2 mg/l	Roter Resorcin-Komplex	535 nm

2.12.13 Chrom

Mit dem *Dr.Lange*-Küvettest LCK 313 kann sowohl Chrom gesamt als auch Chrom VI nachgewiesen werden. Die Konzentration von Chrom III ergibt sich aus der Differenz von Chrom gesamt und Chrom VI. Für die Chromanalyse wird 2 ml unbehandelte Probe in die Analysenküvette gegeben, die 21%-ige Phosphorsäure enthält.

Bei der **Chrom-VI-Messung** wird die Analysenküvette mit Probe im LP2W-Photometer bei 535 nm auf Null abgeglichen und anschließend direkt mit einem *DosiCap*[®] B verschraubt. Durch mehrfaches Schwenken wird das im Deckel befindliche 1,5-Diphenylcarbazon gelöst, welches mit Chrom VI zu 1,5-Diphenylcarbazon reagiert: Nach einer Reaktionszeit von 5 min. wird der rote Komplex photometrisch erfasst.

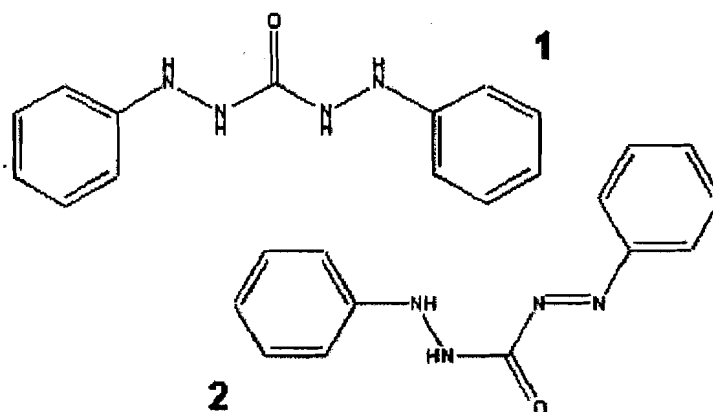


Abbildung 41: 1. 1,5-Diphenylcarbazid 2. 1,5-Diphenylcarbazon

Zur **Bestimmung von Gesamt-Chrom** Probe zunächst durch Natriumperoxodisulfat (60 %, *DosiCap*[®] A) für 60 min. bei 100°C im *Roth Thermostat TCR 100* aufschließen. Die abgekühlte Analyseküvette auf Null abgleichen und mit einem *DosiCap*[®] B verschrauben. Da das gesamte Chrom nun als Chrom VI vorliegt, kann es, wie oben, nach 5 min. gemessen werden.

Tabelle 31: Nachweis von Chrom (VI und gesamt)

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
313	2 ml	0,03 – 1 mg/l	Chrom-VI-Komplex des 1,5-Diphenylcarbazon	535 nm

2.12.14 Cadmium

Mit dem *Dr.Lange*-Küvettest LCK 308 erfolgt die Messung von Cadmium. In einem Reaktionsglas wird eine aufgeschlossene 10-ml-Probe mit 1 ml Komplexbildungslösung A (3 % Zyankali, 2 % Kaliumhydroxid: giftig, ätzend) versetzt. In die Analysenküvette, die neben Calcium 25 %-iges Ethanol und Kaliumhydroxid (< 2 %) enthält, wird 0,4 ml Stabilisator B (12 %

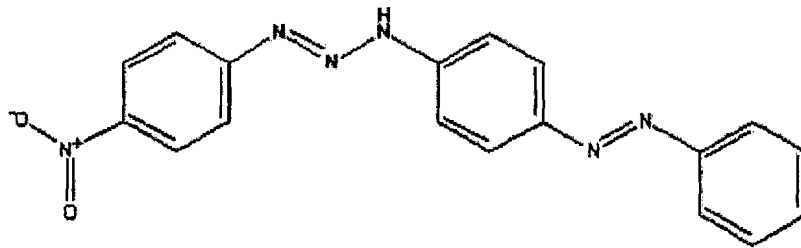


Abbildung 42: 1-(4-Nitrophenyl)-3-(phenylazophenyl)-triazen (Cation)

Formaldehyd, < 5 % Methanol) pipettiert. Das LP2W-Photometer wird gegen Luft auf Null abgeglichen. Anschließend wird der Ergebniswert (Anzeige: Wert 1) mit der Analysenküvette ohne Probe ermittelt. Nach Zugabe von 4 ml Probe und Schwenken der Küvette nach 30 s wird das

Ergebnis abgelesen. Das Cation bildet mit Cadmium einen Komplex. Dadurch nimmt die Farbintensität des violetten Cations ab.

Tabelle 32: Nachweis von Cadmium

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
308	10 ml	0,02 – 30 mg/l	Abnahme der Farbintensität des Cations	550 nm

2.13 Analyse des biologischen Abbaus über Summenparameter

Die biologische Aktivität der Reinigungsstufen wird durch Beprobung der Zu- und Abläufe überwacht. Die Problematik einer Einzelstoffanalytik von Abwässern wurde von Hahn¹⁴⁰ aufgrund der Vielzahl nicht bekannter Stoffe und Nebenstoffe in fünf Punkten dargestellt:

- „Im EG-Altstoff-Register sind ca. 115.000 gezielt hergestellte Stoffe registriert, die einzeln oder in Kombinationen im Abwasser enthalten sein können.
- Die bei der Produktion jedes einzelnen Stoffes zwangsweise mithergestellten unendlich vielen Nebenstoffe sind oft unbekannt und hinsichtlich ihres Anfalls nicht einmal vorhersehbar.
- Die biologischen Wirkungsdaten der Vielzahl von Stoffen und Nebenstoffen sind unbekannt.
- Die gegenseitige Verstärkung oder Abschwächung der stofflichen Wirkung bei gleichzeitiger Anwesenheit im Abwasser ist vollständig unbekannt (Synergismus, Antagonismus).
- Die Abbauprodukte (Metabolite) der Stoffe, deren Wirkung und deren gegenseitige Beeinflussung in Mehrstoffsystemen sind ebenfalls praktisch unbekannt.“

¹⁴⁰ Hahn, J.: Biologische Testverfahren zur Abwasserüberwachung, Korrespondenz Abwasser 12, S. 2279-2284, 1994

Deshalb werden in der Praxis Abwässer überwiegend über Summenparameter untersucht. Die Summenparameter CSB, BSB₇, TOC und AOX für die Zu- und Abläufe der biologischen Reinigungsstufe sind ein Maß für die Abbauleistungen der Mikroflora. Die Bestimmungen der Summenparameter erfolgen mit *Dr.Lange*-Küvetten-tests.

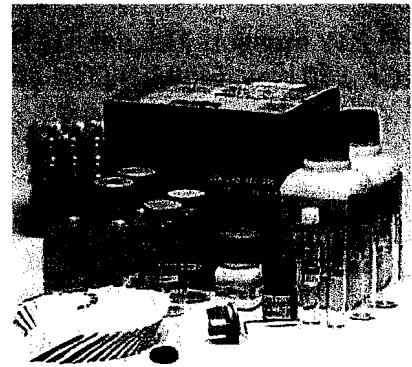


Abbildung 43: *Dr.Lange*-Küvettentest AOX LCK390

2.13.1 CSB - Chemischer Sauerstoffbedarf

Der Chemische Sauerstoffbedarf beschreibt den maximalen Sauerstoffbedarf bei der biochemischen Oxidation in der aeroben biologischen Abwasserreinigung und gibt einen Hinweis auf den Gehalt an organischen Verbindungen. Die Probe reagiert mit schwefelsaurer Kaliumdichromat-Lösung und Silbersulfat als Oxidationskatalysator. Das in der Probe enthaltene Chlorid wird durch Quecksilbersulfat maskiert. Bei Chloridgehalten von mehr als 1,5 g/l muss die Probe verdünnt werden. Die CSB-Bestimmung erfolgt je nach Konzentrationsbereich mit folgenden Küvettentests von *Dr. Lange*:

Tabelle 33: CSB-Küvettentests

LCK	Probevolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
314	2 ml	15 - 150 mg/l	Gelbfärbung des Cr ⁶⁺	440 nm
114	2 ml	150 - 1000 mg/l	Grünfärbung des Cr ³⁺	605 nm
514	2 ml	100 - 2000 mg/l	Grünfärbung des Cr ³⁺	605 nm
014	0,2 ml	1000 - 10000 mg/l	Grünfärbung des Cr ³⁺	605 nm

Eine Probe vorsichtig in die CSB-Küvette geben (Chromschwefelsäure, Wärmeentwicklung) und durch vorsichtiges Schwenken gut vermischen, bevor sie für 2 h bei 148°C in dem Thermostat *LT 1 W* von *Dr. Lange* inkubiert wird. Die Auswertung erfolgt nach Abkühlen auf RT mit dem Digital-Photometer *LP 2 W* von *Dr. Lange*.

2.13.2 TOC - Gesamter organischer Kohlenstoff

Der **TOC-Wert (total organic carbon)** gibt die Gesamtmenge an organischen Kohlenstoff im Wasser bzw. Abwasser an. Er macht keine Aussage über die Abbaubarkeit der Substanzen.

Bei der **Differenzmethode** wird in je einer kombinierten *Dr.Lange*-Küvette der Gesamtkohlenstoff (TC = total carbon) und der gesamte anorganische Kohlenstoff (TIC = total inorganic carbon) bestimmt. Die Differenz ergibt dann den TOC-Wert der Probe. Die kombinierte Küvette besteht aus einer Aufschluss- und einer Indikatorküvette, die durch einen Membran-Doppeldeckel fest miteinander verschraubt werden. Der Kohlenstoff wird bei der TC-Bestimmung durch Oxidation mittels Aufschlussreagenz Natriumperoxodisulfat und bei der TIC-Messung durch Ansäuern mit Natriumhydrogensulfat in CO₂ überführt. Das CO₂ diffundiert während der Inkubation für 2 h bei 100°C im *Roth Thermostat TCR 100* durch die Gasmembran und verfärbt die Indikatorlösung. Die Indikatorküvette mit dem Digital-Photometer

LP 2 W messen. Bei der TC-Bestimmung wirkt Chlorid in einer Konzentration von 0,5 g/l bei LCK 380 bzw. 5 g/l bei LCK 381 störend.

Tabelle 34: TOC-Differenzmethode

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
380	TC 2 ml TIC 2 ml TOC	12 - 75 mg/l 10-73 mg/l 2 - 65 mg/l	Farbänderung des Indikators	435 nm
381	TC 0,2 ml TIC 1 ml TOC	75 750 mg/l 15 - 150 mg/l 60 - 735 mg/l	Farbänderung des Indikators	435 nm

Die Küvettentests LCK 383 und 384 von Dr. Lange sind nach der TOC-Austreibmethode konzipiert. Der gesamte anorganische Kohlenstoff (TIC) einer 5 ml Probe wird durch Ansäuern mit 0,2 ml Natriumhydrogensulfat unter Rühren in einem 50-ml-Erlenmeyerkolben entfernt. Das entstehende Kohlendioxid wird ausgetrieben. In den Kolben wird einen Magnet mit 30 mm Länge und 7 mm Durchmesser gegeben. Die Probe wird auf einem IKA-Colour-Squid-Magnetrührer bei Stufe 3 (750 – 800 rpm) für 5 min. gerührt. Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, müssen die Rührbedingungen exakt eingehalten werden In die Aufschlussküvette wird mit Hilfe des Pulverdosierers LCW 912 Natriumperoxodisulfat gegeben, dass den gesamten organischen Kohlenstoff (TOC) von 0,2 ml Probe zu CO₂ oxidiert. Das CO₂ diffundiert während der Inkubation für 2 h bei 100°C im Roth Thermostat TCR 100 durch eine Membran in eine Indikatorküvette. Die Farbänderung der Indikatorküvette wird photometrisch gemessen. Test LCK 384 toleriert 10 g/l Chlorid, Test LCK 383 1 g/l Chlorid.

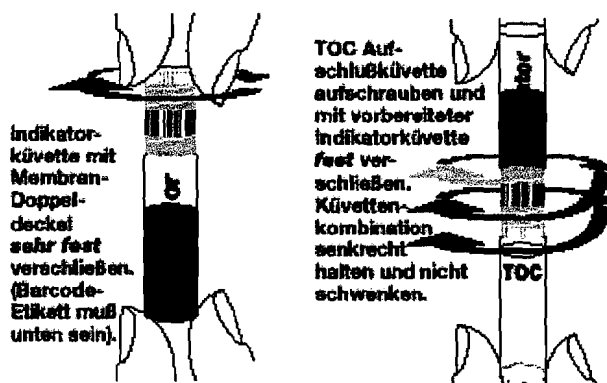


Abbildung 44: Dr.Lange-TOC-Bestimmung - kombinierte Aufschluss- und Indikatorküvette, verbunden durch einen Membran-Doppeldeckel

Tabelle 35: TOC-Austreibmethode

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
383	0,2 ml	5 - 50 mg/l	Farbänderung des Indikators	435 nm
384	0,2 ml	50 - 500 mg/l	Farbänderung des Indikators	435 nm

In Abhängigkeit der gemessenen organischen Verbindungen ergeben sich recht unterschiedliche Verhältnisse bei den CSB- und TOC-Werten.

Tabelle 36: CSB/TOC-Verhältnis in verschiedenen Modellsubstanzen¹⁴¹

Substanz	CSB (mg O ₂ /g)		TOC (mg C/g)	CSB / TOC
	theoretisch	DEV		
<i>Fettsäuren</i>				
Ölsäure	2834	2380	894	2,66
<i>Saccharide</i>				
Saccharose	1123	1097	491	2,23
Stärke	1185	1033	519	1,99
<i>Aminosäuren</i>				
Glycin	640	610	373	1,64
<i>Eiweiße</i>				
Pepton	1489	1100	618	1,78
<i>Alkohole</i>				
Methanol	1500	1513	438	3,46

2.13.3 BSB_n – Biochemischer Sauerstoffbedarf nach n Tagen

In Anlehnung an die Normen EN 1899-1¹⁴² und DIN 38409 H 51¹⁴³ wurde von *Dr. Lange* der Küvettentest *LCK555* zur **BSB_n-Bestimmung nach dem Verdünnungsprinzip** entwickelt. In der Regel wird der BSB₅ oder BSB₇ gemessen (BSB = Biochemischer Sauerstoffbedarf).

In einem 500-ml-Eichkolben werden 500 ml Leitungswasser abgemessen und in eine belüftbare Verdünnungswasserflasche überführt. Die Flasche wird in einer temperierbaren *WTW OxiTop®Box* 5 min. bei 20°C mit einem Kompressor belüftet, um freies Chlor auszutreiben. Zur Vermeidung von Verschmutzungen durch den Kompressor wird die Zuluft filtriert. Nach Zugabe von 0,3 ml Spurenelemente-Lösung D des *LCK555*-Küvettentests wird die Probe mit Animpfmaterial versetzt.

Die Norm EN 1899-1 erlaubt u. a. auch die Verwendung von an das jeweilige Abwasser adaptierten Mikroorganismen zur Animpfung von Verdünnungswasser für die BSB-Bestimmung nach n Tagen. Das Animpfmaterial für die Deponiesickerwasseranalytik entstammt dem Überstand von abgesetztem Belebtschlamm aus dem Nitrifikationsreaktor der ersten Biostufe und ist im Kühlschrank 1 Woche haltbar. Das Inokulum wird durch ein mit VE-Wasser vorgespültes Faltenfilter (Schleicher & Schuell 595 ½) in ein sauberes Gefäß filtriert. Die Vorspülung ist nach *Rudde*¹⁴⁴ erforderlich, um Rückstände (z. B.: Bleichmittel)

¹⁴¹ Funk, P.; Klein, H: Steuerungsparameter CSB contra Überwachungsparameter TOC?, Anwendungsbericht Ch. No. 35, Dr. Lange, Düsseldorf 1994

¹⁴² Normausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen (BSB_n). DIN EN 1899-1, Mai 1987

¹⁴³ Normausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.: Summarische Wirkungs- und Stoffgrößen (Gruppe H) – Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs nach n Tagen nach dem Verdünnungsprinzip (Verdünnungs-BSB_n). DIN 38409 H51, Mai 1998

¹⁴⁴ Rudde: DIN-Kommission BSB_n, persönliche Mitteilung, Dr. Lange Düsseldorf, August 1999

aus der Filterherstellung zu entfernen. In Abhängigkeit zum CSB wird die Animpfmenge ermittelt (siehe Tabelle). Die CSB-Bestimmung erfolgt mit dem Filtrat.

Tabelle 37: Ermittlung des Animpfvolumens in Abhängigkeit zur CSB-Bestimmung¹⁴⁵

CSB (mg/l)	10	25	50	100	150	200	250	300
Animpfvolumen (ml)	50	20	10	3,6	3,0	2,4	1,8	1,2

Um eine Sauerstoffsättigung zu erreichen, wird der Ansatz mindestens 1 h in der *WTW Oxi-Top®Box* bei 20°C belüftet. Zur Vermeidung einer Übersättigung mit Sauerstoff wird die Belüftung 1 h vor der Befüllung der Küvetten abgeschaltet. Den Sauerstoffgehalt wird mit einem O₂-Meßgerät (*WTW Oxi 96*) überprüft. Während der Messung muss die O₂-Elektrode bewegt werden, um eine Mindestströmung zu garantieren. Der Sauerstoffgehalt des Verdünnungswasseransatzes sollte mindestens 8 mg/l und die Zehrung nach 5 d maximal 1,5 mg/l betragen.

Der Küvettentest *LCK 555* deckt einen Messbereich von 4 bis 1650 mg/l BSB_n ab. Bei unbehandeltem industriellen und kommunalen Abwasser wird ein BSB_n von 35 bis 65 % des CSB-Gehalts der Probe erwartet, bei biologisch behandeltem Abwasser ein BSB_n von 20 bis 35 % des CSB-Gehalts der Probe. Je nach Verschmutzungsgrad des Abwassers werden die Proben nach folgendem Schema verdünnt und in entsprechend beschriftete Küvetten pipettiert:

Tabelle 38: Probenvorbereitung für den BSB_n-Küvettentest

Messbereich (mg/l)	Vorverdünnung im Reaktionsglas		davon in die Küvette
	Probe	Verdünnungswasser	
A: 4 – 58			
A 1: 4 - 19	4 ml	-	1,8 ml
A 2: 7 - 38	4 ml	-	0,9 ml
A 3: 11 - 58	4 ml	-	0,6 ml
B: 25 – 413			
B 1: 25 - 138	1 ml	1 ml	0,5 ml
B 2: 50 - 275	1 ml	3 ml	0,5 ml
B 3: 75 - 413	1 ml	5 ml	0,5 ml
C: 100 – 1650			
C 1: 100 - 550	0,4 ml	2,8 ml	0,5 ml
C 2: 200 - 1100	0,4 ml	6,0 ml	0,5 ml
C 3: 300 - 1650	0,4 ml	9,2 ml	0,5 ml

Die Küvetten werden mit Verdünnungswasser luftblasenfrei aufgefüllt. Als Leerwert dient eine ausschließlich mit Verdünnungswasser luftblasenfrei gefüllte Küvette. Durch Drehen der verschlossenen Küvetten kann geprüft werden, ob noch Luftblasen eingeschlossen sind. Diese sind gegebenenfalls durch die Zugabe von Verdünnungswasser zu entfernen. Die Proben werden dann lichtgeschützt n Tage bei 20°C in der *WTW OxiTop®Box* abgedunkelt inkubiert.

Nach n Tagen werden die Küvetten aufgeschraubt. Von dem Küvettenverschluss *Dosi-Cap®Zip* wird die Alufolie vorsichtig entfernt und der Inhalt vorsichtig über einen Trichter (*Dr. Lange EBT 006*) in die Küvette gegeben. Sollte sich der Flüssigkeitspegel nach Entfernen des Trichters unterhalb der Küvettenöffnung befinden, wird mit 2 bis 4 Glasperlen so aufge-

¹⁴⁵

Dr. B. Lange GmbH: Fibel A 122 – Verdünnungswasser für LCK 555 BSB₅, Düsseldorf 1998

füllt, dass die Küvetten luftblasenfrei verschlossen werden können. Innerhalb von 3 min. werden die Küvetten mehrfach geschwenkt, bis sich die Reagenztabletten vollständig gelöst haben. Nach weiteren 3 min. werden die gesäuberten Probenküvetten gegen den Leerwert in einem *Dr. Lange-LP2W-Photometer* bei 620 nm gemessen. Der Messbereich A 1 - 3, B 1 - 3 oder C 1 - 3 wird entsprechend der Schätzung anhand des CSB-Wertes gewählt. Messergebnisse der Stufen A 2, B 2 oder C 2 werden mit 2 und Werte der Stufen A 3, B 3 und C 3 mit 3 multipliziert.

Zur Kontrolle der BSB_n-Analytik wird der BSB einer Glucose-Glutaminsäure-Standardlösung gemessen. Nach EN 1899-1 muss wasserfreie D-Glucose und L-Glutaminsäure bei (105 ± 5)°C für 1 h getrocknet werden. Je (150 ± 1) mg beider Substanzen werden zusammen in 1 l VE-Wasser gelöst. Der empirische BSB₅ beträgt (210 ± 20) mg/l, der empirische BSB₇ (225 ± 20) mg/l Sauerstoff.

2.13.4 AOX - an Aktivkohle adsorbierende organische Halogene

Die AOX sind ein Maß für biologisch schwer abbaubare Substanzen. Die Bestimmung erfolgt mit dem Küvettentest *LCK 390* von *Dr. Lange*. Um Kontaminationen durch Raumluft oder Berührung zu vermeiden, muss dieser Test sehr sorgfältig unter Benutzung von Handschuhen und Pinzette durchgeführt werden. Die Proben sollten bei den jeweiligen Reaktionsschritten rasch überführt werden.

Zur Validierung der Messungen wird eine Standardlösung aus 2-Chlorphenol verwendet. Der AOX-Sollwert beträgt 0,99 mg/l mit einem Vertrauensbereich von 0,84 mg/l bis 1,09 mg/l.

Der Test *LCK 390* toleriert Chloridgehalte < 3 g/l. Das Anreicherungsgefäß wird bis zur Markierung mit 40 ml Probe aufgefüllt. Nach Versetzen der Probe mit 2 ml Lösung A (Salpetersäure) wird ein Magnet (30 mm Länge, 7 mm Durchmesser) mit einer Pinzette in das Gefäß gegeben. Eine Carbodisk (Aktivkohlevlies) wird ebenfalls per Pinzette an der vorgesehenen Halterung des Gefäßdeckels platziert und die Probe verschlossen. Auf einem Magnetrührer stellt man die Geschwindigkeit so ein, dass der Flüssigkeitsmeniskus durch die Bewegung ca. 2 cm unter Vermeidung von Luftblasen nach unten gezogen wird (Abb.45, 1 und 2).

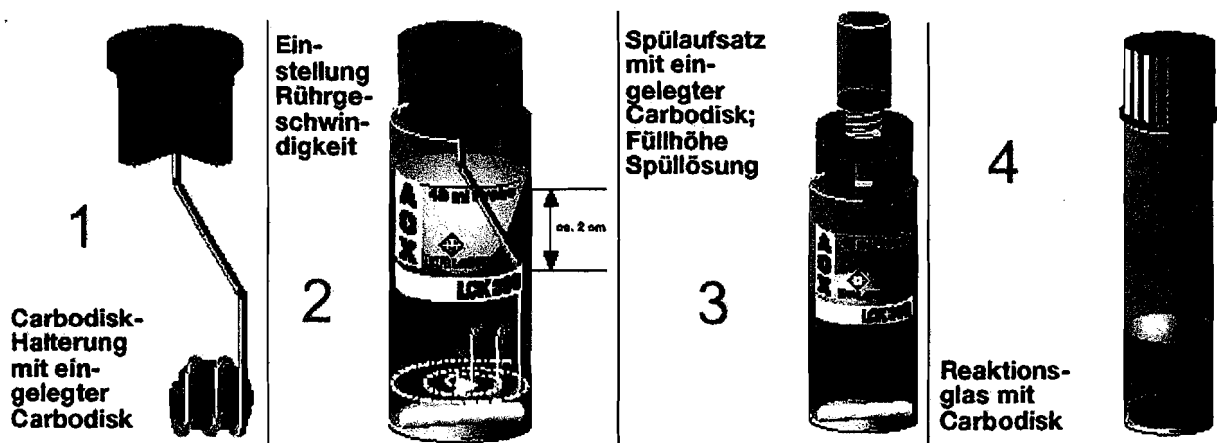


Abbildung 45: Anreicherungs- und Aufschlusszubehör des Küvettentests *LCK 390* von *Dr. Lange*.

Die Rührzeit beträgt 15 min. Während dieses Vorgangs verbleiben die anorganischen Chloride größtenteils in Lösung oder adsorbieren wie die organischen Halogene an dem Aktivkohlevlies. Das Vlies wird mit einer Pinzette entnommen und unten in einen zylindrischen Spülaufsatz gelegt, der in der Öffnung eines zweiten Gefäßdeckels fixiert ist. Mit mindestens 4 mal 5 ml Lösung B (Salpetersäure) wird das Vlies zur Abtrennung der **anorganischen Chloride** vorsichtig gespült. Bei exakter Dosierung liegt der obere Meniskus der Spüllösung

am oberen Rand des weißen, mit LCK 390 beschrifteten Etiketts. Die Dosierung darf nicht unterschritten werden, um Mehrbefunde durch nicht ausgewaschenes Chlorid zu vermeiden. (Abb.45, 3)

Das Vlies wird in ein vorbereitetes Reaktionsglas überführt. Das Glas enthält 3,6 ml Aufschlusslösung C (Natronlauge zur Neutralisierung) und einen gestrichenen Dosierlöffel Aufschlussreagenz D (Natriumperoxodisulfat zur Oxidation). Der Aufschluss der organischen Halogene erfolgt durch Inkubation für 2 h bei 100°C im *Roth Thermostat TCR 100*. Die organisch gebundenen Halogene gehen durch die Oxidation als Chloride in Lösung. Für Depoiesickerwasser empfiehlt *Dr. Lange*¹⁴⁶ den Aufschluss nach 30 min. zu unterbrechen, das Vlies zu entnehmen, das abgekühlte Reaktionsgefäß (10 min.) erneut mit einen gestrichenen Dosierlöffel Aufschlussreagenz D zu versetzen und die Inkubation für 90 min. fortzusetzen (Abb.45, 4).

Für die Messung des freigesetzten **Chlorids organischen Ursprungs (AOX)** wird 0,3 ml Reagenzlösung E (35 % Perchlorsäure) in die Analysenküvette pipettiert, die bereits Methanol und Quecksilberthiocyanat enthält. Nach Abkühlen wird unter Vermeidung von Aufwirbelungen 1,5 ml Probe aus dem Überstand des Reaktionsglases in die Küvette gegeben, geschwenkt und nach 3 min. mit dem Digital-Photometer *LP2W* bei 470 nm gemessen. Durch Drücken der Taste „Funktion“ wird das Photometer auf „Extinktion“ gestellt. Anhand der mitgelieferten Tabelle werden aus den Extinktionen die Konzentrationen ermittelt. Die aus den organischen Verbindungen aufgeschlossenen Chlorid-Ionen reagieren mit Quecksilberthiocyanat zu Quecksilber(II)-chlorid und äquivalente Mengen des Thiocyanats mit Eisen(III)-Salzen zu Eisen(III)-thiocyanat (siehe auch Chlorid-Nachweis). Anreicherungsgefäß, Magnetrührfisch, Spülaufsatz, Pinzette und Vlieshalterung werden mit VE-Wasser gespült. Nach dem Trocknen wird der Magnet in das Anreicherungsgefäß gegeben und dieses mit der Vlieshalterung verschlossen. Pinzette und Spülaufsatz werden trocken in der AOX-Testpackung aufbewahrt.

Tabelle 39: AOX-Aufschluss

LCK	Probenvolumen	Messbereich	Reaktion	Wellenlänge
390	1,5 ml	0,05 – 3 mg/l	Chloridnachweis mit Quecksilberthiocyanat	470 nm

2.14 Ökotoxikologische Untersuchungen

Nach Hahn¹⁴⁷ zeigen Biotests sinnfällige direkte Ergebnisse (Wirkung statt Stoff) und Synergismen werden miterfasst. Durch neuere Entwicklungen konnten die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erhöht, die Aufwendigkeit der Untersuchungen minimiert und die Kosten gesenkt werden. Um ein möglichst breites Wirkungsspektrum zu erfassen, kommen zwei Biotests zur Untersuchung der Zu- und Abläufe der Modellkläranlagen zum Einsatz. Auf prokaryontischer Ebene wird der Leuchtbakterien-Hemmtest und auf eukaryontischer Ebene der Protozoen-Toxkit durchgeführt.

¹⁴⁶ Gründel, M.: persönliche Mitteilung, analytische Betreuung von *Dr. Lange* Berlin, März 2000

¹⁴⁷ Hahn, J.: Biologische Testverfahren zur Abwasserüberwachung, Korrespondenz Abwasser Nr.12, S. 2279-2284, 1994

2.14.1 Leuchtakterien-Hemmtest

Die Biolumineszenz¹⁴⁸ ist eine enzymkatalysierte Chemilumineszenz, bei der angeregte organische Emittermoleküle beim Übergang in den Grundzustand durch die Abgabe von Photonen im sichtbaren Spektralbereich strahlen. Enzyme, die Biolumineszenzreaktionen katalysieren, werden als Luciferasen bezeichnet. Sie bewirken in einer Monooxygenase-Reaktion die Oxidation eines langkettigen Aldehyds nach folgender Summengleichung:



Nach DIN 38412 Teil 34¹⁴⁹ und 341¹⁵⁰ und den *LUMIStox*-Arbeitsvorschriften (*LCK482*) von Dr. Lange wird zur Untersuchung der toxikologischen Wirkung von Abwasser das marine *Photobacterium phosphoreum* NRRL B-11177 als Modellorganismus eingesetzt. Die Hemmwirkung des Abwassers auf die Biolumineszenzreaktion der Leuchtakterien wird mit dem *Luminometer 1250* von *LKB Wallac* in relativen Intensitäten (*I*) gemessen. Der Leucht bakterientest wird für Deponiesickerwasser in vereinfachter Form durchgeführt. Nach Anhang 51 „Oberirdische Ablagerungen von Abfällen“ der Abwasserverordnung gilt für den Ablauf einer Sickerwasserbehandlungsanlage ein G_L -Wert von 4. Deshalb wird die Hemmwirkung nur noch bei den Verdünnungsstufen 2 und 4 gemessen. Dies erlaubt zudem eine bessere Vergleichbarkeit mit dem bei gleicher Verdünnung durchgeführten Protozoen-Test. Vor der Durchführung des Leucht bakterientests ist die Chlorid-Konzentration der Abwasserproben zu überprüfen. Die Zu- und Ablaufproben einer Woche werden jeweils gleich behandelt.

- Bei neuer Testpackung: Auftauen der Reaktivierungslösung (RL) und Fraktionierung in 12-ml-Portionen. Lagerung der Fraktionen bei -20°C .
- 2 %-ige NaCl-Lösung (Kontrolle) herstellen.
- *Beckmann-GeneLine*TM-Thermostat einschalten und 15°C -Einstellung mit Thermometer überprüfen. Wasserkreislaufpumpe für das Luminometer einschalten.
- Proben mit unterschiedlich konzentrierten NaCl-Lösungen in Reagenzgläsern 1 : 4 verdünnen, so dass die Chloridkonzentration 20 g/l beträgt.
- Verdünnte Proben und 2 Kontrollen (2%-ige NaCl-Lösung) auf 15°C temperieren.
- 12 ml RL-Fraktion auftauen und 15 min. auf 15°C temperieren.
- *LUMIStox*-Leuchtakterien (*Dr. Lange LCK482*, Lagerung -20°C) in der Hand schnell auftauen.
- 0,5 ml RL zu den Leuchtakterien pipettieren und diese unter Schwenken vollständig lösen. Darauf 45 min. bei 15°C temperieren. *Luminometer LKB Wallac* einschalten.
- Leuchtakterien vollständig in die restliche RL überführen, homogenisieren und je 0,5 ml Leuchtakterien entsprechend den Testansätzen und den 2 Kontrollen in Messküvetten geben. Dann 15 min. bei 15°C temperieren.
- Im gleichen Zeittakt Ausgangsleuchten I_0 der Leuchtakterien für die Kontroll- und Testansätze messen (ohne Zugabe von 2%-iger NaCl-Lösung oder Probenverdünnung).

¹⁴⁸ Zschocke, C, Arens, J., Lochmann, E.-R.: Abschätzung des Risikopotentials bei der Einleitung von gentechnisch veränderten Mikroorganismen in das Berliner Abwasser, Abschlußbericht (S. 34 - 36) für das Projekt B260UF der Berliner Senatsverwaltung für Stadtentwicklung und Umweltschutz 1995

¹⁴⁹ Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung: Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L), Juli 1997

¹⁵⁰ Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung: Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L), Oktober 1993

- Je 0,5 ml 2%-ige NaCl-Lösung (Kontrollen) oder Probenverdünnung in die Messküvetten mit der Leuchtbakterien-Suspension pipettieren und mischen.
- Jeden Ansatz für 30 min. bei 15°C inkubieren.
- Nach der Inkubationszeit bei gleichem Zeitakt die Intensitäten I_{K30} und I_{T30} messen.

Aus der zeitlichen Änderung der bakteriellen Leuchtintensität in den Kontrollansätzen ergibt sich der Korrekturfaktor f_{K30} .

$$f_{K30} = \frac{I_{K30}}{I_0}$$

f_{K30} Korrekturfaktor für die Kontaktzeit von 30 min.
 I_{K30} Leuchtintensität im Kontrollansatz nach 30 min.
 I_0 Ausgangsleuchtintensität der Testsuspension vor der Zugabe von Verdünnungswasser

Aus den Kontrollansätzen wird der Mittelwert des Korrekturfaktors F_{K30} gebildet und aus den I_0 -Werten der Testansätze die theoretische Leuchtintensität I_{c30} berechnet, die ohne Hemmstoffe des Testguts aufgetreten wäre. Der I_{c30} -Wert ist die Bezugsgröße (100%) für die Auswertung.

$$I_{c30} = I_0 * F_{K30}$$

Die Hemmwirkung h_{30} auf die Biolumineszenz jedes Testansatzes wird nach 30 min. in Prozent nach folgender Formel berechnet. Der Mittelwert der Hemmwirkung H_{30} wird für jede Doppelprobe gebildet.

$$h_{30} = \frac{I_{c30} - I_{T30}}{I_{c30}} * 100 \%$$

I_{T30} Leuchtintensität im Testansatz nach 30 min.

Bei gefärbtem Abwasser ist eine Farbkorrektur notwendig, die mit doppelwandigen Küvetten durchgeführt wird. Die Farbkorrektur erfolgt über den Vergleich eines Kontrollansatzes (I_0 NaCl) mit der Probe, die eine Verdünnungsstufe höher als der G_L -Wert konzentriert ist (I_0 Probe).

Die korrigierte Transmission T_c errechnet sich wie folgt:

$$T_c = \frac{1 - e^{-3,1 \ln(I_0 \text{ Probe} : I_0 \text{ NaCl})}}{3,1 \ln(I_0 \text{ Probe} : I_0 \text{ NaCl})}$$

Daraus ergibt sich folgende, um den Farbeffekt korrigierte Hemmung $H_{\text{kor.}}$:

$$H_{\text{kor.}} = \frac{H - 100 (1 - T_c)}{T_c}$$

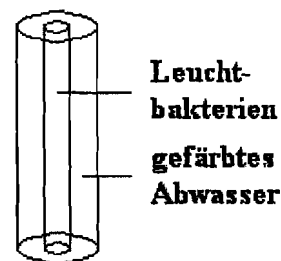


Abbildung 46:
Doppelwandküvette für die Farbkorrektur

Bei einem um eine Konzentration höher gestuften G_L -Wert entspricht die Hemmung durch die Färbung $H_{30} - H_{\text{kor.}}$ und die Hemmung durch die Toxizität $H_{\text{kor.}}$.

2.14.2 Protozoen-Toxkit

Der Test wurde von Pauli et al. im Institut für Ökotoxikologie und Biochemie an der Freien Universität Berlin entwickelt. Durch Inkubation für 24 h bei 30°C kann die hemmende Wirkung von organischen Substanzen auf das Wachstum des Süßwasserorganismus *Tetrahymena thermophila* direkt gemessen werden. Die Protozoen werden mit einem Bakteriensubstrat gefüttert. Eine Trübung der Suspension zeigt die toxische Wirkung von Abwasserinhaltsstoffen an, da die Bakterien nicht von den Protozoen verwertet werden konnten. Sind die Protozoen aktiv, wird die Suspension klar.

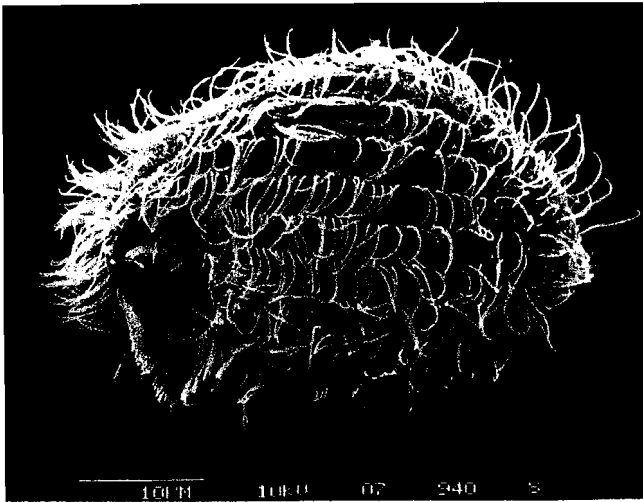


Abbildung 47: *Tetrahymena spec.* (REM-Aufnahme; Bardele Uni Tübingen, von Pauli zur Verfügung gestellt)

Die Stammkultur von *Tetrahymena thermophila* wird bei RT und die Vorkultur-Röhrchen (VK) mit Substrat auf bakterieller Basis bei -20 °C gelagert: Nach Zugabe von 2 ml VE-Wasser und 0,1 ml Stammkultur (Sterilspritze) wird das VK-Röhrchen für 1 d bei 30 °C oder für 3 d bei RT (Wochenende) inkubiert. Die Vorkultur ist eine Woche haltbar.

Zur besseren Vergleichbarkeit mit dem Leuchtbakterientest werden die Abwasserproben 1 : 4 bzw. 1 : 2 verdünnt. Um noch vorhandene Abwasserbakterien zu entfernen, werden die Proben in 2,2 ml-Reaktionsgefäßen bei RT mit 8000 rpm für 3 min. in der *Heracus Biofuge 13* zentrifugiert. Von dem Überstand wird 2 ml für den Probenansatz verwendet. Alle Proben

werden doppelt bestimmt. Das Substrat für die Probenansätze (Lagerung -20°C) besteht u. a. aus inaktivierten Bakterien und wird mit 0,5 ml VE-Wasser rekonstituiert. In eine verschließbare Rechteckküvette werden folgende Komponenten gegeben:

Tabelle 40: Probenansatz für Protozoen-Toxkit

Abwasserprobe		Kontrolle
2 ml Probe (1 : 2 bzw. 1 : 4 verdünnt)		2 ml VE-Wasser
40 µl Substrat		40 µl Substrat
1 Tropfen Vorkultur	mit Mikropipette	1 Tropfen Vorkultur

Die Proben werden vor jeder Messung 3 x geschwenkt. Die OD_{435nm} wird direkt und nach 24 h Inkubation bei 30 °C im Photometer *LP2W* von *Dr. Lange* gemessen (Taste „Funktion“ drücken ⇒ Extinktion im Display). Als Leerwert dient Luft. Der ΔOD -Mittelwert der Kontrolle (ΔOD_K) entspricht 100 % Wachstum von *Tetrahymena thermophila*. Die ΔOD -Mittelwerte der Proben (ΔOD_P) werden prozentual zur Kontrolle in Relation gesetzt. Die Wachstumshemmung (*H*) ergibt sich aus der Differenz von Kontrolle zur Probe.

$$\Delta OD_P (\%) = \frac{100 \cdot \Delta OD_P}{\Delta OD_K}$$

$$H (\%) = 100 \% - \Delta OD_P (\%)$$

2.15 Monitoring der Mikroflora in den Bioreaktoren

Zur Überwachung der Mikroflora werden regelmäßig Belebtschlammproben aus den Bioreaktoren entnommen.

Die **Trockensubstanz (TS)** ist ein Maß für die Biomasse in der Reaktorsuspension. Immobilisierte Mikroorganismen werden so nicht erfasst. Aufgrund der kleinen Reaktorvolumina werden die Probenvolumina zur Bestimmung der Trockensubstanz (g/l) von 50 ml auf 20 ml Belebtschlamm reduziert. Die durch die Volumenreduzierung verursachten Abweichungen sind $\leq 0,1$ g/l Trockensubstanz. Eine Absaugflasche mit Filternutsche wird an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen. In die Nutsche wird ein nummeriertes, abgewogenes Filter ein-

gelegt und die Klärschlammprobe auf das Filter gegossen. Das Filter wird 30 min. in der Mikrowelle bei 200 Watt und anschließend 20 min. im Exsikkator getrocknet. Nach erneuter Wägung des Filters ergibt die mit 50 multiplizierte Differenz die Trockensubstanz in g/l.

Das **Absetzvolumen (AV)** wird mit 100 ml Belebtschlamm bestimmt. Die Probe wird für 30 min. in einem Messzylinder (100 ml) stehengelassen. Der Wert an der Phasengrenze zwischen Überstand und abgesetztem Schlamm wird abgelesen und mit 10 multipliziert. Liegt der Schlammvolumenanteil über 250 ml/l, behindern sich die Belebtschlammflocken bei der Sedimentation gegenseitig. Je nach Schlammgehalt wird die Probe mit Wasser aus dem Ablauf um einen ganzzahligen Faktor verdünnt und erneut 30 min. stehengelassen. Das abgelesene Volumen wird mit dem Verdünnungsfaktor verrechnet. Das verdünnte Schlammvolumen wird zusammen mit dem Verdünnungsfaktor in Klammern angegeben.

Beispiel: $AV = 510 \text{ ml/l} (170 \text{ ml/l} \times 3)$

Nach der Überführung von Belebtschlamm aus einem (aeroben) Nitrifikationsreaktor in den Messzylinder kann bei Sauerstoffunterversorgung durch die Stickstoffbildung denitrifizierender Bakterien Schwimmschlamm entstehen. Die sich in den Belebtschlammflocken bildenden Gasbläschen treiben den Schlamm nach oben. Da die Stickstoffentwicklung erfahrungsgemäß nach 2 – 3 h abgeschlossen ist, lässt man bei auftreibendem Schlamm die Probe für diese Zeit stehen, entfernt den Stickstoff durch Schütteln und misst nach 30 min. erneut das Absetzvolumen. Nach der Messung wird der Überstand vorsichtig abgegossen und der abgesetzte Belebtschlamm zur Vermeidung von Biomasseverlusten in den Reaktor zurückgegeben.

Der Quotient aus Absetzvolumen (ml/l) und Trockensubstanz (g/l) ergibt den **Schlammindex (SI)** in ml/g, der ein Maß für die Blähschlamm-Bildung ist. Blähschlamm entsteht durch das massive Auftreten fadenbildender Mikroorganismen. Die fädigen Strukturen verhindern die kompakte Zusammenlagerung der Belebtschlammflocken. Da hinter den biologischen Stufen keine Absetzbecken sondern Crossflow-Membranen geschaltet sind bzw. Festbettreaktoren zum Einsatz kommen, bereitet Blähschlamm in Bezug auf Schlammabtrieb keine Probleme. Blähschlammorganismen sind sogar erwünscht, da viele dieser Organismen spezielle Abbauleistungen aufweisen und so das Spektrum zur Degradation organischer Substanzen erweitern können. Dennoch gibt der Index erste Aufschlüsse über das Verhältnis von Fadenbildnern und Belebtschlammflocken sowie über die Belastung der Biologie.

$$SI \text{ (ml/g)} = \frac{AV \text{ (ml/l)}}{TS \text{ (g/l)}}$$

Der Zustand der Mikroflora wird in Anlehnung an Buck¹⁵¹, Rüffer et al.¹⁵² und Eikelboom et al.¹⁵³ dokumentiert. Die Struktur des Belebtschlammes und der Gehalt an Protozoen wird mit einem *Olympus BH2* Stereomikroskop überwacht. **Video-Mikroskopie** ermöglicht eine kontinuierliche Dokumentation und Bewertung der biologischen Zusammensetzung des konditionierten Belebtschlammes bzw. der spezialisierten Mikrobiologie.

¹⁵¹ Buck, H.: Mikroorganismen in der Abwasserreinigung; ATV, F. Hirthammer Verlag, München 1979

¹⁵² Rüffer, H., Mudrack, K.: Anleitung zur Durchführung und Auswertung einfacher Untersuchungen in Kläranlagen, Eigenverlag des Institut für Siedlungswasserwirtschaft, Universität Hannover 1972

¹⁵³ Eikelboom, D.H., Buijsen, H.J.J.: Handbuch für die mikroskopische Schlammuntersuchung, F. Hirthammer Verlag, München 1983

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Schwärzung des Deponiesickerwassers

Deponiesickerwasser verfärbt sich bei Raumtemperatur nach längerer Standzeit unter Bildung eines (braun)schwarzen Niederschlags. Der Geruch nach Schwefelwasserstoff deutet auf die Anwesenheit von sulfatreduzierenden Bakterien (Desulfurikanten) im anoxischen Milieu des abgestandenen Sickerwassers hin. Die Sulfatreduktion findet nur statt, wenn sich das Redoxpotential unter Abwesenheit von Sauerstoff und Nitrat weit im negativen Bereich befindet.¹⁵⁴



Abbildung 48: Nachweis sulfatreduzierender Bakterien aus dem Schöneicher Sickerwasser nach Kultivierung in einem Anaerobiertopf (links: Schwärzung des Mediums, rechts: Negativ-Kontrolle, Foto: Baumgardt).

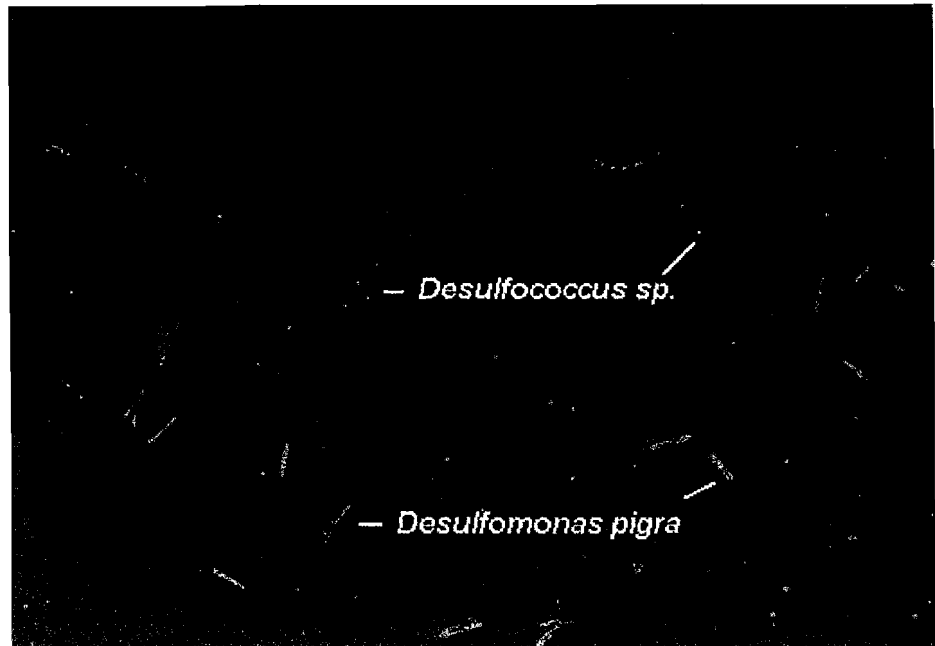


Abbildung 49: Desulfurikanten aus dem Rohsickerwasser der Deponie Schöneiche: Zur Gattung *Desulfomonas* gehört nur die Art *D. pigra*. Bei den Kokken handelt es sich wahrscheinlich um *Desulfococcus multivorans*, da alle anderen bekannten Spezies dieser Gattung aus Meer- bzw. Brackwasser isoliert wurden (Interferenz-Mikroskopie, 1000-fach, Baumgardt).

Desulfurikanten aus dem Schöneicher Rohsickerwasser wurden in der Nährlösung nach Postgate (siehe Methoden) von Baumgardt¹⁵⁵ im Rahmen dieses Projekts erfolgreich angereichert. Unter dem Mikroskop konnten die Arten *Desulfomonas pigra* und *Desulfococcus* sp. durch den Vergleich mit Aufnahmen aus Bergey's Manual¹⁵⁶ unter Vorbehalt identifiziert werden, da von einer biochemischen Charakterisierung aus Zeitgründen abgesehen wurde.

¹⁵⁴ Haider, K.: Biochemie des Bodens, S. 141, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

¹⁵⁵ Baumgardt, J.: Charakterisierung von Bakterien und Pilzen in der biologischen Reinigung von Deponiesickerwasser, Diplomarbeit in diesem Projekt, Freie Universität Berlin, Dezember 2000

¹⁵⁶ Widdel, F., Pfennig, N.: Dissimilatory Sulfate- or Sulfur-reducing Bacteria: in: Holt, J.G., Krieg, N.R. (Hrsg.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1 Section 7, S. 663-679, Williams & Wilkins, London, 1984

Die Anwesenheit von Sulfid wird durch den charakteristischen Geruch des Schwefelwasserstoffs angezeigt und konnte mit Bleiacetat qualitativ nachgewiesen werden. Der Schwefelwasserstoff reagiert mit Metallen zu wasserlöslichen Metallhydrogensulfiden (saure Sulfide)

Tabelle 41: Löslichkeit von Metallsulfiden in Wasser.¹⁵⁷

MS	pK _L	M ₂ S	pK _L
PtS	72,1	Ag ₂ S	52,2
HgS	51,2	Cu ₂ S	49
CuS	40,2	Hg ₂ S	47
PbS	28,6	Tl ₂ S	19,9
CdS	27,9	M ₂ S ₃	pK _L
SnS	27	Co ₂ S ₃	124
β-CoS	26,7	Fe ₂ S ₃	85
β-NiS	26	Bi ₂ S ₃	71,8
ZnS	21,7	Sb ₂ S ₃	58,5
FeS	21,6	As ₂ S ₃	29,4
α-CoS	21,3	pK _L = negativer Logarithmus des Löslichkeits- produkts	
α-NiS	20,5		
MnS	15,2		

und zu Metallsulfiden (normale Sulfide), von denen sich einige bei neutralem bis schwach alkalischem pH als unlöslicher, (braun)schwarzer Niederschlag am Boden der Vorlagebehälter absetzen. In Salzsäure ist der Niederschlag teilweise löslich. Das deutet auf verschiedene Metallsulfide hin, die abhängig von ihren Löslichkeitsprodukten bei unterschiedlichen pH-Werten ausfallen.¹⁵⁸

Nach Frank¹⁵⁹ bereiten die Niederschläge in der Sickerwasservorlage der Deponie Schöneiche erhebliche Entsorgungsprobleme. Dies führte zu der Überlegung, das Sickerwasser in der Vorlage der Modellkläranlage mit Hilfe eines Magnetrührers umzurühren, um so diese Reststoffbildung zu minimieren oder gar zu vermeiden. Der durch das Umrühren eingetragene Sauerstoff hemmt das Wachstum der obligat anaeroben Sulfatreduzierer, und die Sulfidproduktion nimmt rapide ab: Die Verfärbung des Sickerwassers geht zurück. Als positiver Nebeneffekt fördert der Sauerstoff die Anreicherung von Nitrifikanten, das heißt, dass Ammonium schon in der Vorlage in geringen Mengen zu Nitrit und Nitrat oxidiert wird.

Die Investitions- und Betriebskosten einer Reststoffvermeidung durch Umrühren oder Belüften einer großtechnischen Sickerwasservorlage müssen gegenüber den Entsorgungskosten bilanziert werden. Nach Brücklmeier¹⁶⁰ wird in Schöneiche seit Sommer 2000 das Sickerwasser in der Vorlage belüftet. Nach zwei Jahren hat sich gezeigt, dass die Maßnahme ein durchschlagender Erfolg ist. Die Filterkerzen vor der Schöneicher Umkehrosmoseanlage müssen nicht mehr ständig ausgewechselt werden, die Permeatleistung der Anlage ist besser, und bei Wartungsarbeiten am Trockner hat der Techniker des Herstellers festgestellt, dass er noch keine Anlage bei gleicher Betriebszeit in einem solch guten Zustand gesehen habe.¹⁶¹

¹⁵⁷ Jander, G., Blasius, E.: Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie, S. Hirzel Verlag Stuttgart 1973

¹⁵⁸ Hollemann, A. F., Wiberg, E.: Lehrbuch der anorganischen Chemie, 71.-80. Auflage, S.287 - 290, Walter de Gruyter & Co., Berlin 1971

¹⁵⁹ Frank, J.: Projektsteuerer der MEAB-Deponie Schöneiche, persönliche Mitteilung, April 2000

¹⁶⁰ Brücklmeier, W: Technischer Geschäftsführer der MEAB, Gespräch vom 1.8.2000

¹⁶¹ Frank, J.: Projektsteuerer der MEAB-Deponie Schöneiche, persönl. Mitteilung, August 2002

3.2 Behandlung von Sickerwasser der Deponie Vorketzin

Die Analysendaten der Rohsickerwasserproben der Deponie Vorketzin sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 42: Rohsickerwasserproben der Deponie Vorketzin (blau: Einleitbestimmungen nach Anhang 51 der Abwasserverordnung eingehalten, rot Messung oberhalb der Einleitbestimmungen, schwarz: nach Anhang 51 nicht vorgesehene Ergänzungsparameter).

Rohsickerwasser der Deponie Vorketzin		Probenbehälter à 20 Liter							Mittelwert	Anhang 51
		1	2	3	4	5	6	7		
Organische Summenparameter										
CSB	mg/l	438	418	450	438	422	408	388	421	200
TOC	mg/l	65	65,5	61,5	64,5	65,5	65	66	65	
BSB ₅	mg/l	60,2	66	57,4	66,1	66,2	59,8	65,7	63,1	20
AOX	mg/l	0,50	0,47	0,40	0,94	0,53	0,34	0,31	0,50	0,5
Biotests										
Protozoen G = 4	%	15,2	11,9	18,4	13,8	9,6	11,6	11,6	12,8	GL = 4
Leuchtbakterien G = 4	%	0	0	0	0	0	0	0	0,0	(< 20%)
Stickstoff										
Nitrat	mg/l	0,00	0,00	2,40	1,90	2,20	0,00	3,49	1,67	
Nitrit	mg/l	0,42	0,6	4,26	0,79	0,28	0,17	0,11	1,04	2
Ammonium	mg/l	473	610	581	506	470	469	508	524	
Stickstoff gesamt	mg/l	473	611	588	509	472	469	512	527	70
Anionen, Phosphor										
Chlorid	mg/l	2896	2820	2968	2912	2872	2892	2840	2884	
Gesamt-Phosphor	mg/l	0,21	0,17	0,38	0,43	0,29	0,28	0,28	0,31	3
Sulfid	mg/l	0,010	0,009	0,015	0,005	0,010	0,014	0,012	0,011	1
Cyanid, leicht freisetzb.	mg/l	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,2
Metalle										
Zink	mg/l	0	0	0	0	0	0	0,036	0,01	2
Kupfer	mg/l	0,005	0,005	0,010	0,060	0,000	0,000	0,015	0,015	0,5
Chrom gesamt	mg/l	0,030	0,072	0,060	0,114	0,060	0,048	0,078	0,072	0,5
Chrom VI	mg/l	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,1
Nickel	mg/l	0,01	0,01	0,02	0,07	0,02	0,02	0,02	0,03	1
Blei	mg/l	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,5
Arsen	mg/l	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1
Cadmium	mg/l	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,1

Das Sickerwasser ist organisch schwach belastet (CSB ≤ 450 mg/l, TOC < 70 /mg/l). Die AOX-Werte liegen im Grenzbereich, die BSB₅-Werte um 60 mg/l. In Biotests werden bei einer Verdünnung von 1 : 4 Protozoen unter 20 % und Leuchtbakterien gar nicht gehemmt. Die Hemmung der Protozoen beruht auf dem Chloridgehalt von knapp unter 3 g/l (siehe Methodenteil Chlorid). Das Verhältnis von CSB zu Ammonium ist sehr ungünstig. Nach Wolffson¹⁶² ist für eine optimale Denitrifikation ein CSB von ca. 4,4 g an verwertbarem Kohlenstoff pro g Stickstoff notwendig. Die Konzentrationen der Metalle, von Gesamt-Phosphor, Sulfid und leicht freisetzbarem Cyanid liegen alle unterhalb der Grenzwerte. Handlungsbedarf besteht für die Parameter CSB, BSB₅, AOX, Nitrit (Behälter 3) und Ammonium.

¹⁶²

Wolffson, C.: Denitrifikation von speziellen Abwässern mit externen Kohlenstoffquellen, Schriftenreihe des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig, Heft 52, 1992

Tabelle 43: Deponiesickerwasser aus Vorketzin nach der biologisch-physikalischen Behandlung (blau: Einleitbestimmungen nach Anhang 51 der Abwasserverordnung eingehalten, rot Messung oberhalb der Einleitbestimmungen, schwarz: nach Anhang 51 nicht vorgesehene Parameter).

NF-Permeat		Probenbehälter						Mittelwert	Anhang 51
		1	2	3	4	5	6		
Organische Summenparameter									
CSB	mg/l	190	172	121	69	69	83	117	200
TOC	mg/l	28,5	59	46,6	30	24	32	37	
BSB ₅	mg/l	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	20
AOX	mg/l	0,5	0,39	0,4	0,47	0,38	0,38	0,42	0,5
Biotests									
Protozoen G = 4	%	5,6	4,2	3,7	2,6	3,4	1,4	3,5	
Leuchtbakterien G = 4	%	12,8	6,8	8,2	6,6	9,1	1,7	7,5	G _L = 4 (< 20%)
Stickstoff									
Nitrat	mg/l	226	209	281	341	333	303	282	
Nitrit	mg/l	0,22	0,45	0	0,25	2,67	0,43	0,67	2
Ammonium	mg/l	0,1	9,2	2,3	3,1	6,1	5,6	4,4	
Stickstoff gesamt	mg/l	226	219	283	344	342	309	287	70
Anionen, Phosphor									
Chlorid	mg/l	3485	3310	3040	2900	2980	2570	3048	
Gesamt-Phosphor	mg/l	0,19	0,21	0,24	0,27	0,12	0,28	0,22	3
Sulfid	mg/l	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	1
Cyanid, leicht freisetzbar	mg/l	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,2
Metalle									
Zink	mg/l	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	2
Kupfer	mg/l	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,5
Chrom gesamt	mg/l	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,5
Chrom VI	mg/l	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03	0,1
Nickel	mg/l	0,43	0,13	0,08	0,10	0,05	0,01	0,13	1
Blei	mg/l	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,5
Arsen	mg/l	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1
Cadmium	mg/l	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,1

Nach der biologisch-physikalischen Behandlung des Deponiesickerwassers werden mit Ausnahme von Gesamt-Stickstoff und Nitrit (Sammelbehälter 5) alle Grenzwerte nach Anhang 51 der Abwasserverordnung eingehalten (siehe Tabelle). Der Grund für das Überschreiten des Stickstoff-Einleitwertes liegt in der unzureichenden Denitrifikation des Nitrats, d. h. dessen Umwandlung in molekularen Stickstoff. Die Ursachen und Vorschläge zur Beseitigung des Problems werden weiter unten erläutert (siehe auch Ergebnisse: Schöneiche).

Die Laborkläranlage wurde zunächst mit Rohsickerwasser inkl. Methanol (erst 1 %, dann für eine kurze Phase 2 %) in Betrieb genommen. Aufgrund des niedrigen Gehalts an organischen Verbindungen sollte das Methanol als externe Kohlenstoffquelle die Denitrifikation unterstützen. Da sich die Immobilisierungskörper in den Bioreaktoren als chemisch instabil gegenüber Methanol erwiesen, wurde von einer weiteren Zugabe des Lösungsmittels abgesehen. Das Ablaufwasser der Biologie wurde gesammelt, durch Nanofiltration in 90 % Permeat und 10 % Konzentrat geteilt und letzteres ab dem 14. Tag dem Rohsickerwasser im Zulauf erst 1 : 10 und zum Schluss 1 : 4 beigemischt (siehe nächste Abbildung).

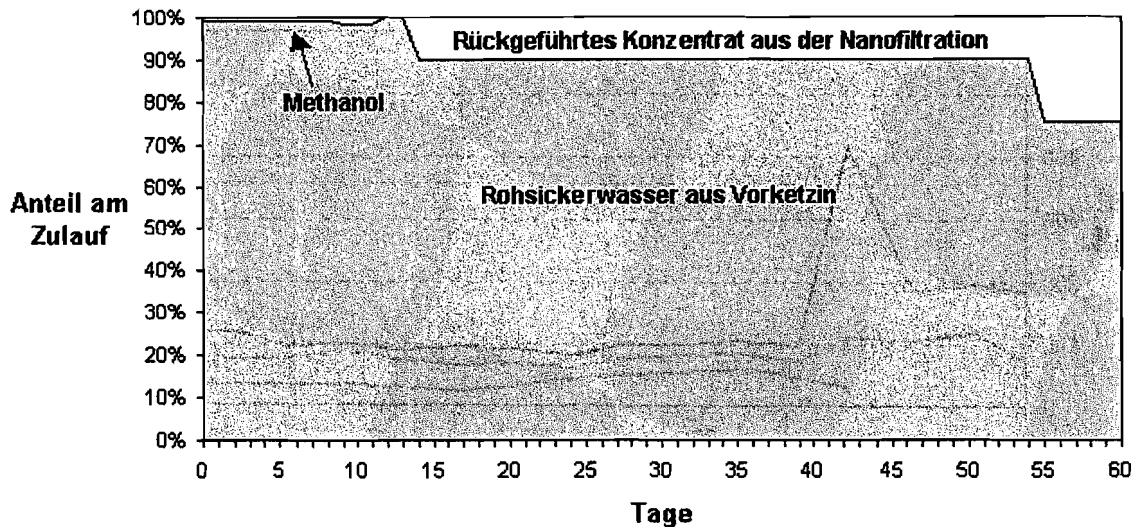


Abbildung 50: Deponiesickerwasser aus Vorketzin - Zusammensetzung des Zulaufs der Laborkläranlage.

Die hohen CSB- und TOC-Zulaufkonzentrationen (siehe die folgenden Abbildungen) in den ersten 14 Tagen des Versuchs resultieren aus der Zugabe von Methanol. Der CSB verbleibt dann auf einem Niveau knapp über 400 mg/l. Die CSB-Ablaufwerte der Biologie nehmen nach kurzem Anstieg bis zum 20. Tag kontinuierlich ab (Adaptionsphase) und pegeln sich dann um den Einleitwert nach Anhang 51 ein. Frühere Untersuchungen mit Abwasser aus einer Emulsionsspaltanlage ergaben eine Mindestkonzentration von 350 bis 400 mg/l CSB für einen effizienten biologischen Abbau. Obwohl sich die CSB-Konzentrationen des Sickerwassers nach der Adaptionsphase nur sehr knapp über diesem Level bewegt, beträgt die Abbauleistung immerhin über 30 Tage ca. 50 %. Das NF-Permeat unterschreitet den CSB-Grenzwert von 200 mg/l schon ab dem 14. Tag, aber recht deutlich dann ab dem 32. Tag.

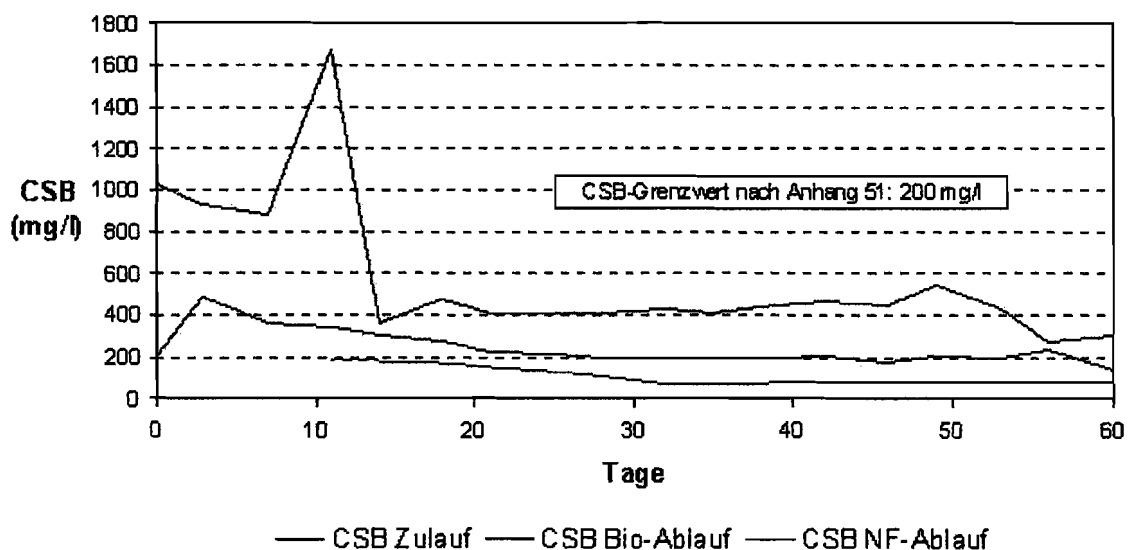


Abbildung 51: Deponiesickerwasser aus Vorketzin - Verringerung des CSB durch Biologie und Nanofiltration.

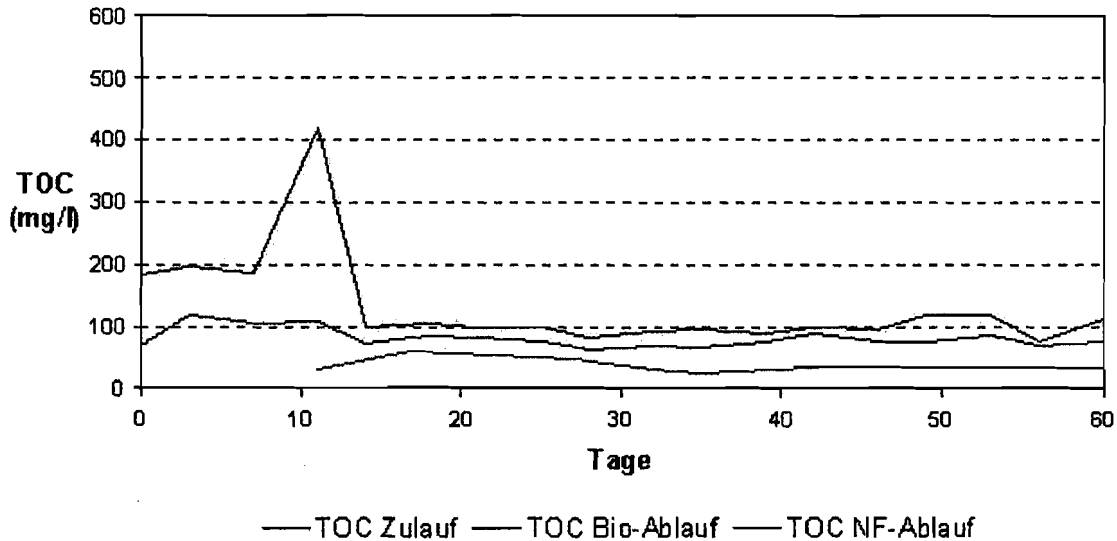


Abbildung 52: Deponiesickerwasser aus Vorketzin - Verringerung des TOC durch Biologie und Nanofiltration.

Obwohl die Messungen von AOX-Standardlösungen mit 2-Chlorphenol im optimalen Bereich lagen, hat die Überprüfung der AOX-Analytik ergeben, dass bei einfachem Sickerwasseraufschluss um mindestens den Faktor 10 höhere Befunde durch Restfärbungen gemessen wurden. Die Überprüfung fand leider erst nach Abschluss der Untersuchungen zu Vorketzin statt (siehe Ergebnisse Schöneiche Biostufe 1). Man kann davon ausgehen, dass nicht nur das NF-Permeat, sondern selbst das Vorketziner Rohsickerwasser den Einleitwert nach Anhang 51 unterschreitet.

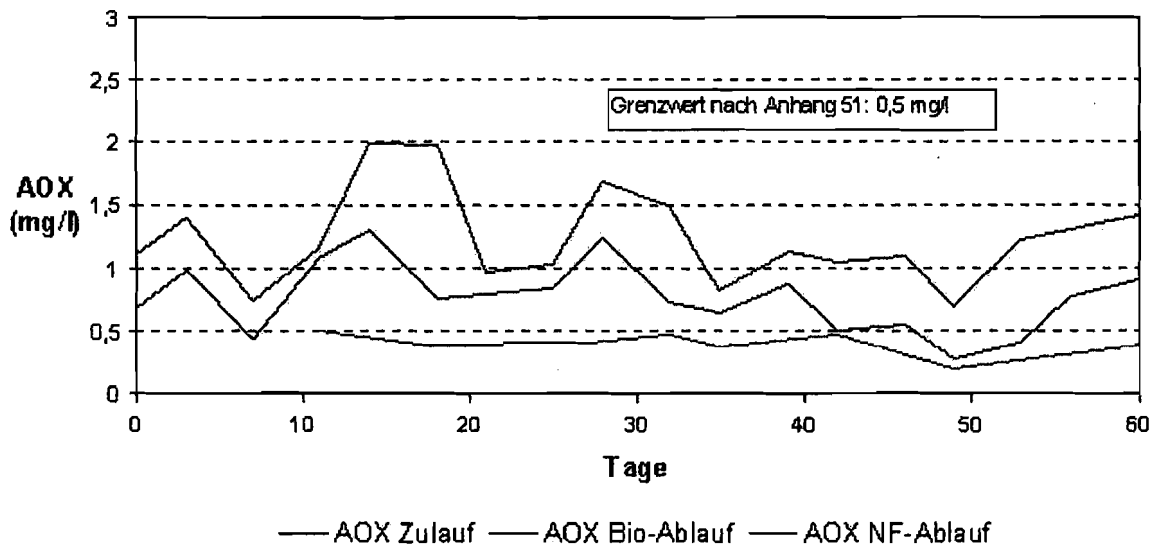


Abbildung 53: Deponiesickerwasser aus Vorketzin - Verringerung des AOX durch Biologie und Nanofiltration.

Durch Umrühren zeigten sich erhöhte Nitritwerte in den Zulaufbehältern (siehe nächste Abbildung), die auf oxidiertes Ammonium zurückzuführen sind. Der maximale Nitrit-Zulaufwert am 32. Tag konnte von den Bioreaktoren nicht vollständig kompensiert werden, so dass am 39. Tag sowohl im Biologieablauf als auch im NF-Permeat überhöhte Nitrit-Konzentrationen gemessen wurden.

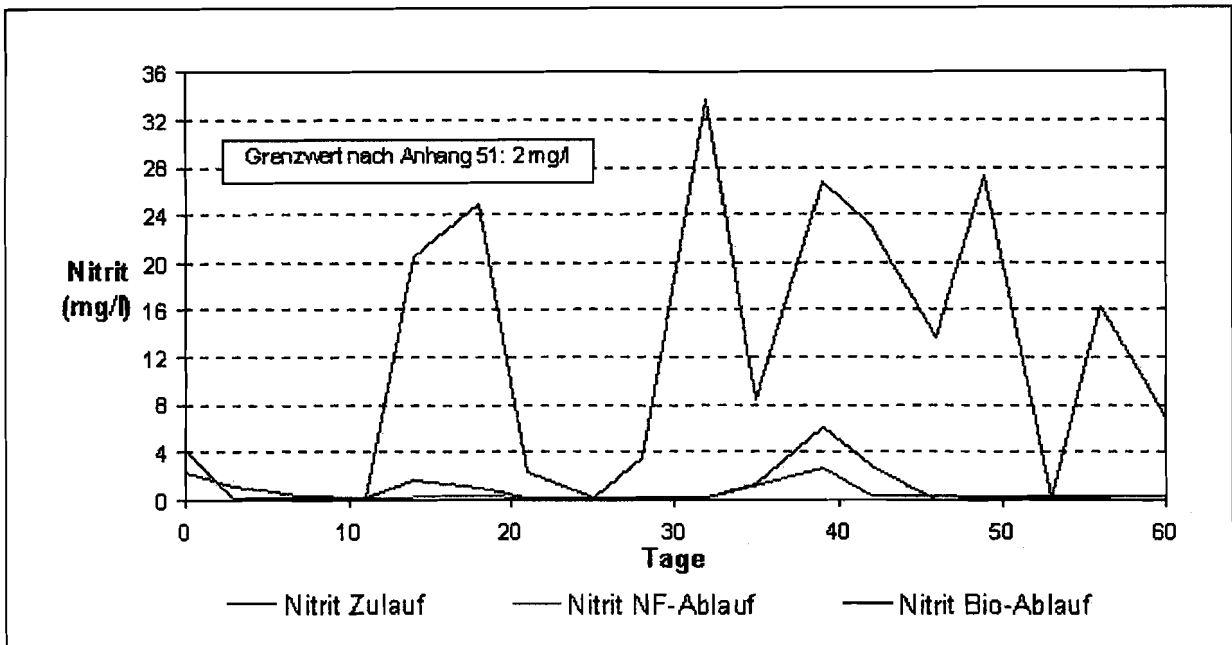


Abbildung 54: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Nitrit-Messung der Zu- und Abläufe der Laborkläranlage

Die Erhöhung des Nitrits im Zulauf der Laborkläranlage korreliert in etwa mit einer verstärkten Wachstumshemmung des Süßwasserorganismus *Tetrahymena thermophila* (siehe Abbildung 55), während der Einfluss auf die marinen Leuchtbakterien geringer ausfällt (siehe Abbildung 56). Die toxikologischen Tests mit den Leuchtbakterien und *Tetrahymena* belegen ein geringe Giftigkeit des Sickerwassers nach Passieren der Laborkläranlage.

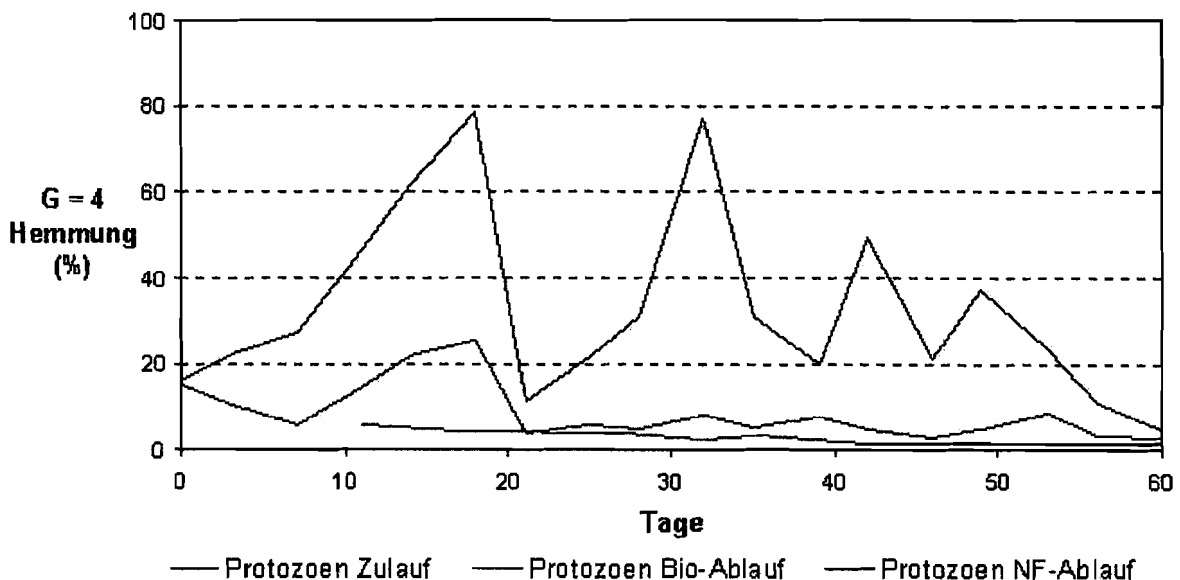


Abbildung 55: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Wachstumshemmung von *Tetrahymena thermophila* durch die Zu- und Abläufe der Laborkläranlage

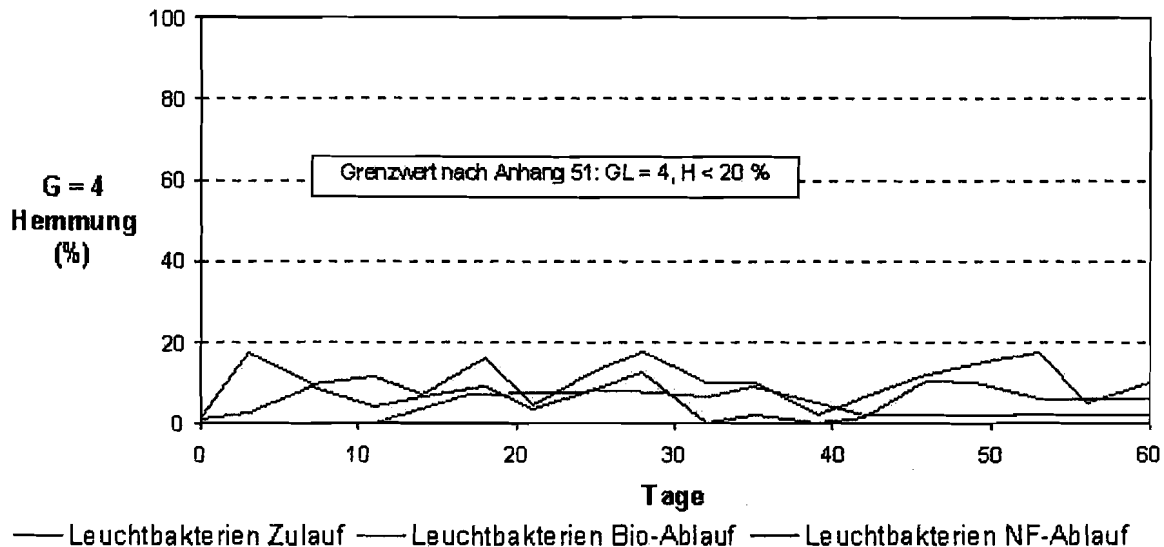


Abbildung 56: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Hemmung der Biolumineszenz von Leuchtbakterien durch die Zu- und Abläufe der Laborkläranlage

Der Gehalt an Gesamt-Phosphor liegt weit unterhalb der geforderten Einleitwerte (siehe nächste Abbildung).

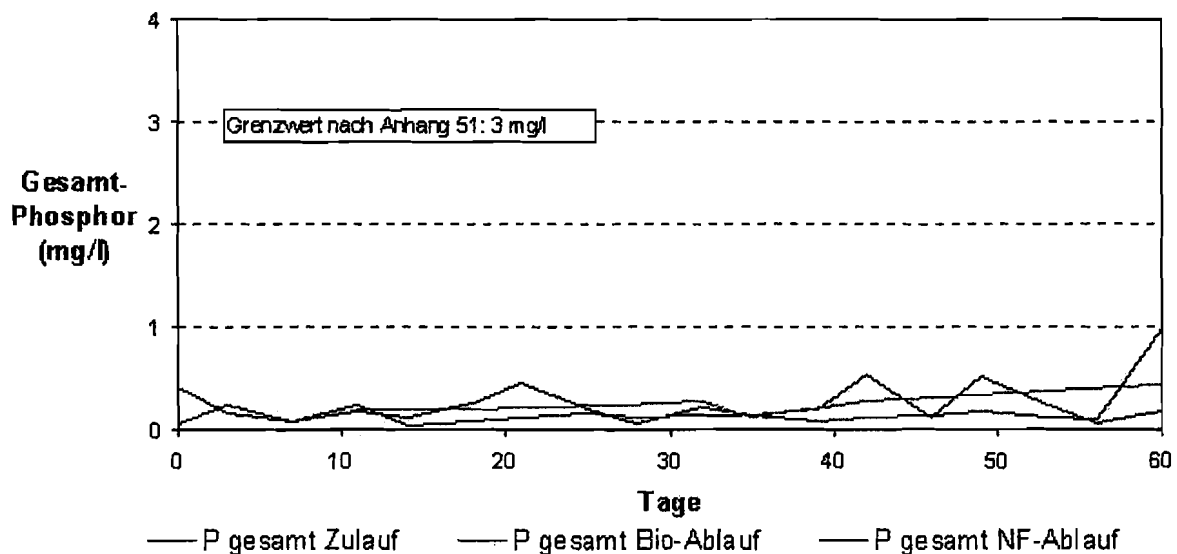


Abbildung 57: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Gesamt-Phosphor in den Zu- und Abläufen der Laborkläranlage.

Der erhöhten Chlorid-Werte im Bio-Ablauf sind der Neutralisierung des Sickerwassers in den Reaktoren zuzuschreiben ($\text{NaOH} + \text{HCl} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$). Die nächste Abbildung zeigt, dass die Reaktoren mit zunehmender Betriebsdauer stabiler liefen und weniger Lauge und Säure zugeführt werden mussten.

Einer Chlorid-Konzentration von durchschnittlich 3 g/l musste bei der chemischen Probenanalyse durch entsprechende Verdünnungsschritte Rechnung getragen werden. Diese Konzentration führt außerdem zu fast 10 % Wachstumshemmung beim Protozoen-Toxkit (siehe auch Methodenteil).

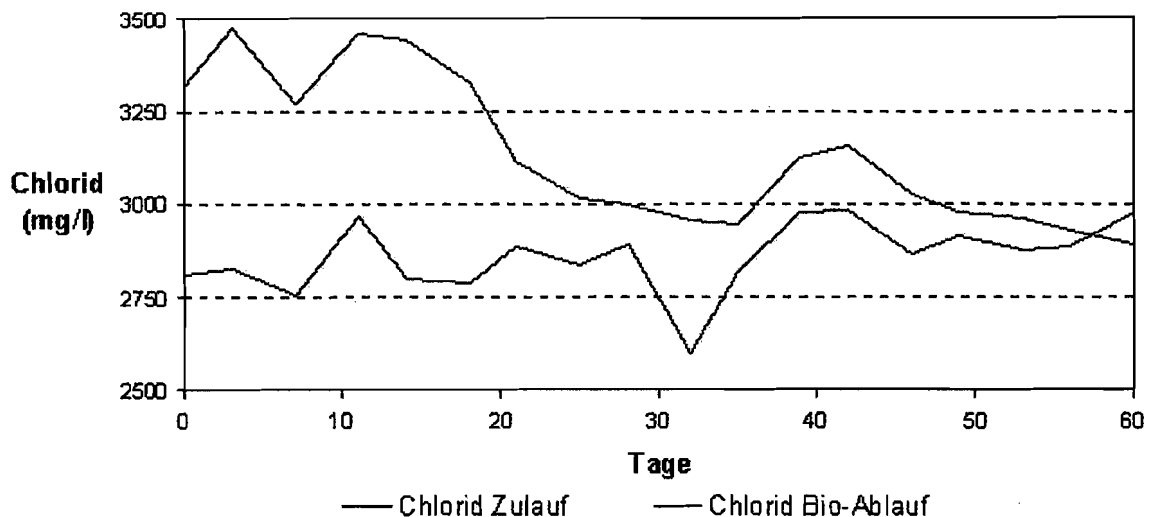


Abbildung 58: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Chlorid-Messung der Zu- und Abläufe der Laborkläranlage.

Das Ammonium wurde durch Nitrifikation ab dem 7. Tag nahezu vollständig in Nitrat überführt (siehe Abbildung 59). Die Abnahme von Ammonium im Zulauf ist eine Auswirkung des ammoniumfreien NF-Konzentrats, das in die Biologie zurückgeleitet wurde. Ein Teil des ursprünglich im Sickerwasser enthaltenen Ammoniums wurde durch Umrühren der Sickerwasservorlage zu Nitrit oxidiert (siehe oben: Nitrit im Zulauf).

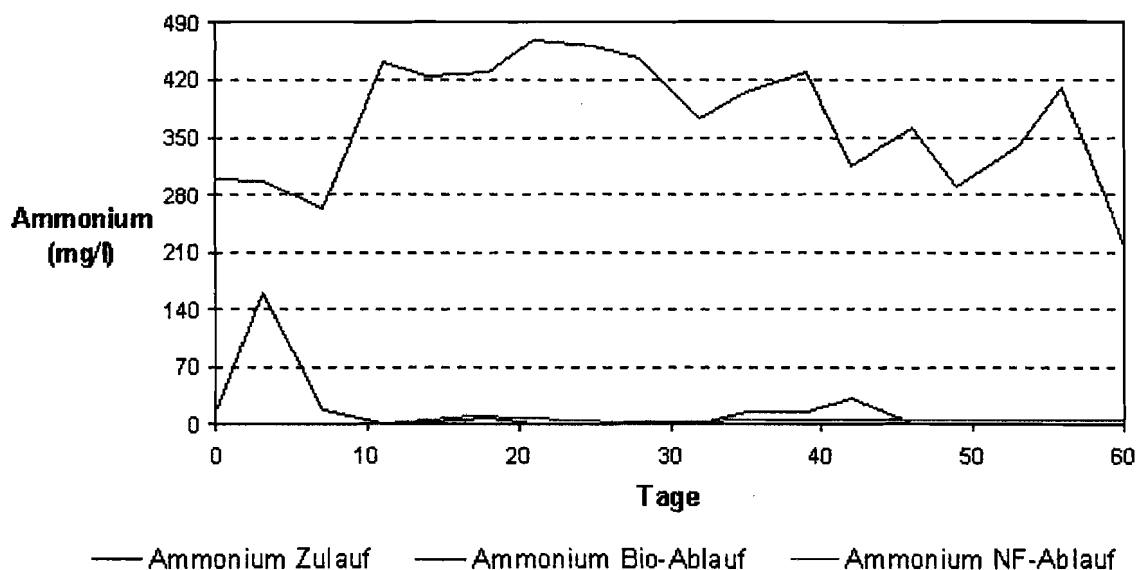


Abbildung 59: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Ammonium-Messung der Zu- und Abläufe der Laborkläranlage.

Trotz der anfänglichen Zugabe von Methanol als C-Quelle kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg des Nitrats im Bio-Ablauf. Das Methanol wurde zwar biologisch umgesetzt (siehe Grafiken zu CSB und TOC), dennoch scheint es von den Denitrifikanten im vorgeschalteten, unbelüfteten Reaktor nur zum Teil zur Nitratatmung verwertet worden zu sein. Zudem griff das Methanol das Polyurethan der Immobilisierungskörper an, weshalb die Zufuhr gestoppt wurde. Da Nitrat durch die Nanofiltrationsmembran diffundiert, bleibt die Nitrat-Konzentration trotz Aufkonzentrierung des Sickerwassers auf Permeat- und Konzentratseite gleich. Die spätere Zunahme von Nitrat im Zulauf der Laborkläranlage resultiert aus der Rückführung des NF-Konzentrats.

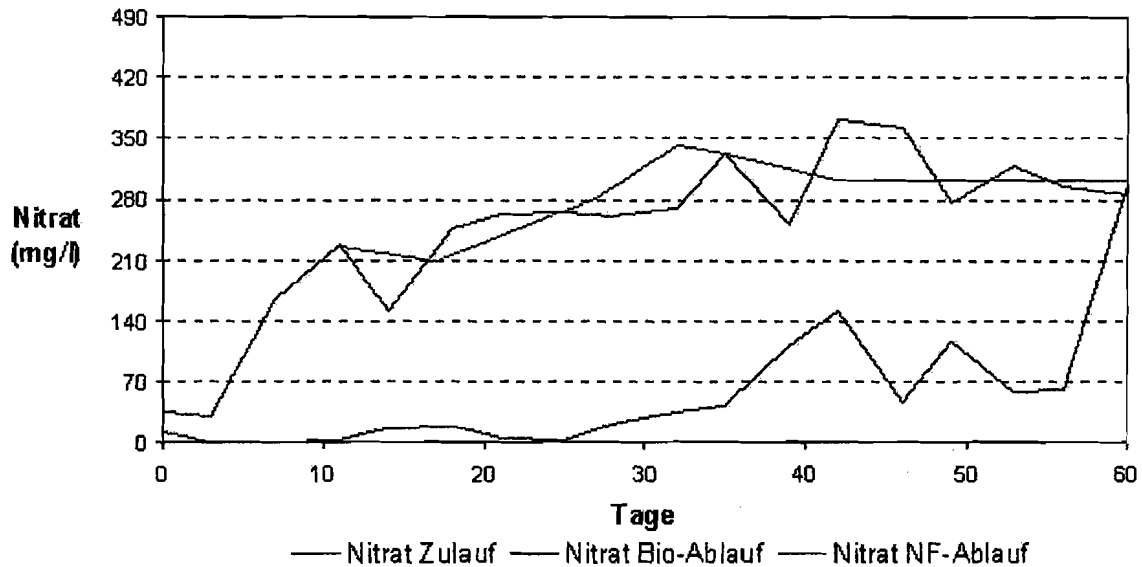


Abbildung 60: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Nitrat-Messung der Zu- und Abläufe der Laborkläranlage.

Eine weitere Ursache für Nitrat im Ablauf ist ein konstruktiver Fehler in der Auslegung der Laborkläranlage. Das im Nitrifikationsreaktor entstandene Nitrat wird über die Nitratrückführung nur teilweise in die vorgeschaltete Denitrifikation geleitet, da gleichzeitig über die Mikrofiltration Abwasser mit eben dieser Nitratfracht aus dem Reaktor abgeleitet wird. Die Gesamt-Stickstoff-Bilanz, d.h. die Addition von Ammonium, Nitrit und Nitrat, zeigt, dass nur durchschnittlich 35 % Ammonium in molekularen Stickstoff umgewandelt wurde.

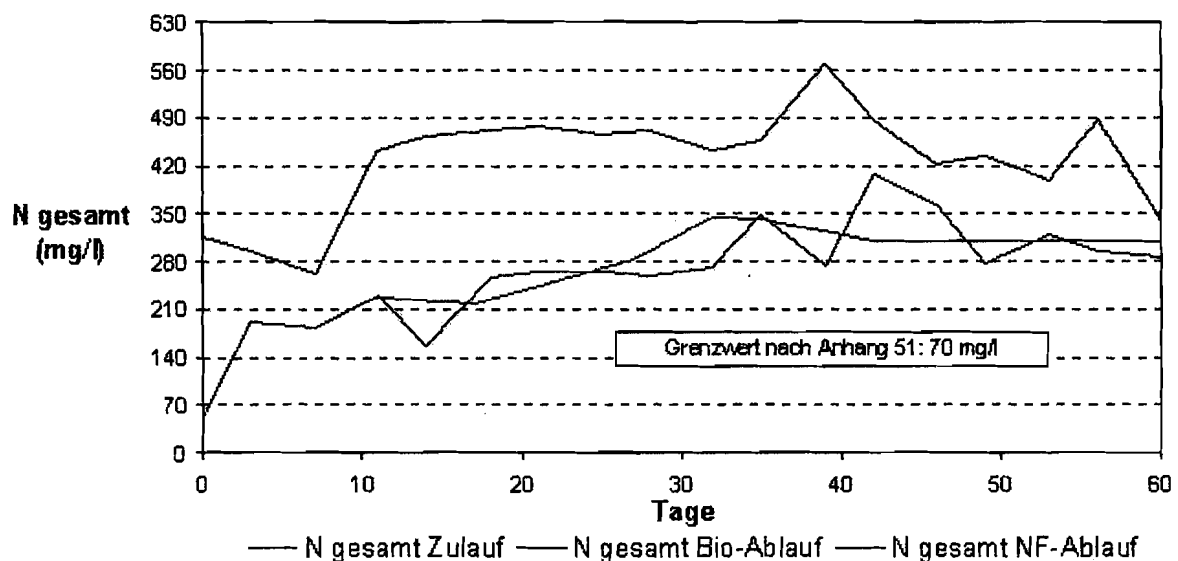


Abbildung 61: Deponiesickerwasser aus Vorketzin – Nitrat-Messung der Zu- und Abläufe der Laborkläranlage.

Mit Ausnahme der Denitrifikation kann dieser erste Probelauf einer biologisch-physikalischen Reinigung des schwach belasteten Deponiesickerwassers aus Vorketzin als Erfolg gewertet werden. Nach mehrfachem Umbau der Biostufe 1 für das Schöneicher Sickerwasser konnte gezeigt werden, dass mit einer vorgeschalteten Nitrifikation und der Verwendung einer externen Kohlenstoffquelle für die Nitrifikation (Soda) und die Denitrifikation (Essigsäure) eine wesentlich bessere Stickstoffelimination von weit über 90 % möglich ist (siehe unten).

3.3 Behandlung von Sickerwasser der Deponie Schöneiche

3.3.1 Biostufe 1: Ausgangskonfiguration und erster Umbau

Die Zulaufkonzentrationen der Sickerwasserinhaltsstoffe variieren über den gesamten Versuchszeitraum von 300 Tagen. Die Schwankungen hängen von den Niederschlagsmengen auf der Deponie vor dem jeweiligen Probenahmezeitpunkt und dem Grad der Ausfällung von Partikeln, bedingt durch die Lagerung des Sickerwassers, ab. Das Verhältnis der Komponenten zueinander kann sich aufgrund des Lösungsverhaltens ebenfalls stark verändern, wie die Zulaufkonzentrationen von CSB und Gesamt-Stickstoff eindrucksvoll belegen.

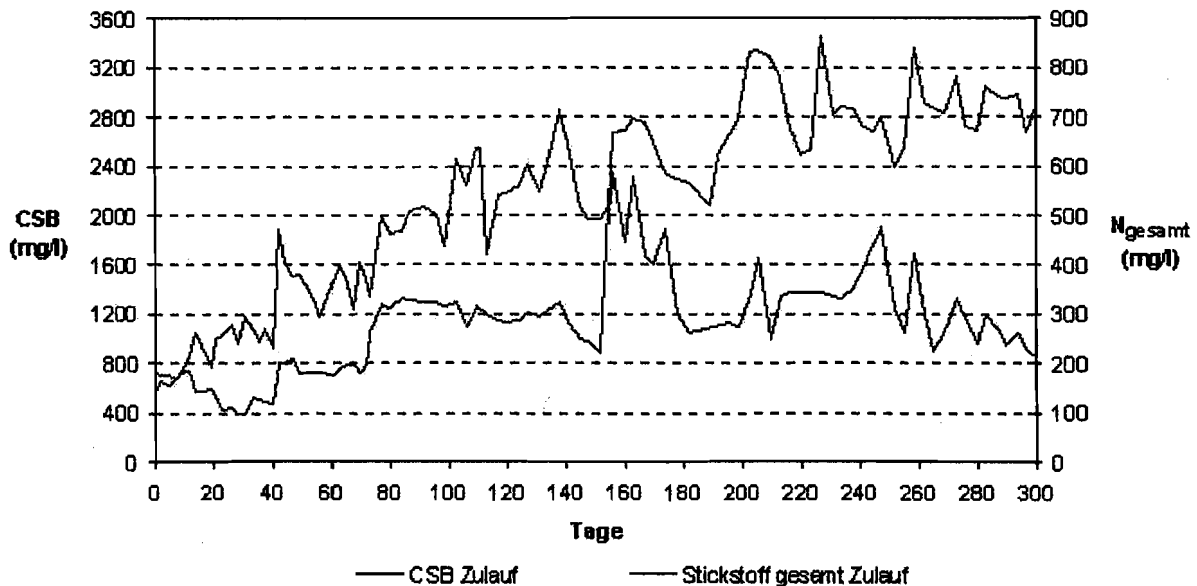


Abbildung 62: Deponie Schöneiche – Konzentrationsänderungen im Zulauf der ersten Stufe.

Bis zum 70. Tag wurde das Rohsickerwasser trotz steigender organischer Zulaufkraft so abgebaut, dass im Ablauf die CSB-Grenzwerte nach Anhang 51 eingehalten wurden (siehe nächste Abbildung).

Danach wurde bis zum 180. Tag mit Umkehrosmose-Konzentrat (UO-Konzentrat) aus der Sickerwasserbehandlungsanlage Schöneiche getestet, ob die Biostufe 1 auch den CSB von noch stärker belastetem Sickerwasser unter den Einleitwert drücken kann. Aufgrund des höheren refraktären Anteils im UO-Konzentrat stieg die CSB-Fracht im Ablauf mit einer Erholung zwischen dem 140. und 160. Tag bis zum 180. Tag an.

Ab diesem Zeitpunkt wurde das UO-Konzentrat mit Leitungswasser auf die Rohsickerwasserkonzentration zurückverdünnt. Die CSB-Zulaufwerte waren mit der Anfangsphase vergleichbar. Dennoch blieb der CSB im Ablauf oberhalb des Einleitwertes. Das bedeutet, dass sich die Sickerwasserzusammensetzung in Bezug auf die refraktären Verbindungen gegenüber der Anfangsphase verändert hat.

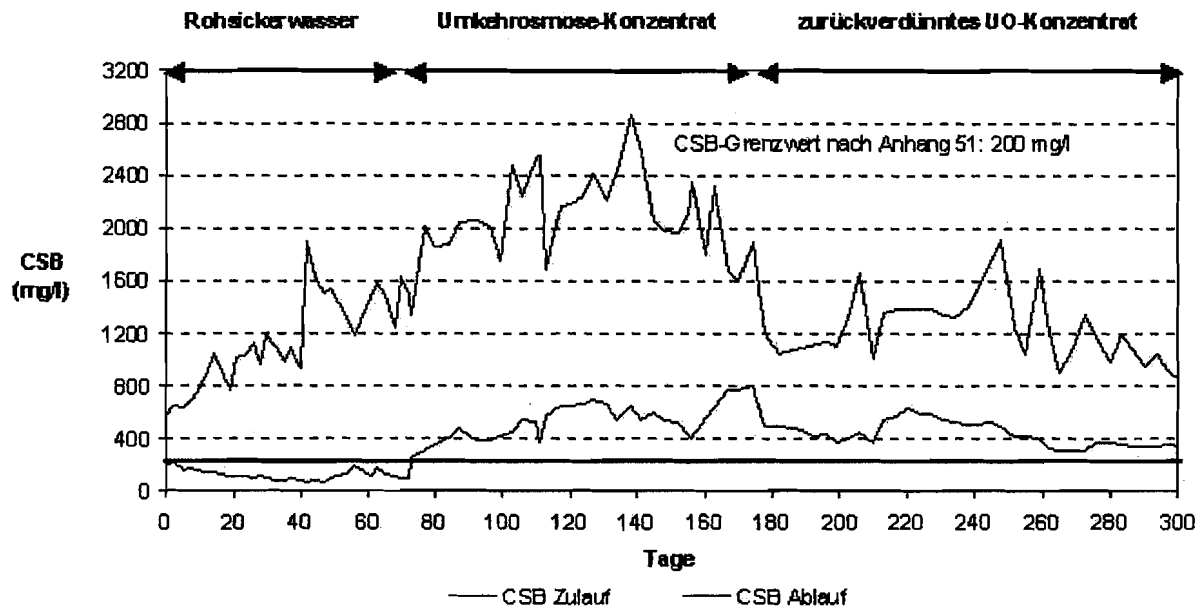


Abbildung 63: Deponie Schöneiche - Abbau organischer Verbindungen in der ersten Stufe.

Aufgrund des hohen Anteils refraktärer Sickerwasserverbindungen (siehe Rest-CSB im Ablauf) wurden für AOX hohe Messwerte erwartet, die sich dann auch bestätigten. Da die Kontrollmessungen mit AOX-Standardlösungen (2-Chlorphenol) im optimalen Bereich lagen, erschien die Messmethode fehlerfrei. AOX-Messungen von über 30 mg/l im Zulauf am 170. Versuchstag veranlassten allerdings eine Überprüfung der AOX-Analytik. Es stellte sich heraus, dass bei Einhaltung der Standardvorschrift für *Dr. Lange LCK 390* mindestens um den Faktor 10 höhere Befunde gemessen wurden. In Zusammenarbeit mit *Dr. Lange*¹⁶³ konnte der AOX-Küvettest durch besseres Auswaschen anorganischer Chloridreste und durch Doppelaufschluss der Proben in chloridfreien Reaktionsgläsern für die Sickerwasseranalytik optimiert werden. Die in der folgenden Grafik dargestellten AOX-Messungen wurde daher alle bis zum 180. Tag um den Faktor 10 nach unten korrigiert.

In der Anfangsphase zeigt sich bei den AOX-Zulaufwerten ein gegenläufiger Trend zur CSB-Zunahme in diesem Versuchszeitraum. Dies verdeutlicht einmal mehr, dass in einer Deponie gelagerte Stoffe unterschiedlich herausgewaschen werden. Bis zum 70. Tag wurden im Ablauf die AOX-Werte nach Anhang 51 eingehalten. Mit der Zufuhr von unverdünntem UO-Konzentrat ab dem 70. Tag steigt auch der AOX im Zu- und Ablauf, was einen Teil des refraktären Rest-CSB im Ablauf erklärt. Die Ablaufwerte schwanken unter- und oberhalb des Grenzwerts.

Die mit der optimierten Methode gemessenen, sehr niedrigen AOX-Werte im Ablauf der Stufe 1 ab dem 220. Tag implizieren, dass der refraktäre Anteil des behandelten Sickerwassers nur in geringem Maße auf chlorierte Xenobiotika zurückzuführen ist. (siehe Eigenfärbung des behandelten Sickerwassers).

¹⁶³

Gründel, M.: Analytische Betreuung von *Dr. Lange* Berlin, März 2000

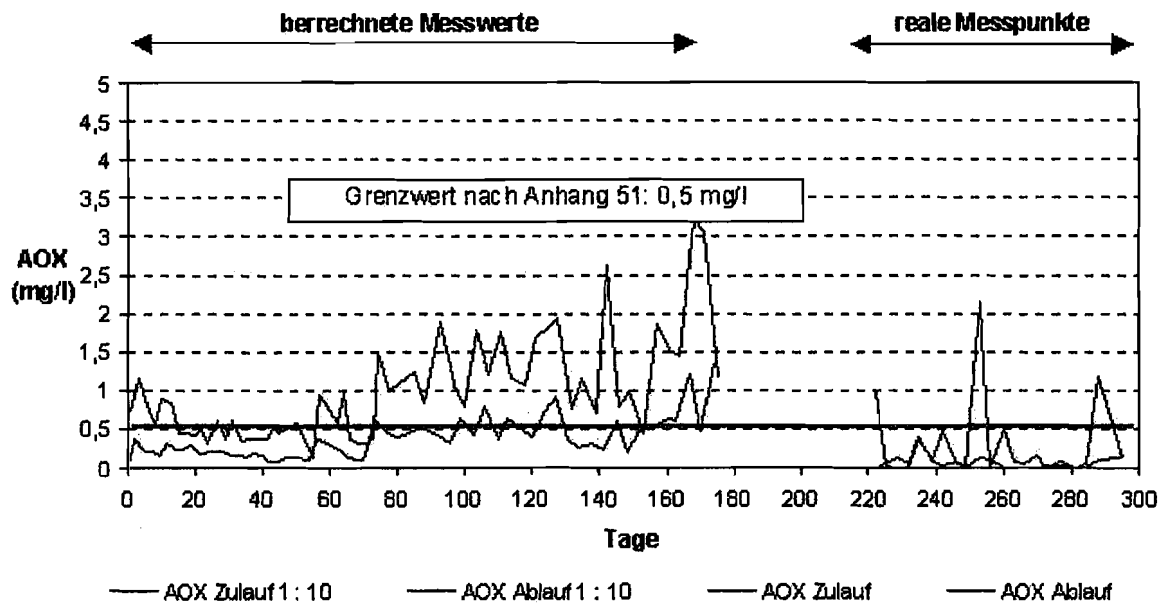


Abbildung 64: Deponie Schöneiche – Biologischer Abbau von an Aktivkohle adsorbierenden organischer Halogenen (AOX) in der ersten Stufe. Bis zum 180. Tag wurden die durch eine fehlerhafte Messmethode ermittelten Mehrbefunde um den Faktor 10 nach unten korrigiert. Ab dem 220. Tag wurde mit einer optimierten AOX-Analytik gemessen (siehe Text).

Zum Zeitpunkt der stärksten organischen Belastung der Laborkläranlage durch die Zufuhr von unverdünntem Umkehrosmose-Konzentrat zwischen dem 80. und 180. Tag wird die Biolumineszenz der Leuchtbakterien bei einer Verdünnungsstufe von 1 : 4 mit Ausnahme zweier Messpunkte im Ablauf der Biostufe 1 unter 20 % gehemmt. Zwischen dem 90. und 150. Tag liegt die Wachstumshemmung von *Tetrahymena thermophila* ebenfalls unter der 20%-Schwelle. Nur am Anfang und Ende dieses Zeitraums führen Chlorid-Konzentrationen über 3,5 g/l bei den Protozoen zu stärkerer Hemmung. Die geringe Toxizität des Rest-CSB ist ein weiterer Hinweis auf dessen Zusammensetzung (siehe Eigenfärbung des Sickerwassers).

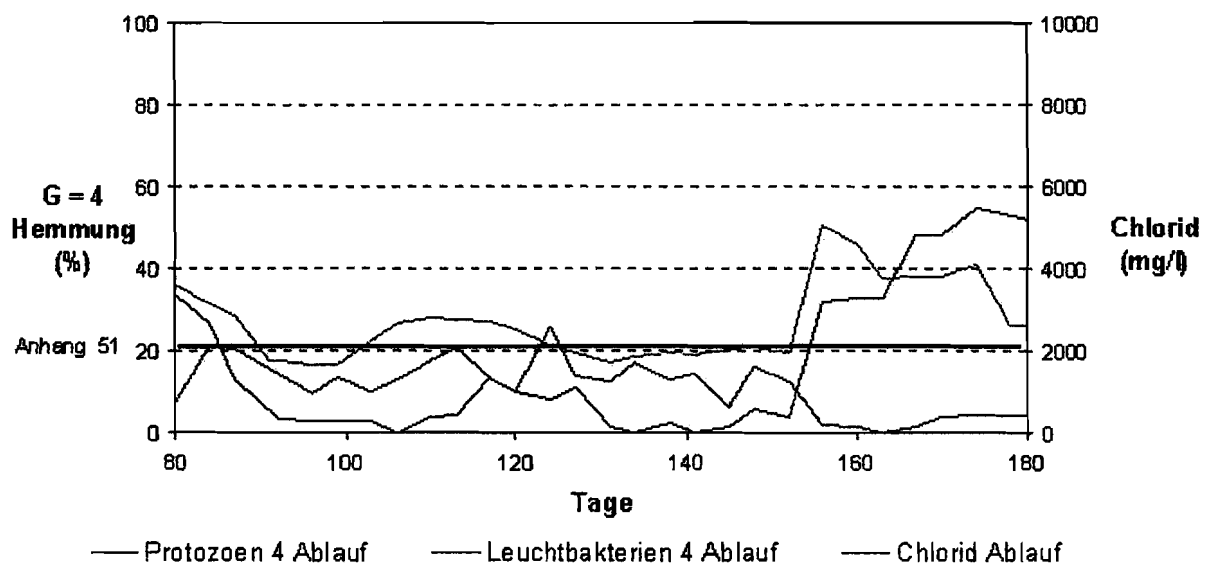


Abbildung 65: Deponie Schöneiche – Toxizität des behandelten Sickerwassers zum Zeitpunkt der stärksten organischen Belastung der Biostufe 1.

Das Problem der Stickstoffeliminierung konnte mit der Ausgangskonfiguration der ersten Biostufe bis zum 60. Tag zufriedenstellend gelöst werden (siehe nächste Abbildung). Danach stieg der Ammoniumanteil durch eine veränderte Zusammensetzung des Schöneicher Si-

ckerwassers von durchschnittlich 180 mg/l auf 300 mg/l im Zulauf an (neue Lieferung). Ab dem 140. Tag deutete sich eine Besserung der Nitratwerte im Ablauf an. Nachdem um den 160. Tag fast der Einleitwert nach Anhang 51 erreicht wurde, nahm das Nitrat danach im Ablauf aufgrund nun erheblich höherer NH_4^+ -Zulaufkonzentrationen wieder stark zu. Deshalb wurde die Stufe 1 am 178. Tag umgebaut.

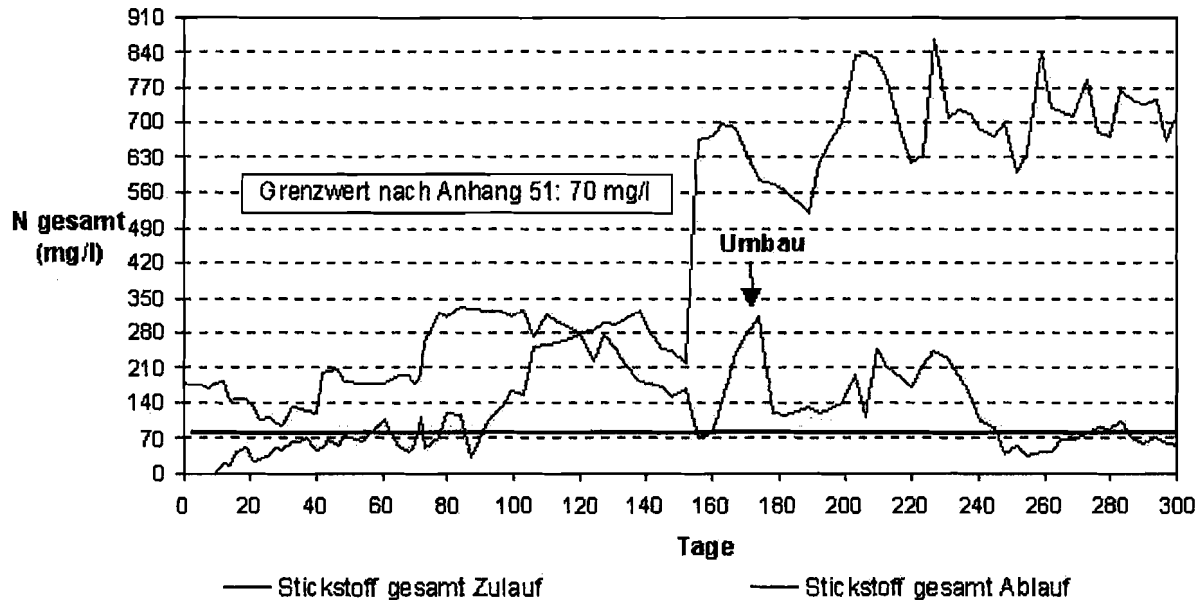


Abbildung 66: Deponie Schöneiche – Stickstoffumsatz in der ersten Stufe.

Zu diesem Zeitpunkt zeigte sich endgültig, dass sich die vorgeschaltete Denitrifikation für Sickerwasser mit hohen Ammoniumkonzentrationen aus einer Deponie in der Methanphase nicht bewährt, da der Rohsickerwasser-CSB nur eingeschränkt als Kohlenstoffressource für die Denitrifikanten verwertbar ist (siehe Einleitung Stickstoffumsatz). Der Vorteil der Einsparung von zudosiertem Kohlenstoff durch diese Betriebsart ist daher hinfällig. Die bei vorgeschalteter Denitrifikation erforderliche Nitratrückführung kann nicht verhindern, dass permanent ein Teil des Nitrats die Anlage über den Ablauf verlässt. Durch Fixierung der ammoniakoxidierenden Bakterien in einem vorgeschalteten Festbettreaktor konnte die Effizienz der Nitrifikation gesteigert werden: Die extrem langsamen Wachstumsraten (Generationszeiten von 8 bis 24 h) erfordern ein hohes Schlammalter, was durch die Immobilisierung der Nitrifikanten gewährleistet wird. Durch die Belüftung und eine zusätzliche Kreislaufführung wurde das Abwasser optimal verwirbelt. Nitrifikanten bevorzugen ein pH-Optimum von 7,5 bis 8,0. Nach Vorschaltung der Nitrifikation wurde dieser Reaktor direkt mit Rohsickerwasser (pH 7 bis 8) versorgt. Trotz Umbau der Laborkläranlage besteht hier noch ein erhebliches Potenzial zur Verbesserung der Abbauleistungen.

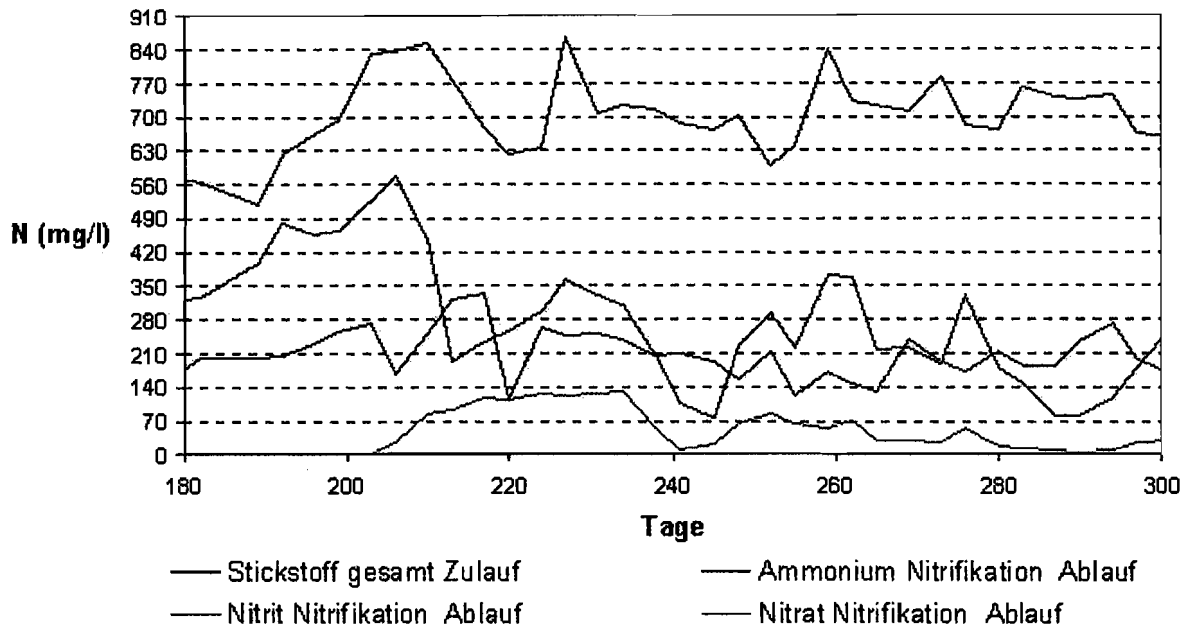


Abbildung 67: Deponie Schöneiche – Stickstoffumsatz im Nitrifikationsfestbett nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Die Abbildung oben verdeutlicht, dass das Ammonium nur zum Teil in Nitrat und Nitrit umgewandelt wurde. Das liegt daran, dass der Reaktor auch von nicht nitrifizierenden, heterotrophen Mikroorganismen besiedelt wurde, die parallel zur Nitrifikation die organischen Inhaltsstoffe um etwa ein Drittel reduzierten (Bild unten).

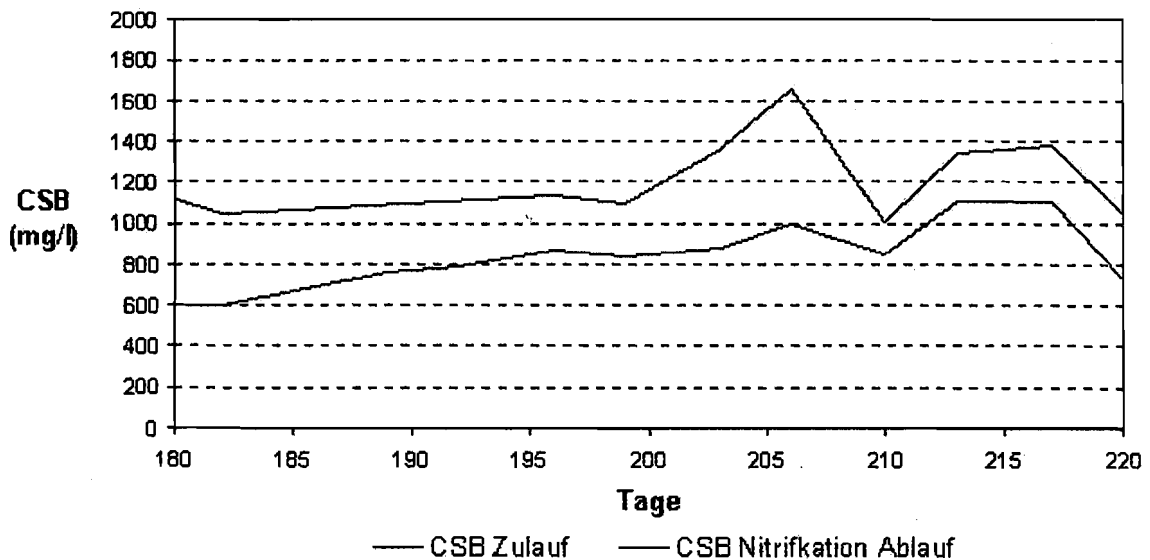


Abbildung 68: Deponie Schöneiche – Abbau organischer Inhaltsstoffe im Nitrifikationsfestbett in den ersten 40 Tagen nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Ein Teil des Ammoniums wird in der Nitrifikationsstufe in Stickstoffgas (N₂) umgewandelt:

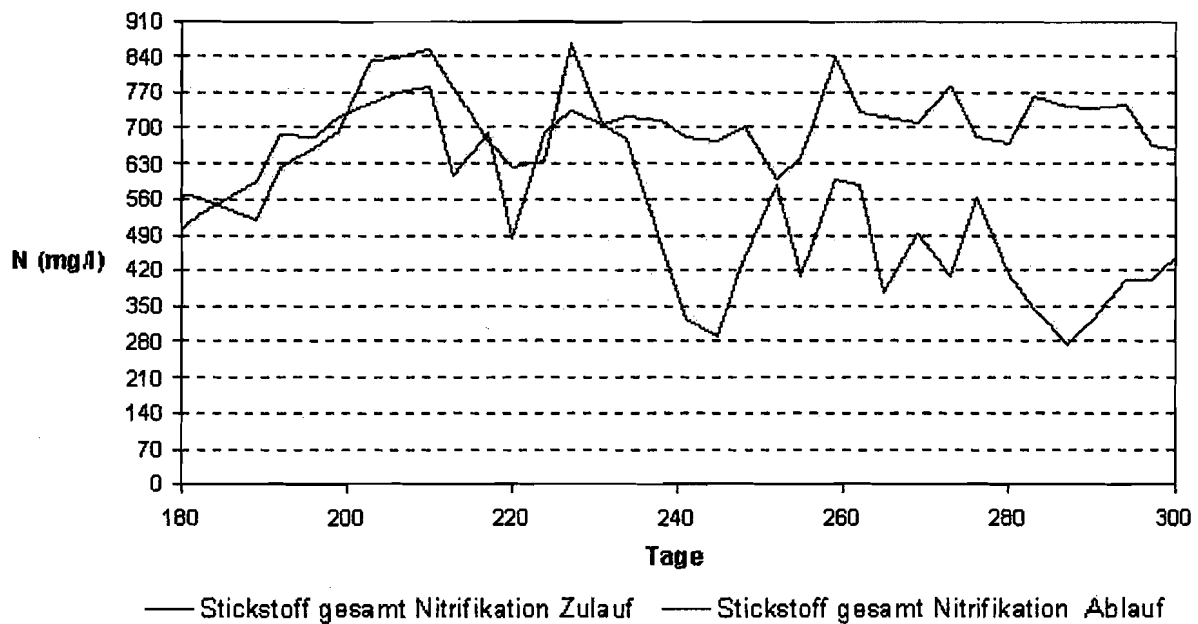


Abbildung 69: Deponie Schöneiche – Stickstoffabnahme im Sickerwasser durch Passieren des Nitrifikationsfestbetts nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Für das Entweichen von molekularem Stickstoff kommen drei Ursachen in Betracht:

- Nach Hippen et al.¹⁶⁴ wurde bisher bei einer Stickstoffeliminierung in Gegenwart von Sauerstoff argumentiert, dass sich in der inhomogen verteilten Biomasse anoxische Mikrohabitate bilden können, in denen dann die Denitrifikation abläuft. Die Immobilisierungskörper im Nitrifikationsfestbett der Biostufe 1 weisen aerobe und anoxische Zonen auf, so dass diese These durchaus plausibel erscheint und zumindest einen geringfügigen Teil des Stickstoffverlustes erklärt.
- Zunächst läuft die Umwandlung von Ammonium in Nitrit in den aeroben Zonen des Reaktors ab, wobei die Nitratbildung unterdrückt wird. Aus äquimolaren Mengen an Nitrit und Ammonium wird dann in den anoxischen Zonen durch anaerobe Ammonium-Oxidation Stickstoff gebildet. Da die Sauerstoffzufuhr im Nitrifikationsreaktor der Biostufe 1 nicht, wie für diese Reaktion erforderlich, limitiert ist, ist die Anammox-Reaktion als seltenes Ereignis in dieser Stufe anzusehen.
- Der Stickstoffverlust ist auf aerobe Deammonifikation zurückzuführen, bei der simultan nitrifiziert und denitrifiziert wird. Hippen et al. zeigten in Batchversuchen, dass zur besseren Sauerstoffversorgung homogenisierter Biofilm aus einem Nitrifikationsreaktor der Deponie Mechernich den Stickstoff besser eliminierte als nicht homogenisierter Biofilm (aerobe Denitrifikation). Ammonium wird nach Hippen et al. in der aeroben Nitrifikationsstufe der Sickerwasserbehandlungsanlage Mechernich in hohem Maße ohne organischen Kohlenstoff autotroph und heterotroph zu elementarem Stickstoff umgewandelt. Etwa 40 – 50 % des Ammoniums werden in dieser Anlage laut Bericht von Baumgarten und Seyfried auf der 18. Tagung der IAWQ¹⁶⁵ direkt in N₂ umgesetzt. Durch *in-*

¹⁶⁴ Hippen, A., Helmer, C., Scholten, E., Kunst, S., Diekmann, H., Rosenwinkel, K.-H., Seyfried, C. F.: Neue Möglichkeiten der Stickstoffelimination bei Abwässern mit niedrigem C/N-Verhältnis: Aerobe Deammonifikation, KA 12/1998, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

¹⁶⁵ Morgenroth, E., Wilderer, P. A.: 18. Zweijahrestagung der International Association on Water Quality (IAWQ) vom 23. bis 28. Juni 1996 in Singapur, KA 3/1997, ebenda

situ-Hybridisierung konnten Hippen et al. autotrophe Ammoniakoxidierer in den Bereichen der größten Stickstoffverluste des Nitrifikationsreaktors in Mechernich nachweisen. Die aerobe Deammonifikation ist vor allem für *Nitrosomonas europaea* und *Nitrosomonas eutropha* beschrieben (siehe Einleitung Stickstoffumsatz) und für den Hauptteil der Stickstoffabnahme in der Biostufe 1 verantwortlich.

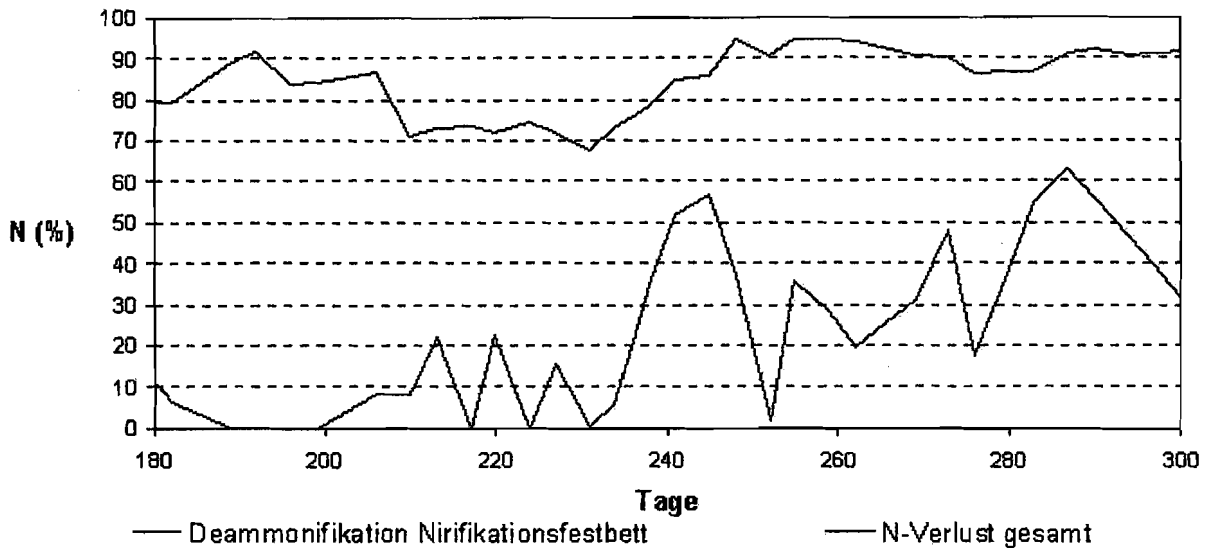
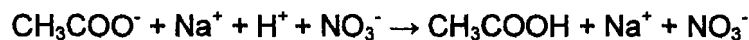


Abbildung 70: Deponie Schöneiche – Prozentuale Stickstoffabnahme im Sickerwasser durch aerobe Deammonifikation im Nitrifikationsfestbett nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Das im Nitrifikationsreaktor gebildete Nitrat wurde in ein Denitrifikationsfestbett geleitet, wo es unter Zugabe einer Kohlenstoffquelle vollständig eliminiert wurde. Als Kohlenstoffquelle diente 0,25 M Natriumacetat (pH 8,25), das im Gegensatz zur Essigsäure die saure Nitrifikationsreaktion (pH 5,5) schwach puffert und nicht wie Methanol die Immobilisierungskörper aus Polyurethan angreift. Natriumacetat dissoziiert in wässriger Lösung, und im sauren Milieu (HNO_3 durch die Nitrifikation) bildet sich nach folgender Reaktionsgleichung Essigsäure im Zulauf des Festbetts:



Der CSB von 0,25 M Natriumacetat beträgt 15940 mg/l. In 150 ml dieser Lösung sind 2391 mg CSB als verwertbarer Kohlenstoff enthalten; die pro Tag in den Zulauf des Denitrifikationsreaktors dosiert wurden. Die Zugabe von 150 ml Natriumacetat pro Tag entspricht einer Kohlenstoff-Konzentration, die nach Wolffson¹⁶⁶ knapp 550 mg/l Nitrat und nach Hillenbrand und Böhm¹⁶⁷ knapp 700 mg/l Nitrat zu molekularem Stickstoff umsetzt (4,4 g/g bzw. 3,5 g/g CSB/N-Verhältnis).

In der nächsten Abbildung zeigt die Differenz an Gesamt-Stickstoff aus dem Zulauf und Ablauf der Denitrifikationsstufe die Bildung von N_2 durch Denitrifikation. Der Rest-Stickstoff im Ablauf der Denitrifikation resultiert aus der unvollständigen Ammoniumoxidation.

¹⁶⁶ Wolffson, C.: Denitrifikation von speziellen Abwässern mit externen Kohlenstoffquellen, Schriftenreihe des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der TU Braunschweig, Heft 52, 1992

¹⁶⁷ Hillenbrand, T., Böhm, E.: Maßnahmen zur Verbesserung der Denitrifikation, KA 3/1996, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

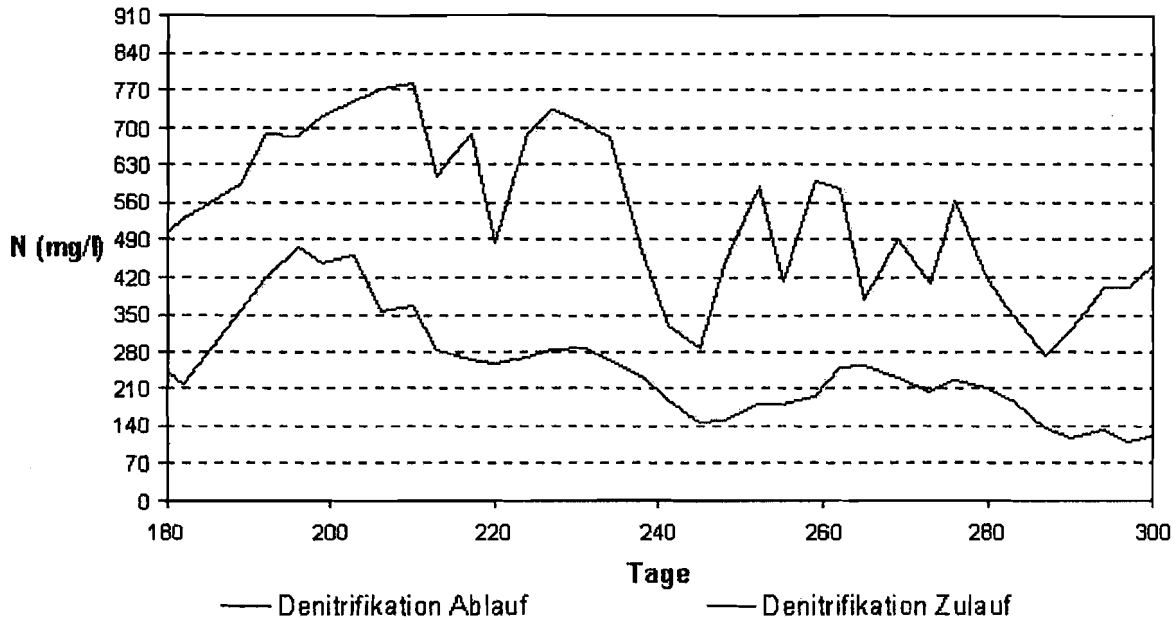


Abbildung 71: Deponie Schöneiche – Stickstoffabnahme im Sickerwasser nach Durchlaufen des Denitrifikationsfestbetts nach dem Umbau der ersten Biostufe. Das Nitrat im Zulauf wurde komplett umgesetzt. Der Rest-Stickstoff besteht aus nicht nitrifiziertem und teiloxidiertem Ammonium (siehe Text).

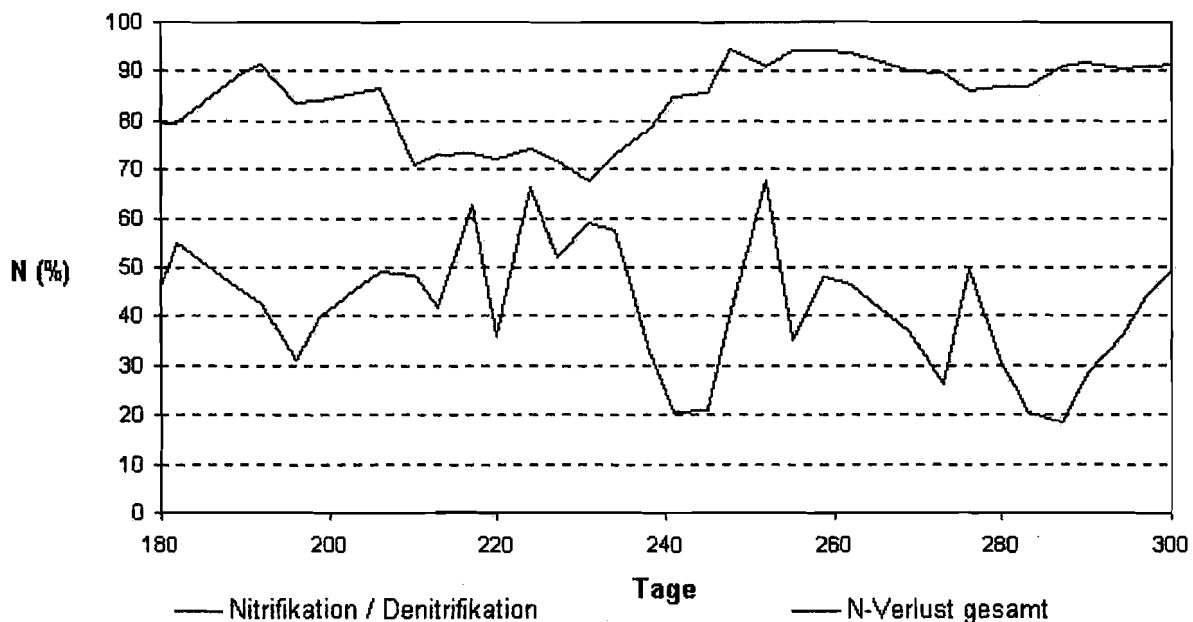


Abbildung 72: Deponie Schöneiche – Prozentuale Stickstoffabnahme im Sickerwasser durch Nitrifikation und Denitrifikation nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Das Rest-Ammonium aus der Nitrifikation wurde im nachfolgenden Rührreaktor zu einem geringen Anteil in Nitrit, einem größeren in Nitrat und überwiegend in molekularem Stickstoff umgewandelt. Die Stickstoffverluste im Rührreaktor sind, wie schon für den Nitrifikationsreaktor dargelegt, auf aerobe Deammonifikation zurückzuführen. Nach einer Adaptionsphase bewirkten die Umbaumaßnahmen, das ab dem 260. Tag der Grenzwert für Stickstoff eingehalten wurde. Die kurzfristige Erhöhung um den 290. Tag ist auf Probleme mit der Hausdruckluftanlage zurückzuführen.

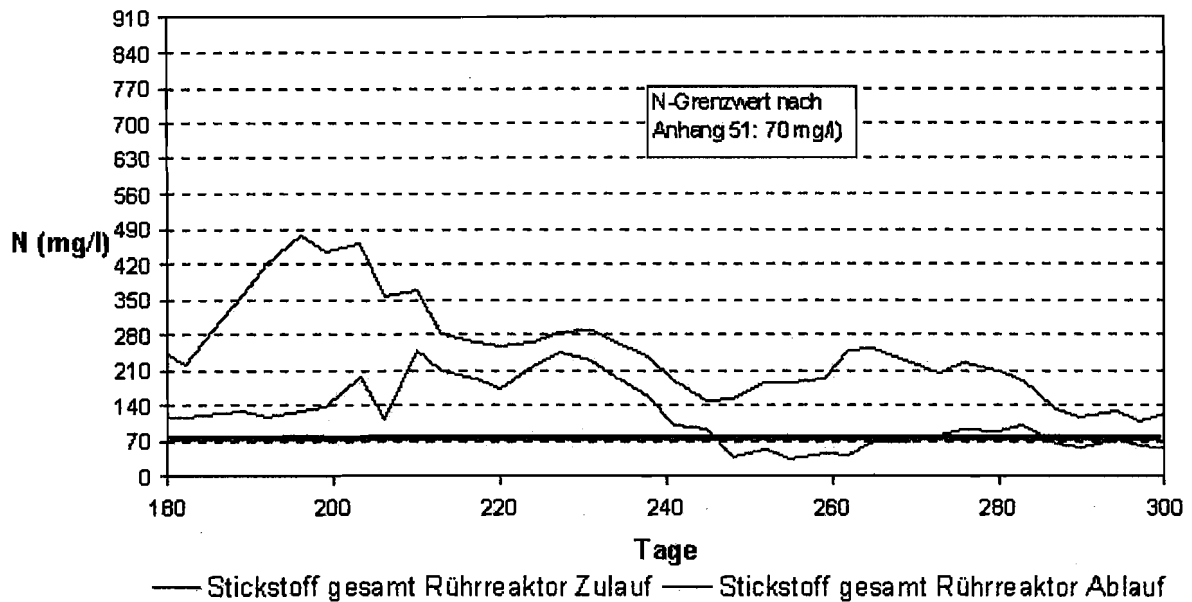


Abbildung 73: Deponie Schöneiche – Stickstoffabnahme im Sickerwasser durch Passieren des Rührreaktors nach dem Umbau der ersten Biostufe.

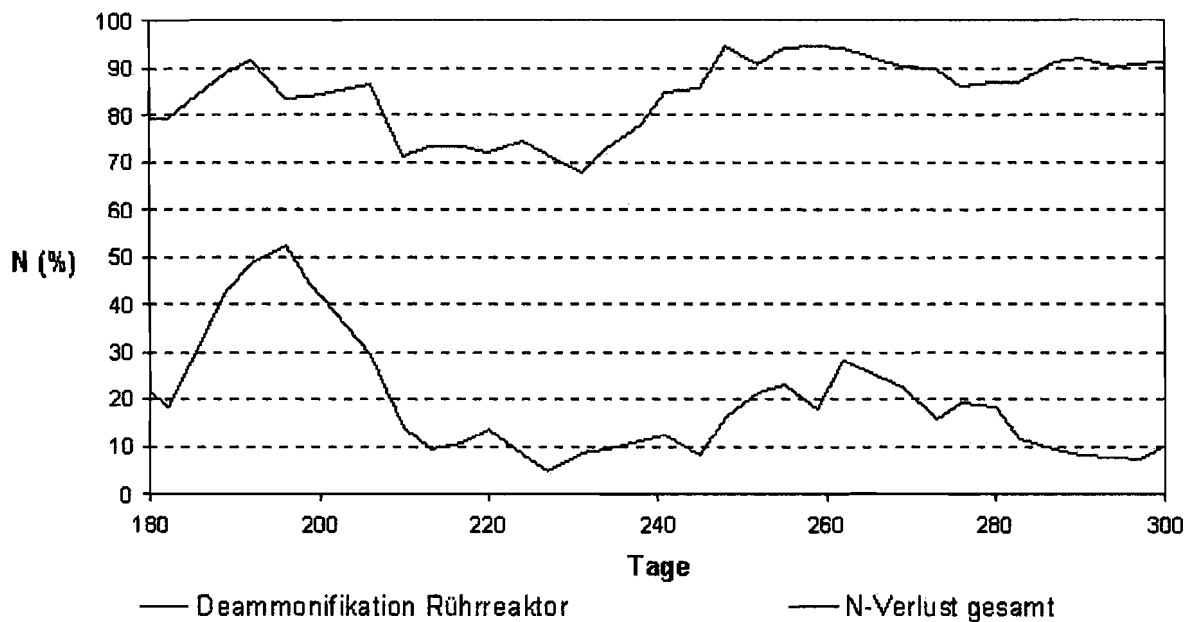


Abbildung 74: Deponie Schöneiche – Prozentuale Stickstoffabnahme im Sickerwasser durch aerobe Deammonifikation im Rührreaktor nach dem Umbau der ersten Biostufe.

Neben überschüssigem Natriumacetat wurden die organischen Inhaltsstoffe des Deponiesickerwassers im Rührreaktor um ein weiteres Drittel degradiert. Um die Kosten weiter zu senken, soll der Rührreaktor zukünftig durch ein aerobes Festbett ersetzt werden. Auf eine Mikrofiltration als Abschluss der ersten Biostufe kann dann verzichtet werden.

In der Biostufe 1 spielt die aerobe Denitrifikation im Nitrifikations- und Rührreaktor zusammen eine gleich große Rolle für die Stickstoffelimination, wie die klassische Kombination von Nitrifikation und Denitrifikation (siehe Mittelwerte der folgenden Abbildung). Minimale aerobe Denitrifikation in der Nitrifikationsstufe wird durch maximale im Rührreaktor kompensiert. Durch maximale aerobe Denitrifikation in der Nitrifikationsstufe ist im Rührreaktor nur minimale möglich. Die Grenzwerte nach Abwasserverordnung (AbwV) Anhang 51 für Stickstoff

können im Prinzip mit dieser Anlagenkonfiguration eingehalten werden. Da sich im Nitrifikationsreaktor neben den Ammoniumoxidierern auch andere Organismen angesiedelt haben, wie die CSB-Reduktion von einem Drittel der Ausgangskonzentration belegt, sind hier noch erhebliche Verbesserungen möglich.

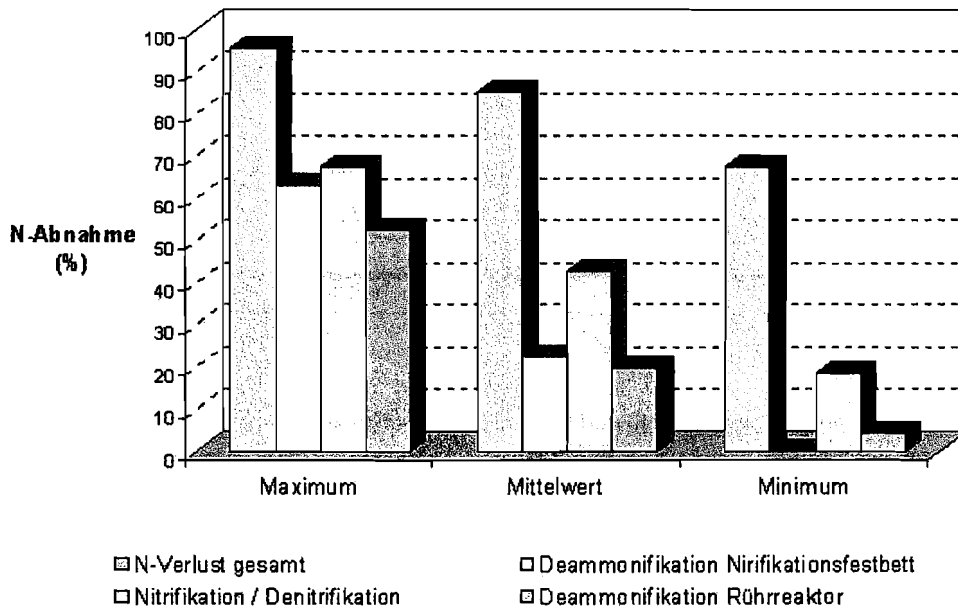


Abbildung 75: Deponie Schöneiche – Stickstoffabnahme im Sickerwasser nach dem Umbau der ersten Biostufe.

3.3.2 Anlagenablauf: Ausgangskonfiguration und erster Umbau

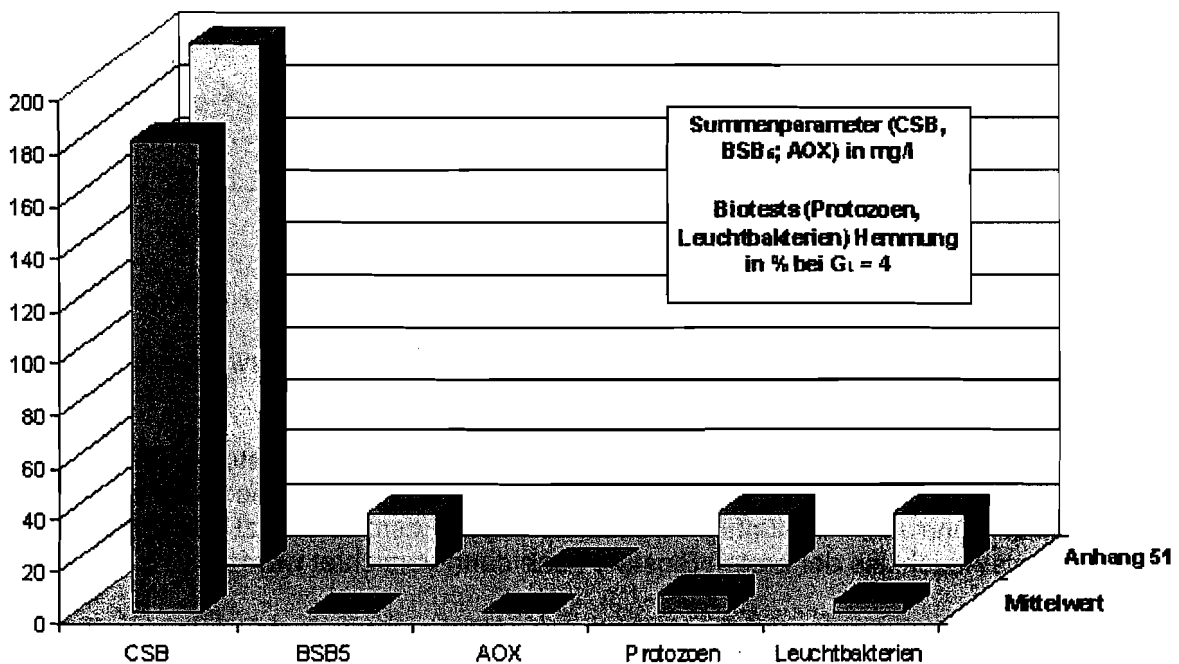


Abbildung 76: Deponie Schöneiche - Vergleich der mittleren NF-Permeat-Ablaufwerte CSB, BSB₅, AOX und Leuchtbakterienhemmung mit AbwV Anhang 51 (Ausgangskonfiguration der Biostufe 1). TOC und Protozoen-Test sind Ergänzungsparameter.

Die mittleren Konzentrationen der Summenparameter CSB, BSB₅ und AOX lagen im Permeat der Nanofiltration schon in der Ausgangskonfiguration der Laborkläranlage unter den geforderten Einleitwerten (siehe obere Abbildung). Bei einer Verdünnung von 1 : 4 (G = 4) wurden sowohl *Tetrahymena thermophila* im Wachstum und *Photobacterium phosphoreum* in der Biolumineszenz weit unter 20 % gehemmt.

Aufgrund der Permeabilität der Nanofiltrationsmembran fanden sich im Filtratstrom in etwa die gleichen Konzentrationen von Ammonium, Nitrit und Nitrat, wie sie im Ablauf der Biostufe 1 gemessen wurden. Da vor dem Umbau der Stufe 1 der Stickstoffumsatz suboptimal verlief, wurden weder die Nitrit- noch die Gesamt-Stickstoff-Grenzwerte im Mittel eingehalten (Mittelwert 1 der folgenden Abbildung). Der Grenzwert für Nitrit beträgt 2 mg/l, für Gesamt-Stickstoff 70 mg/l. Nach der Adaptionphase der neu konfigurierten Biostufe konnten trotz stark steigender Ammonium-Konzentration im Zulauf der Anlage erheblich niedrigere Stickstoffwerte im NF-Permeat gemessen werden, (Mittelwert 2 in der folgenden Abbildung).

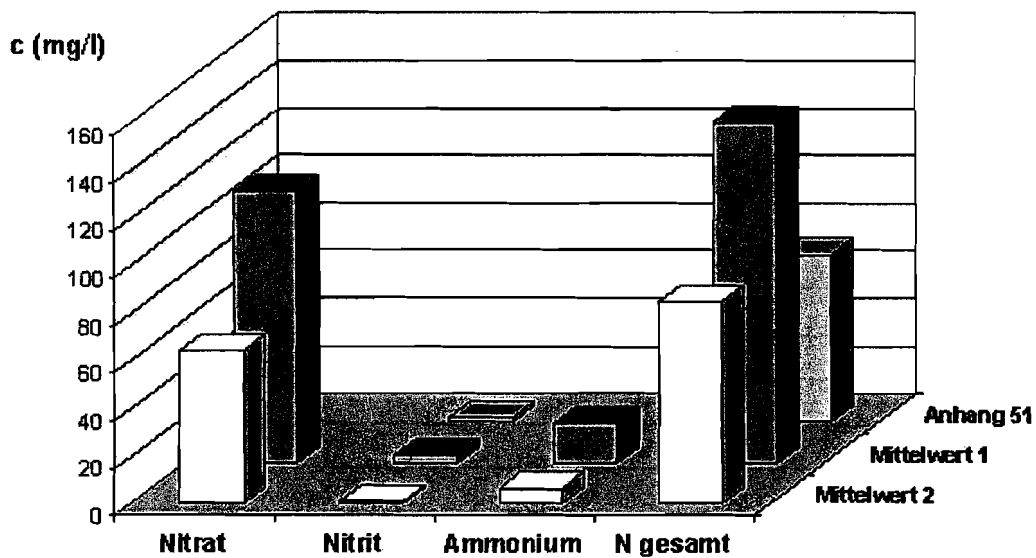


Abbildung 77: Deponie Schöneiche - Vergleich der mittleren NF-Permeat-Ablaufwerte von Ammonium, Nitrit, Nitrat und Gesamt-Stickstoff mit AbwV Anhang 51.

Die beiden nächsten Abbildungen zeigen mittlere Konzentrationen anorganischer Parameter des NF-Permeats im Vergleich zu den Ablaufwerten nach Anhang 51 der Abwasserverordnung. Alle Parameter unterschritten die Werte der Abwasserverordnung. Für Chlorid existiert zwar kein Grenzwert, es ist aber als Störfaktor in der Analytik relevant. Für Quecksilber gibt es zur Zeit nach unserem Wissen keine praktikable nasschemische Analysemethode.

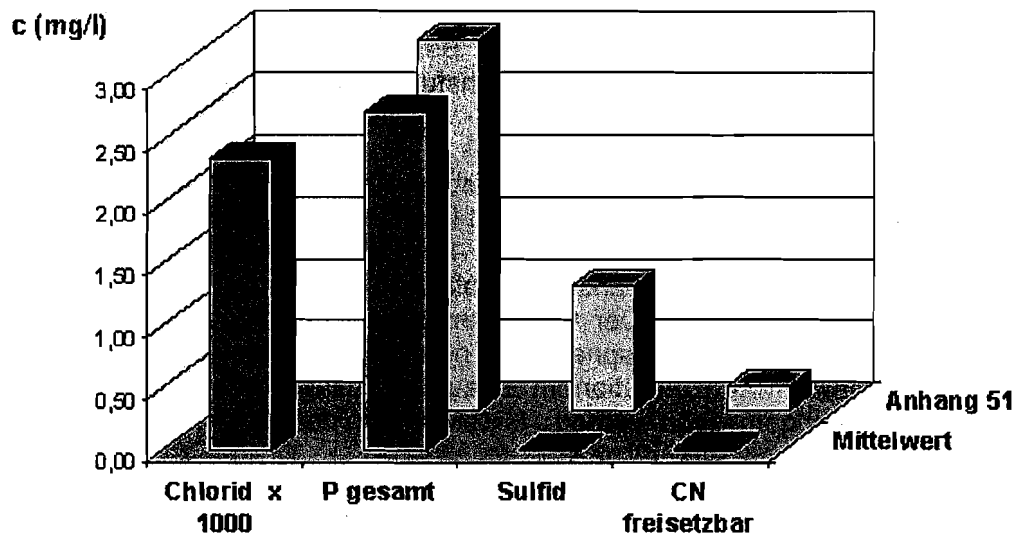


Abbildung 78: Deponie Schöneiche - Vergleich der mittleren Konzentrationen von Gesamt-Phosphor, gelöstem Sulfid und leicht freisetzbarem Cyanid im NF-Permeat zu den Grenzwerten der Abwasserverordnung. Chlorid spielt nach AbwV Anhang 51 keine Rolle, ist aber als Störfaktor in der Analytik relevant.

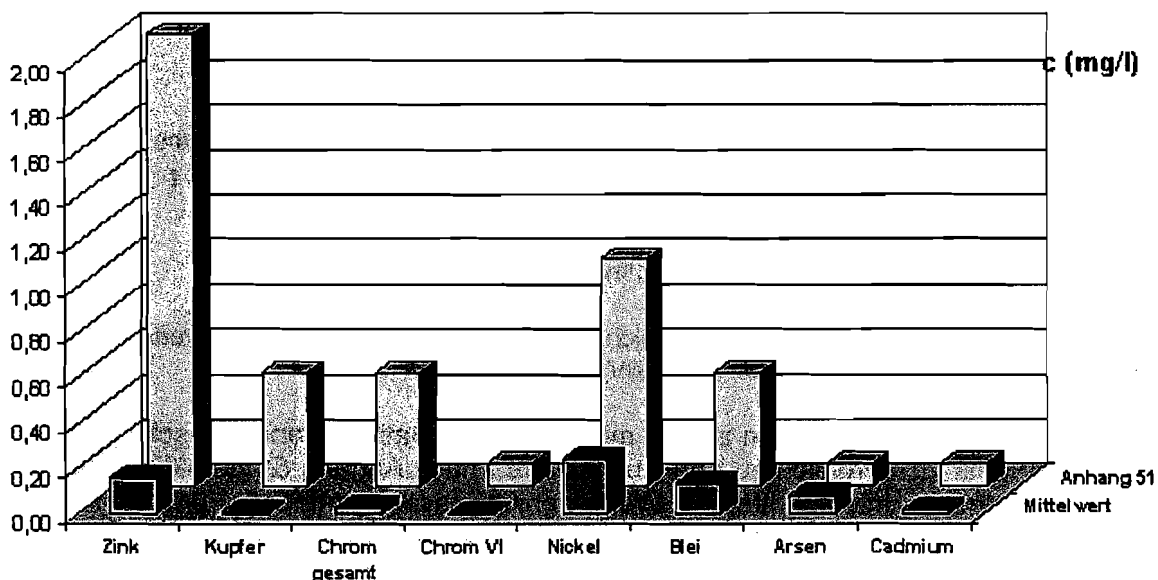


Abbildung 79: Deponie Schöneiche - Vergleich der mittleren Metallkonzentrationen im NF-Permeat zu den Grenzwerten der Abwasserverordnung.

3.3.3 Biostufe 1: Neukonfiguration zur weiteren Verbesserung des Stickstoffumsatzes

In der optimierten Konfiguration der Biostufe 1 wird ein Festbett ausschließlich mit ammoniumoxidierenden Bakterien unter Lichtausschluss besiedelt. Aus stöchiometrischen Gründen werden maximal zwei Drittel des Stickstoffeintrags durch aerobe Denitrifikation in molekularen Stickstoff umgewandelt und nur noch ein Drittel durch Nitrifikation zu Nitrat oxidiert, das anschließend anaerob denitrifiziert werden muss. Konsequenterweise sollte man dieses Festbett nicht mehr als Nitrifikations- sondern als **Ammonium-Oxidationsstufe (Amnox-Stufe)** bezeichnen.

Für die Besiedlung der Ammox-Stufe kommen in erster Linie standorteigene Ammoniumoxidierer in Frage, die qualitativ im Schöneicher Rohsickerwasser nachgewiesen werden konnten.



Abbildung 80: Qualitativer Nachweis von Nitrifikanten / Deammonifikanten im Rohsickerwasser der Deponie Schöneiche (links: Entfärbung von Phenolrot durch ammoniakoxidierende Bakterien, rechts: Negativ-Kontrolle, Foto: Jens Baumgardt).

Außerdem ist eine Adaption des Stamms *Nitrosomonas cryotolerans* ATCC 49181¹⁶⁸ von der American Type Culture Collection (www.atcc.org) an das Sickerwasser denkbar. Der Stamm *Nitrosomonas cryotolerans* ATCC 49181 ist ein mariner Ammoniumoxidierer aus der Kasitana Bay in Alaska. Der Stamm wächst und nitrifiziert auch bei niedrigen Temperaturen und ist als Meeresorganismus tolerant gegenüber hohen Salzkonzentrationen. Diese Eigenschaften machen ATCC 49181 für eine nicht eingehauste Sickerwasserbehandlung interessant.

Die direkte Einleitung von verwertbarem organischen Kohlenstoff aus dem Rohsickerwasser in die Ammox-Stufe führte zur Überwucherung der Deammonifizierer durch heterotrophe Bakterien. Das heißt, dass die bakterielle Degradation der organischen Sickerwasserinhaltsstoffe vor der Ammoniumoxidation in einem eigen Festbettreaktor stattfinden muss. Die Zudosierung eines Natriumcarbonat-Puffers (z. B. 0,1 M Soda-Lösung, pH 11) macht anorganischen Kohlenstoff für die autotrophen Organismen in der Ammox-Stufe verfügbar und neutralisiert simultan die Salpeterbildung durch die Nitrifikation auf pH 7,5.

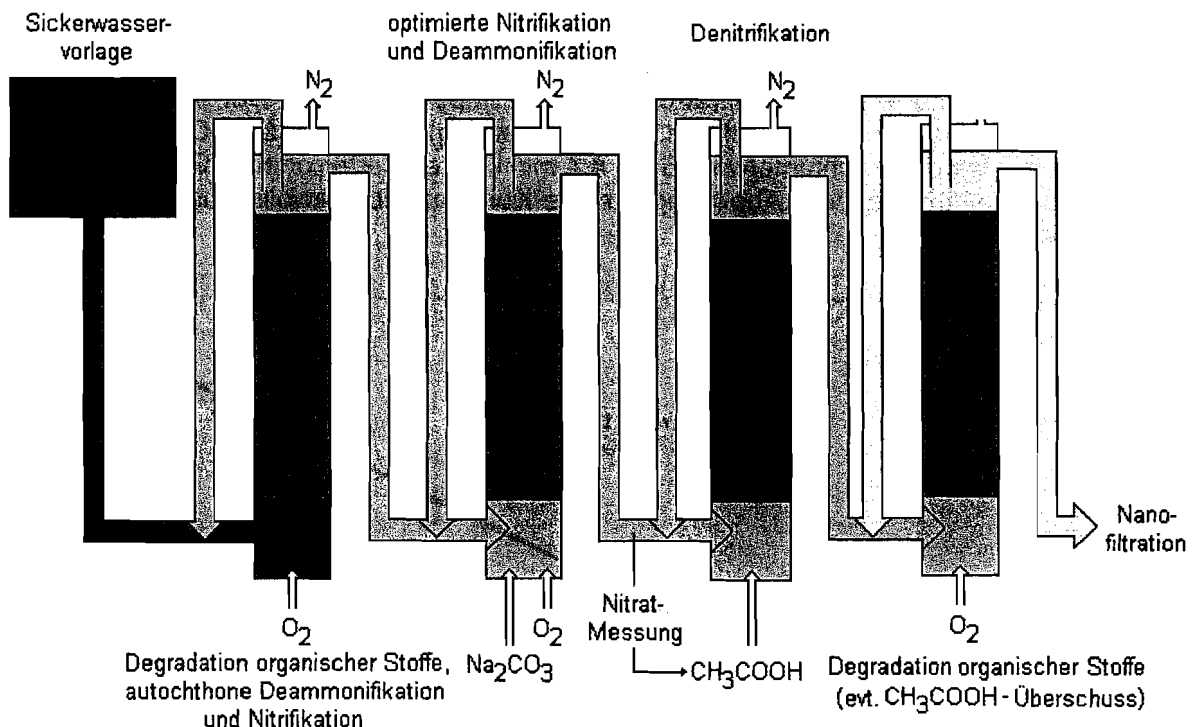


Abbildung 81: Neukonfiguration der Stufe 1 zur Verbesserung des Stickstoffumsatzes – Abbau organischer Stoffe (Reaktor 1 und 4), Ammox-Stufe (Reaktor 2) und Denitrifikation (Reaktor 3).

¹⁶⁸

Jones, R. D. et al.: A new marine ammonium-oxidizing bacterium, *Nitrosomonas cryotolerans* sp. Nov., Can. J. Microbiol. 34, S. 1122 – 1128, 1988

Durch die Neukonfiguration wird das Ammonium in Reaktor 2 vollständig umgesetzt. Simultan wird durch Nitrifikation Nitrat und durch aerobe Denitrifikation Luftstickstoff gebildet. Der Gesamtstickstoff im Ablauf des Reaktors ist äquivalent zur Nitratkonzentration (siehe nächste Abbildung). Diesen Vorgang nennt man aerobe Deammonifikation.

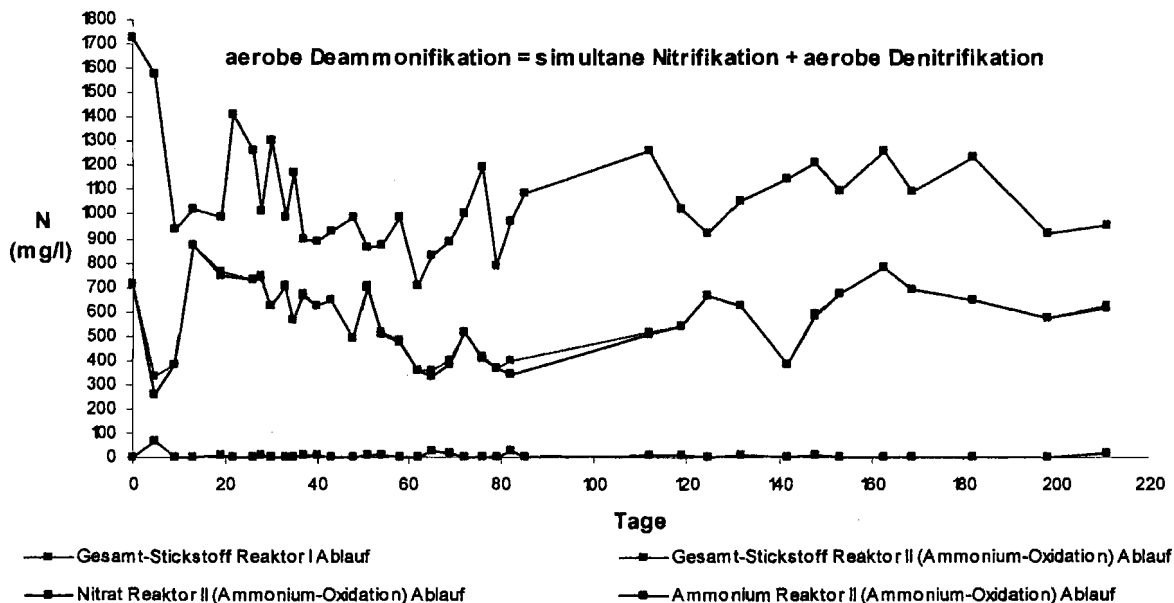


Abbildung 82: Deponie Schöneiche – Nitratbildung durch Nitrifikation und Stickstoffabnahme durch aerobe Denitrifikation in der Ammox-Stufe nach Neukonfiguration der Biostufe 1. Im Ablauf des Reaktors ist Ammonium nur in Spuren nachweisbar.

Wegen der vorausgegangenen Pufferung mit Soda-Lösung kann statt Natriumacetat Essigsäure als externe organische Kohlenstoffquelle für die anaerobe Denitrifikation in Reaktor 3 verwendet werden. Eine exakte Dosierung erfolgt über eine Messung des Nitratgehalts im Ablauf der Ammox-Stufe. Für 1g/l Nitrat-Stickstoff im Deponiesickerwasser wird je nach Autor (Hillenbrand und Böhm bzw. Wolffson, siehe Einleitung) ein Essigsäure-CSB von 3,6 bis 4,4 g/l benötigt. Das entspricht in etwa 3,6 bis 4,4 ml/l konzentrierter oder 6 bis 7,4 ml/l 60 %-iger Essigsäure (siehe nächste Abbildung, untere Konzentration jeweils dunkelgrün, obere jeweils hellgrün).

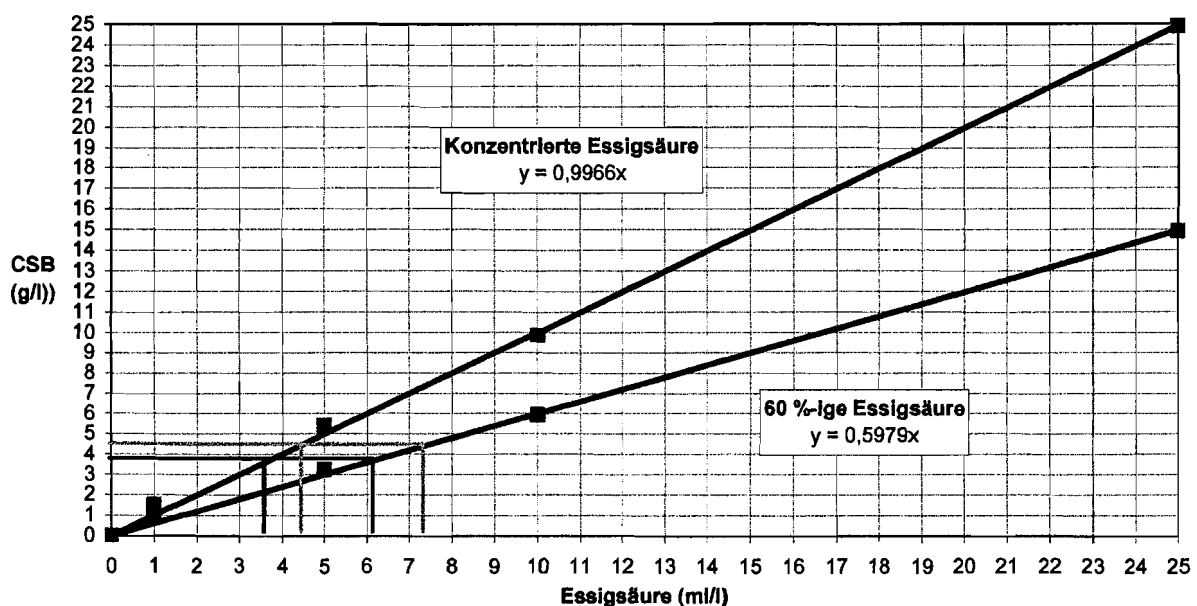


Abbildung 83: Kohlenstoffdosierung für die Denitrifikation:

Die folgende Grafik zeigt die anaerobe Umwandlung von Nitrat zu Luftstickstoff in Denitrifikationsreaktor und die Abhängigkeit dieser Reaktion von der Essigsäure-Dosierung. Nach anfänglichem Überschuss an Essigsäure wurde die Zufuhr der C-Quelle am 12. Tag zunächst gestoppt, um eine Zunahme der organischen Belastung im Ablauf der Biostufe 1 zu unterbinden. Die Maßnahme hatte am 13. Tag einen starken Nitratanstieg im Ablauf des Reaktors zur Folge. Nach Wiederanfahren der C-Dosierung (4 ml/l) sank die Nitratkonzentration am 19. Tag auf 8,4 mg/l. Daraufhin wurde die Essigsäurezufuhr auf 2 ml/l gedrosselt, was zu einem Anstieg auf 141 mg/l Nitrat führte. Um den Grenzwert von 70 mg/l wieder zu erreichen, wurde kurzfristig zwischen dem 33. und 35. Tag 9 ml/l Essigsäure dosiert. Da die Nitratwerte wiederum stark sanken, wurde die Essigzufuhr zurückgefahren, bis am 54. Tag ein erneutes Ansteigen des Nitrats zu beobachten war. Leider wurde nicht rechtzeitig bemerkt, dass zwischen dem 62. und 69. Tag die Dosierpumpe verstopfte, so dass der Nitratgrenzwert erneut überschritten wurde. Mit zwei Ausnahmen wurde für den restlichen Versuchszeitraum die Essigsäurekonzentration auf 4 ml/l festgelegt. Jeweils am 85. und 125. Tag begann sich die Pumpe zuzusetzen, so dass die Nitratkonzentration nur knapp unterhalb des Einleitwertes nach Anhang 51 blieb. Zwischen dem 143. und 153. Tag kam es zu einer sichtbaren Populationsverschiebung in der Denitrifikationsbiologie bei gleichzeitigem Überschreiten des Grenzwertes. Sowohl im Überstand als auch zwischen den Polyurethanschaumstoffwürfeln des Reaktors kam es zur rasanten Vermehrung bräunlich schleimiger Kolonien. Im Festbett wuchsen außerdem weiße, mycelartige Strukturen. Die Gründe für diese Veränderung sind bislang nicht bekannt. Möglicherweise war zu diesem Zeitpunkt ein Substrat limitiert, was zum spontanem Absterben von Mikroorganismen führte. Das tote Zellmaterial bildete dann die Nahrungsgrundlage für das rasche Anwachsen einer differenten Population. Nach Ablassen der wässrigen Phase des Reaktors in einem Zwischenspeicher wurden am 160. Tag die Schaumstoffwürfel ausgepresst und der Reaktor erneut beschickt. Bis zum Ende des Versuchs blieb der Nitratwert unterhalb von 70 mg/l.

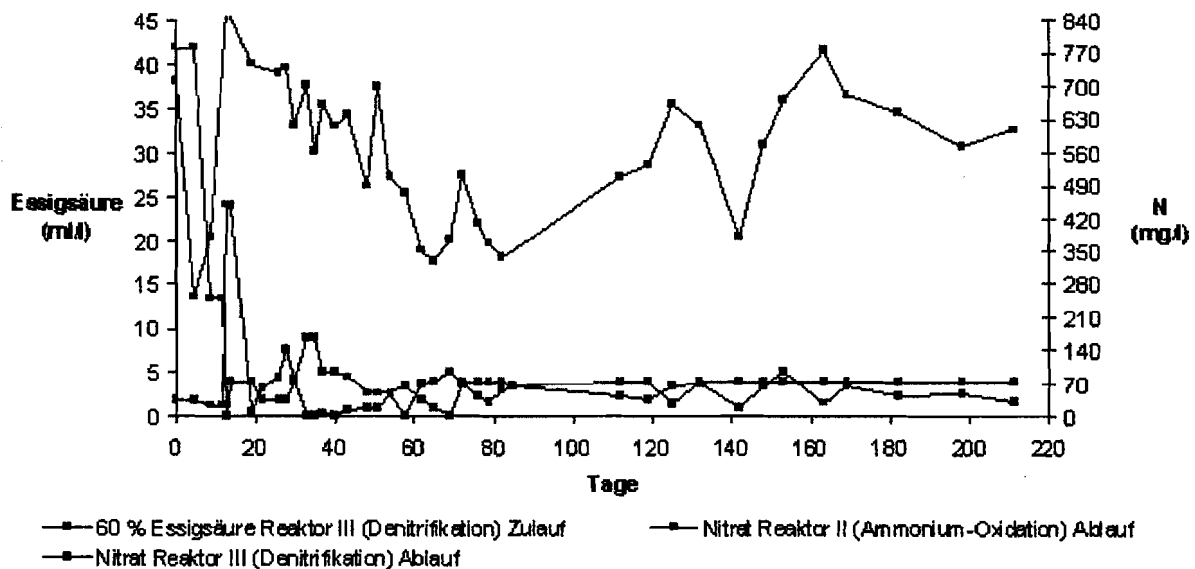


Abbildung 84: Deponie Schöneiche – anaerober Nitratabbau in der Denitrifikationsstufe nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

Daraus folgt, dass durch die Dosierung von Essigsäure in die Denitrifikationsstufe Nitrat (hier äquivalent zum Gesamt-Stickstoff) unter den Anhang-51-Wert gedrückt werden kann. Allerdings kann auch in größeren Anlagen der Abzug von Belebtschlamm nach ca. 150 Tagen erforderlich werden.

Den Abschluss der Biostufe 1 bildet eine aerobe Stufe zur weiteren Degradation der organischen Sickerwasserinhaltsstoffe, zur Elimination von eventuell auftretenden Essigsäureüberschüssen und zur Vermeidung von Geruchsbelästigungen, die durch den Denitrifikationsreaktor im Ablaufwasser auftreten können.

In der folgenden Abbildung ist die organische Abbauleistung der Biostufe 1 unter den neuen Betriebsbedingungen aufgeschlüsselt. Reaktor 1 senkt den CSB, unabhängig von der Zulaufkonzentration, auf ein relativ konstantes Niveau zwischen 350 und 500 mg/l. Interessanterweise halbiert sich der CSB nochmals in der Ammox-Stufe (Reaktor 2). Der CSB liegt schon nach dieser Stufe mit zwei Ausnahmen unterhalb des Einleitwerts nach Anhang 51. Hierfür kommen zwei Ursachen in Betracht. Zum einen kann trotz Optimierung der Lebensbedingungen für die Ammoniumoxidierer nicht ausgeschlossen werden, dass sich schnell wachsende, heterotrophe Bakterien etablieren, da in Reaktor 1 nicht alle leicht abbaubaren Substanzen umgesetzt wurden. Zum anderen ist in der Literatur beschrieben, dass die Deammonifizierer mittels ihrer Ammonium-Monooxygenase durch Co-Oxidation organische Stoffe abbauen können. Im Ablauf der Biostufe 1 (Reaktor 4) ist der CSB nochmals reduziert. Die hohen CSB-Werte in den ersten 30 Tagen in Reaktor 4 beruhen auf dessen früherer Funktion, wie weiter unten ausführlich beschrieben wird, bzw. Essigsäureüberschüssen aus der Denitrifikation.

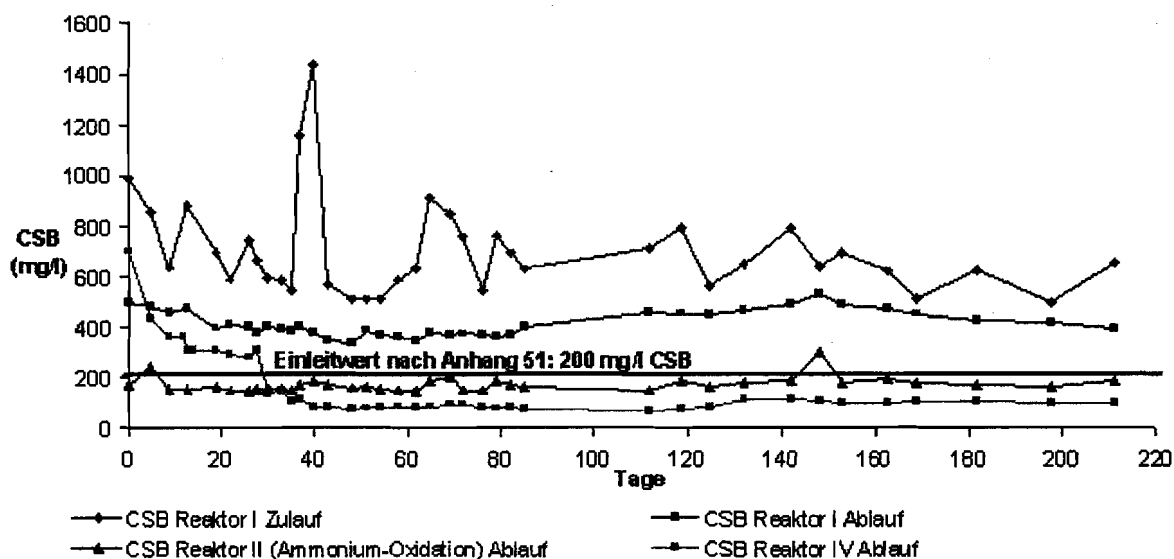


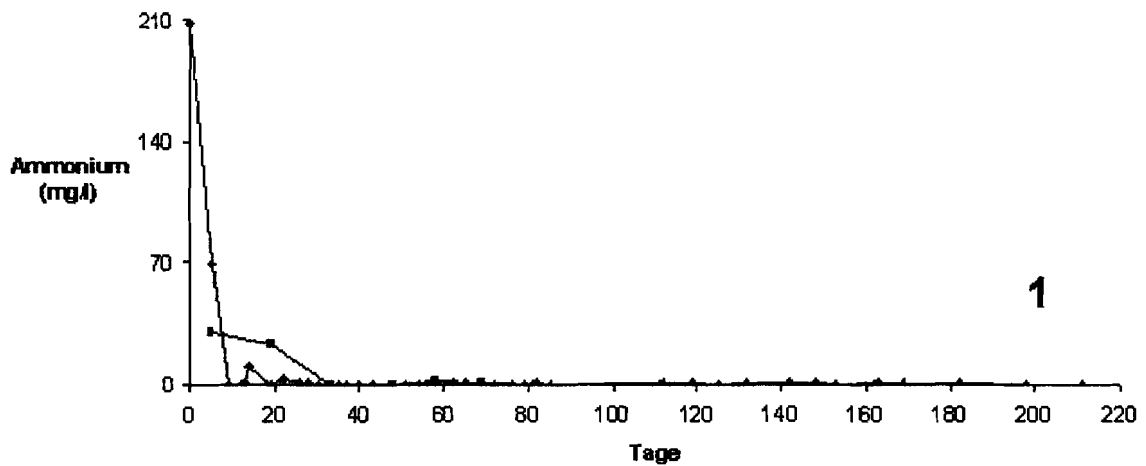
Abbildung 85: Deponie Schöneiche – Degradation der organischen Belastung nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

3.3.4 Anlagenablauf nach Neukonfiguration der Biostufe 1

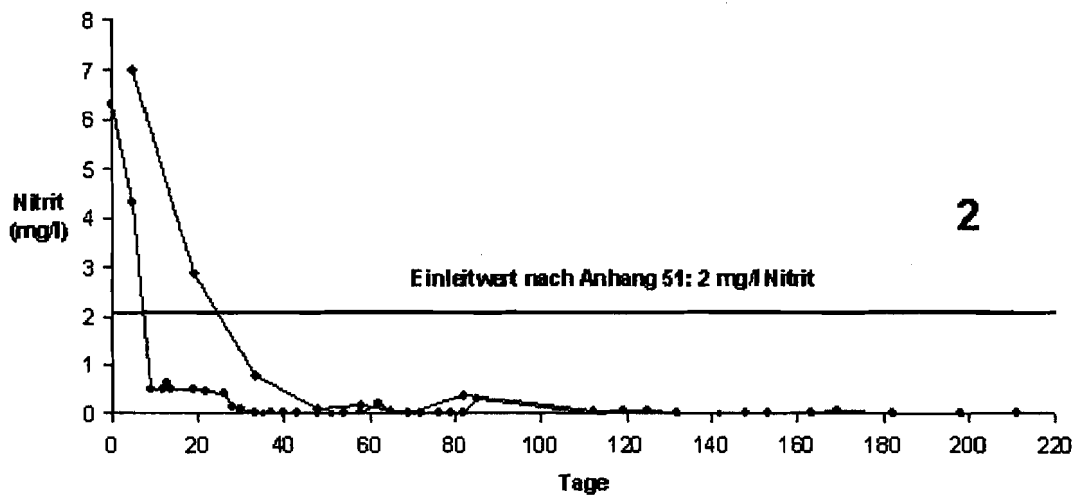
Die neue Verfahrensweise in Biostufe 1 führte zu erheblich besseren Ablaufwerten für Stickstoff und die organischen Verbindungen. Auf den folgenden Seiten sind zunächst die Ablaufkonzentrationen der Einzelparameter Ammonium, Nitrit, Nitrat sowie die Summenparameter Gesamt-Stickstoff und CSB dargestellt. Die neu konditionierte, heterotrophe Biologie des Reaktors 4 konnte die Essigsäure- und Nitrat-Überschüsse aus dem Anfangsstadium der Denitrifikation (Reaktor 3) zunächst nicht kompensieren. Daraus erklären sich die hohen Werte sowohl für die Stickstoffverbindungen als auch für CSB in den ersten 30 Tagen sowohl im Ablauf der Biostufe 1 als auch im Ablauf der Nanofiltration (NF-Permeat). Nach der Adaptionphase des 4. Reaktors von 30 Tagen konnten die in Anhang 51 der Abwasserverordnung definierten Einleitwerte eingehalten werden. Ausnahme bildet lediglich die Gesamtstickstoff-Konzentration zwischen am 163. Tag des Versuchszeitraums. Ursache ist die im vorangegangenen Kapitel beschriebene Populationsverschiebung im Denitrifikationsfestbett, die zeitlich verzögert, von einem Nitratanstieg begleitet war. Nach Schlammabzug wurden die Grenzwerte wieder unterschritten.

Aufgrund der im Vergleich zur Biostufe 1 größeren Dimensionierung der Nanofiltrationsanlage wurde das Ablaufwasser der Biologie jeweils über 10 Tage gesammelt und dann filtriert.

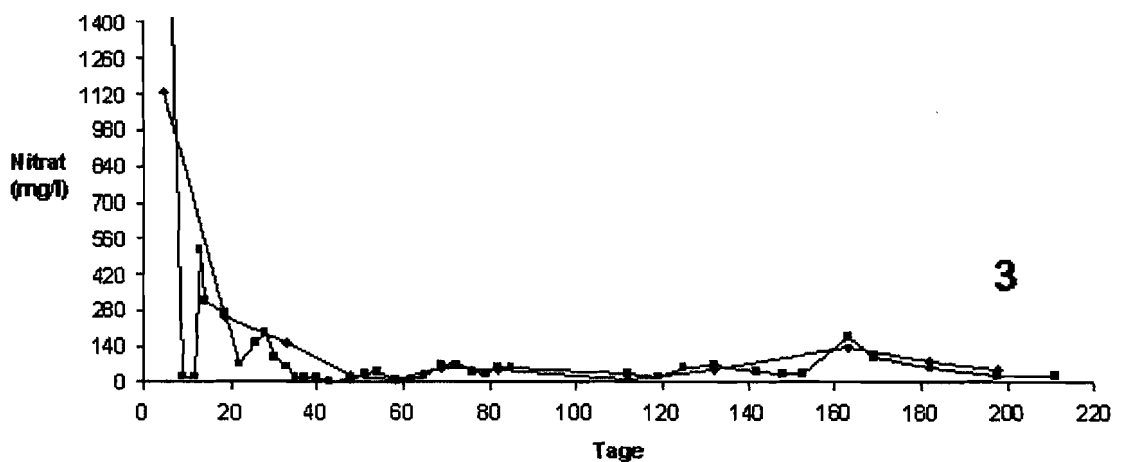
Dies führt zu weniger Messpunkten in den Permeatkurven und in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Probenahme auch zu einer zeitlichen Verschiebung.



◆ Ammonium Reaktor IV Ablauf ■ Ammonium NF-Permeat



◆ Nitrit Reaktor IV Ablauf ◆ Nitrit NF-Permeat



◆ Nitrat Reaktor IV Ablauf ◆ Nitrat NF-Permeat

Abbildung 86: Deponie Schöneiche – Stickstoffverbindungen im Ablauf der Laborkläranlage nach Neukonfiguration der Biostufe 1 (1 Ammonium, 2 Nitrit, 3 Nitrat).

Die Nitratkurven der vorigen Abbildung sind nahezu deckungsgleich mit den Graphen für Gesamt-Stickstoff (siehe unten). Ab dem 165. Tag wurde der Biostufe ein 90%-iger Teilstrom von Rohsickerwasser und ein 10%-iger Teilstrom von in Biostufe 2 behandeltem NF-Konzentrat in die Reinigungsstufe geleitet (siehe unten). Das Konzentrat führt nicht zu einer Erhöhung des CSB im Ablauf dieser Stufe.

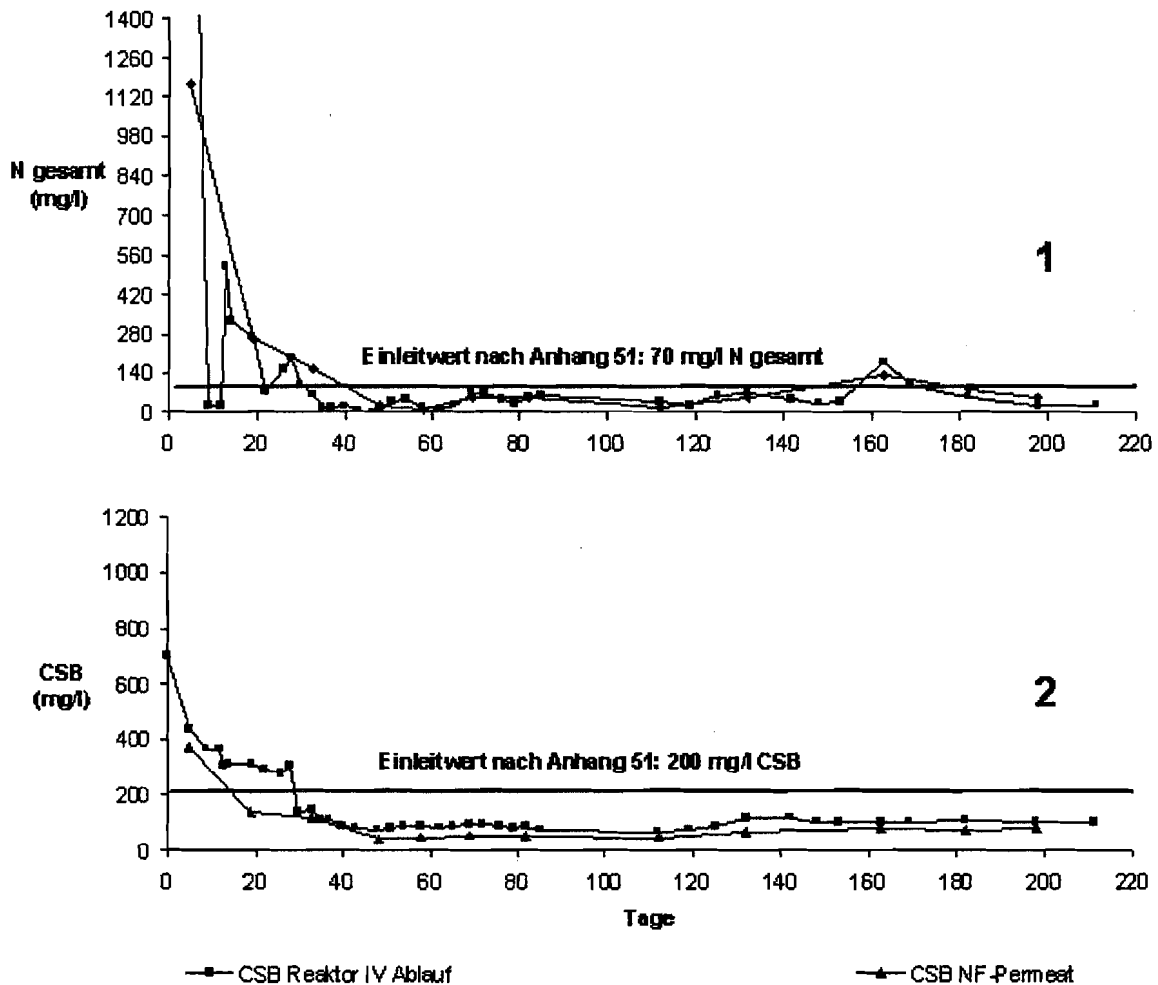


Abbildung 87: Deponie Schöneiche – Summenparameter im Ablauf der Laborkläranlage nach Neu-konfiguration der Biostufe 1 (1 Gesamt-N, 2 CSB).

Die Gesamt-Phosphor-Konzentrationen (siehe nächste Seite) unterschreiten die gesetzlichen Sickerwasseranforderungen. Die Peaks des Biologieablaufs beruhen auf dynamischen Populationsverschiebungen, zumindest in der Adaptionphase des Reaktors 4. Das Phosphat-Maximum um den 70. Tag im NF-Permeat ist wahrscheinlich auf einen Messfehler zurückzuführen, da die vorherigen Phosphat-Konzentrationen im Bio-Ablauf wesentlich niedriger waren.

Durch die aerobe biologische Vorbehandlung sind Sulfidrückstände nicht zu erwarten. Das Ergebnis ist entsprechend.

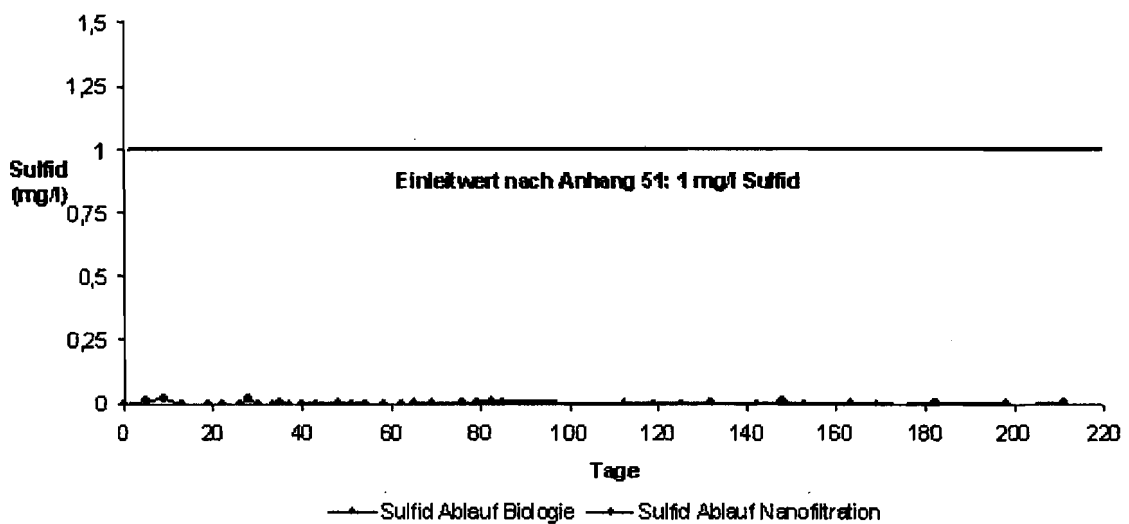
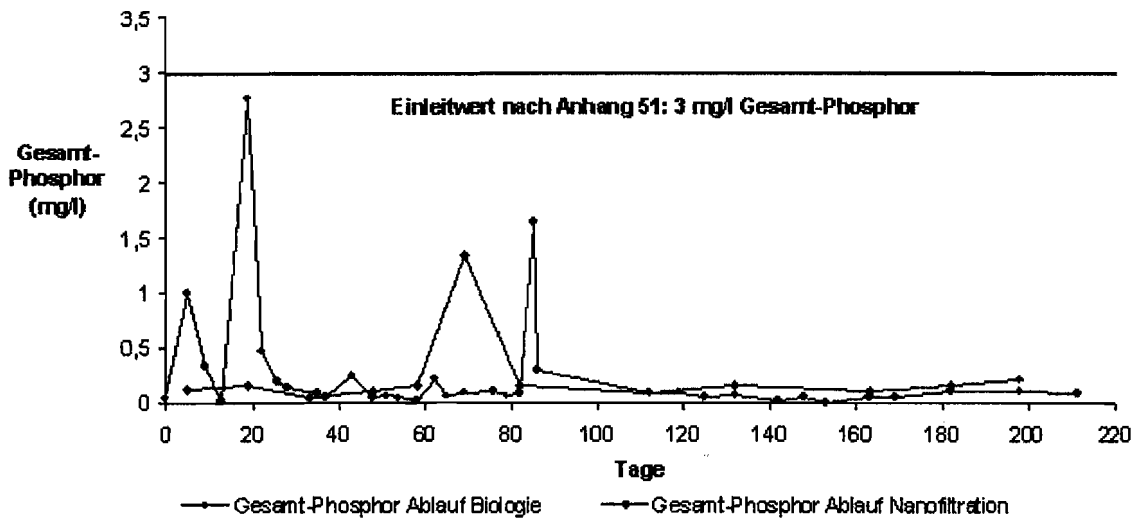


Abbildung 88: Deponie Schöneiche – Gesamt-Phosphor und Sulfid im Ablauf der Laborkläranlage nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

Nur in der Adaptionphase wurde der AOX-Grenzwert im Ablauf des Reaktors 4 einmal überschritten.

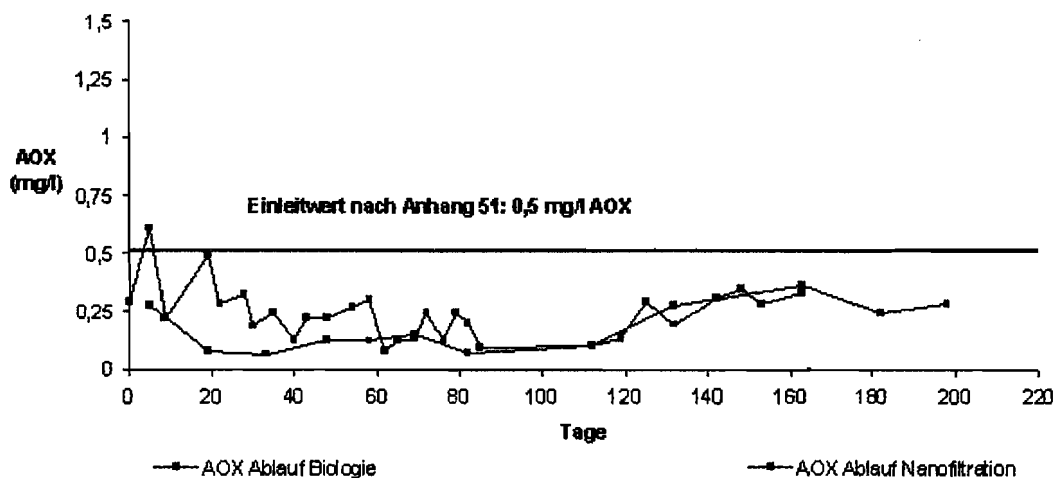


Abbildung 89: Deponie Schöneiche – Summenparameter AOX im Ablauf der Laborkläranlage nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

Die Giftigkeit des behandelten Sickerwassers unterschreitet die gesetzlichen Bestimmungen über den gesamten Versuchszeitraum, wie der Leuchtbakterientest in der folgenden Grafik belegt..

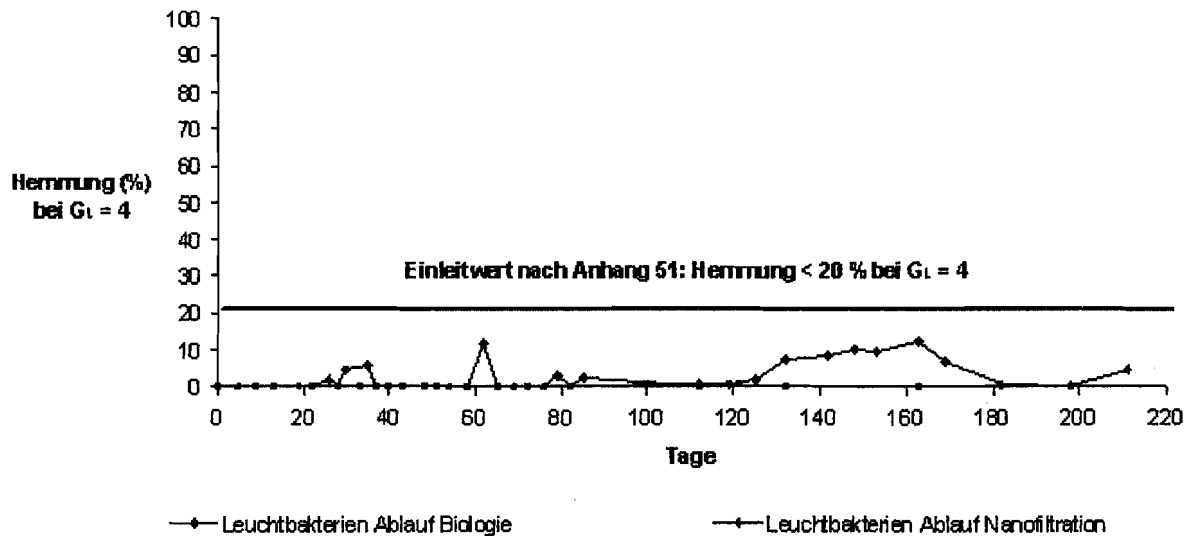


Abbildung 90: Deponie Schöneiche – Leuchtbakterientest mit Ablaufwasser der Laborkläranlage nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

Da die Metallkonzentrationen schon in den vorausgegangenen Versuchsreihen weit unterhalb der Anhang-51-Werte lagen, wurden sie nicht erneut untersucht.

Die Neukonfiguration der Biostufe 1 erlaubte nach der Adaptionsphase eine Reduzierung der organischen Belastung über 80 % und eine Stickstoffelimination von über 90 % (siehe nächste Abbildung).

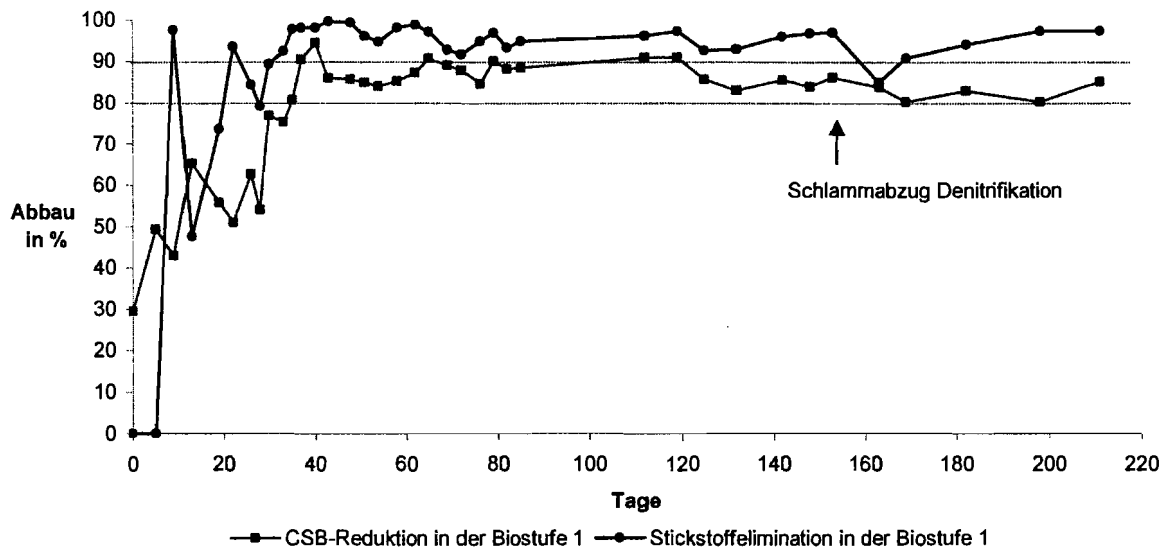


Abbildung 91: Deponie Schöneiche – Degradation von Stickstoff und organischen Inhaltsstoffen im Ablauf der Biostufe 1 nach deren Neukonfiguration.

Durch Nanofiltration wurde die CSB-Belastung um 90 % im Permeat gesenkt. Da die Stickstoffverbindungen permeabel sind, hat die Nanofiltration keinen nennenswerten Effekt auf deren Konzentration (siehe folgende Grafik).

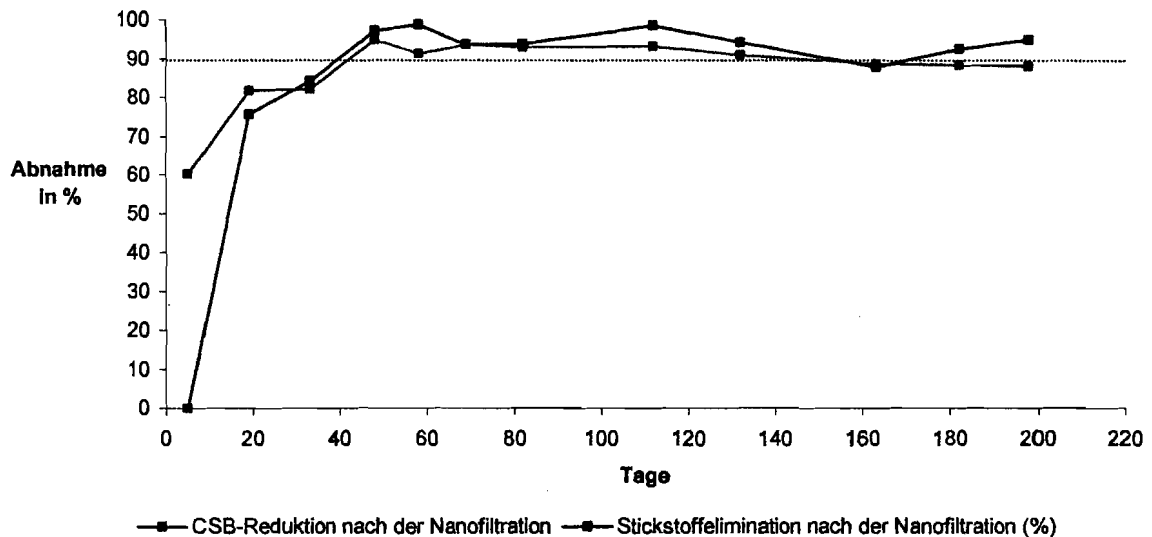


Abbildung 92: Deponie Schöneiche – Degradation von Stickstoff und organischen Inhaltsstoffen im Ablauf der Nanofiltration nach Neukonfiguration der Biostufe 1.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Schöneicher Rohsickerwasser schon mit Biostufe 1 ausreichend geklärt werden kann. Die Kreislaufführung des in Stufe 2 behandelten Konzentrats ab dem 165. Tag führte nicht zu einer Erhöhung der organischen Belastung in Stufe 1.

3.3.5 Isolierung und Charakterisierung von aerob kultivierbaren Mikroorganismen in der Laborkläranlage

Zur groben Klassifizierung der Mikroflora färbte Baumgardt¹⁶⁹ Belebtschlammpräparate aus der Laborkläranlage nach Gram sowie mit Sudanschwarz und Methylenblau. Die Ergebnisse der Färbungen gaben erste Hinweise auf die mikrobielle Zusammensetzung der untersuchten Belebtschlammproben und ermöglichten die Auswahl geeigneter Stoffwechselkits für spätere Isolate:

¹⁶⁹

Baumgardt, J.: Charakterisierung von Bakterien und Pilzen in der biologischen Reinigung von Deponiesickerwasser, Diplomarbeit in diesem Projekt, Freie Universität Berlin, Dezember 2000

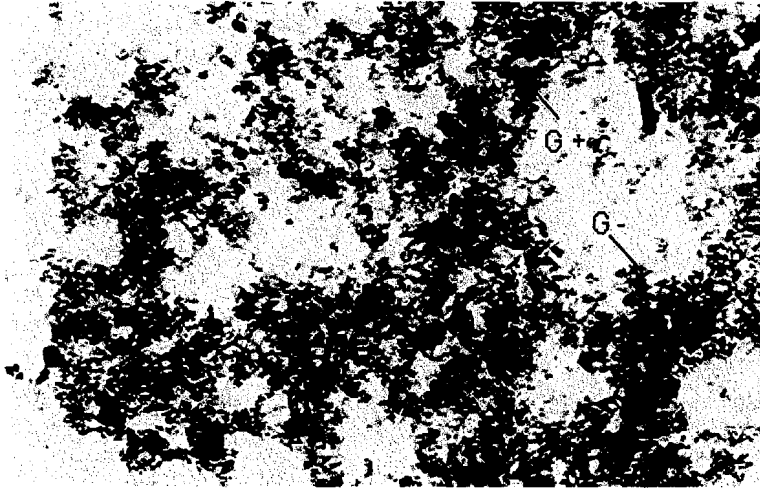


Abbildung 93: Gramfärbung von Belebtschlammflocken aus der Laborkläranlage (Vergrößerung: 400-fach, Hellfeldmikroskopie, Foto: Baumgardt). Gram negative (rot) überwiegen den Anteil Gram positiver Mikroorganismen (blau).

Abbildung 94: Sudanschwarzfärbung von Belebtschlammflocken aus der Laborkläranlage, (Vergrößerung: 400-fach, Hellfeldmikroskopie, Foto: Baumgardt). Sudanschwarz färbt Polyhydroxybuttersäure (PHB) schwarz an. Diese Färbung ermöglicht die Identifizierung von Bakterien, die PHB in Lipidgranula einschließen. Charakteristisch für diese Form der Lipidspeicherung sind Bakterien der Gattungen *Pseudomonas* und *Alcaligenes*.

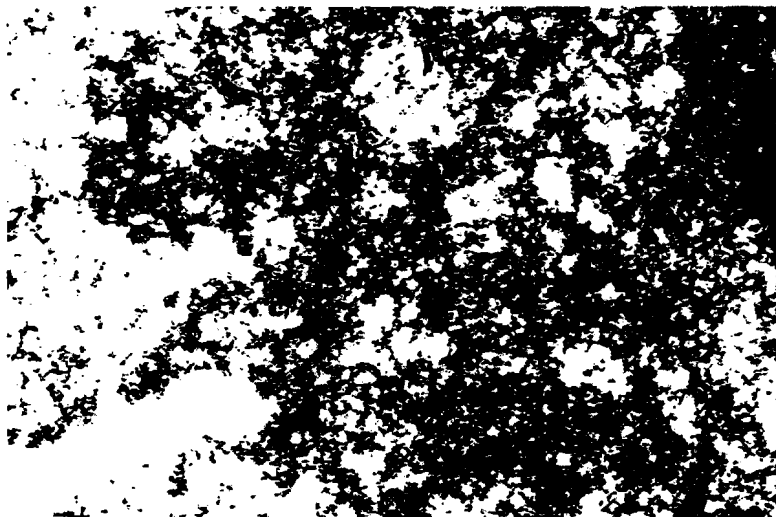
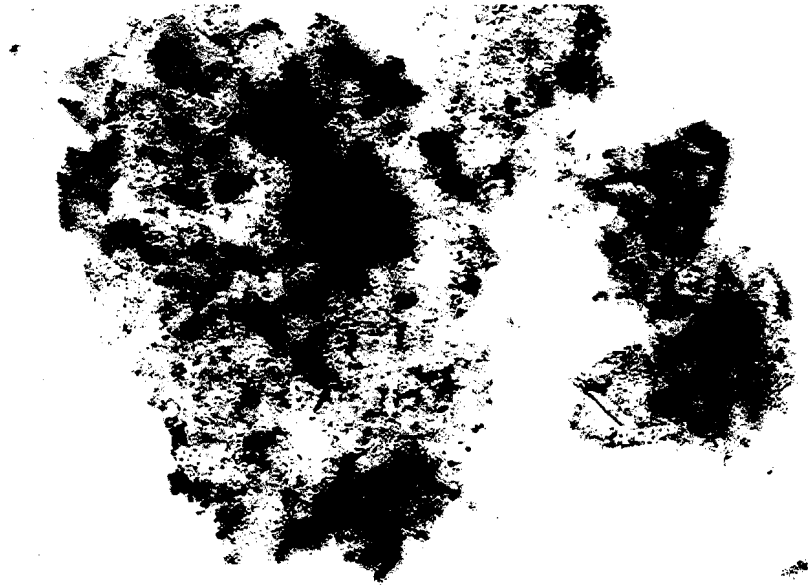


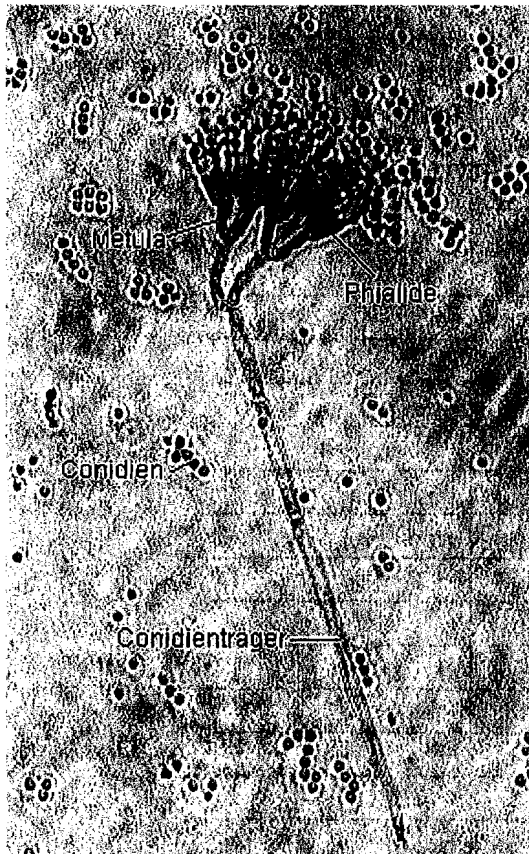
Abbildung 95: Methyleneblaufärbung von Belebtschlammflocken aus der Laborkläranlage, (Vergrößerung: 400-fach, Hellfeldmikroskopie, Foto: Baumgardt). Die angefärbten Polyphosphatgranula (violett) sind charakteristisch für Bakterien der Gram negativen Gattungen *Acinetobacter*, *Klebsiella* und die Familie der *Enterobacteriaceen*.

Baumgardt charakterisierte nur aerob kultivierbare Mikroorganismen aus der Laborkläranlage, da diese hauptsächlich für die Degradation organischer Sickerwasserinhaltsstoffe in Frage kommen. Belebtschlammproben wurden auf Sickerwasserplatten ausgestrichen und die Anzahl der Kolonien ermittelt. Nach mehrmaligem Überimpfen auf Sickerwasserplatten wiesen die aus 28 Kolonien gewonnenen Reinkulturen folgende Eigenschaften auf:

Tabelle 44: Erste Kenndaten der Laborkläranlagenisolate.

Lfd. Nr.	Isolat-Nr.	Zellen/ml	Gram-Färbung	Amino-peptidase-Test
1	3.1	3×10^2	-	-/+
2	4b.1	11×10^3	-	+
3	4c.1	1×10^2	-	+
4	5.1	1×10^3	-(Mycel)	-/+
5	6.1	1×10^4	-	+
6	7a.1	1×10^4	-	+
7	7a.2.w	1×10^4	-	+
8	7a.2.g	1×10^4	-	+
9	10.1	1×10^4	-	-/+
10	12.1.o	1×10^5	-	+
11	12.2	1×10^5	-	+
12	12.3	1×10^5	-/+	+
13	13.1	1×10^5	-	+
14	13.2	1×10^5	-	+
15	18.1	1×10^4	-	+
16	19.1	17×10^4	-	+
17	19.4	17×10^4	-/+	+
18	20.1	2×10^5	-	+
19	20.3	45×10^5	-	+
20	20.4	40×10^5	-	+
21	22.1.g	53×10^5	-/+	+
22	22.1.w	59×10^5	-	+
23	22.1.o	63×10^5	-	-/+
24	22.2	1×10^5	-	+
25	24.1	1×10^2	-(Mycel)	+
26	25.1	240×10^2	-	+
27	28.1	160×10^2	-	-/+
28	28.2	47×10^2	-	+

Die Isolate 5.1 und 24.1 erwiesen sich bei mikroskopischer Betrachtung als Pilze (Mycel). Die Bestimmung beider Pilzgattungen erfolgte aufgrund der charakteristischen Morphologie. *Penicillium* ist durch seine „pinselförmige“ Gestalt und seine hellgelbe Färbung von anderen Gattungen abzugrenzen. Die Conidienträger haben eine Länge von 200 - 300 µm, die ampullenförmigen Phialide hat eine Größe von 7 - 10 µm. Die Metulae sind etwa 8 - 12 µm kurz. Die oftmals perlenschnurartig aufgereihten Conidien haben einen Durchmesser von 2,5 - 4 µm. *Scopulariopsis* wird aufgrund der Ähnlichkeit des Conidienträgers leicht mit *Penicillium* verwechselt. Die Conidien unterscheiden sich jedoch leicht in ihrer ovalen Form von *Penicillium*. *Scopulariopsis* weist keine so ausgeprägte Auffächerung der Phialidae und Metulae auf, und auch die für *Penicillium* typische hellgelbe Pigmentierung wird nicht beobachtet.



Abbildungen 96 und 97: Hellfeldmikroskopie bei 400-facher Vergrößerung der aus der Laborkläranlage isolierten Pilze - *Penicillium* sp. (links) und *Scopulariopsis* sp. (Fotos: Baumgardt)

Lediglich die Kulturen 12.3, 19.4 und 22.1 können trotz mehrfach wiederholter Färbungen nicht eindeutig den Gram-negativen Bakterien zugeordnet werden. Der Aminopeptidase-Test zur Überprüfung der Gram-Färbung ordnet die erwähnten Kulturen eindeutig den Gram negativen Bakterien zu. Die Ergebnisse des Aminopeptidase-Tests für die Kulturen 28.1, 22.1.o, 10.1 und 3.1 lassen keine eindeutige Bewertung zu, während die Mikroskopie die isolierten Stämme als Gram negativ klassifizierte.

Zur Differenzierung der Bakterienstämme wurden mit *API*-Teststreifen von *bioMérieux* parallel 20 bis 50 biochemische Reaktionen durchgeführt werden. Aus den positiven und negativen Reaktionen resultiert ein numerisches Profil. Basierend auf einer Datenbank bekannter Bakterienprofile errechnet die Software **APILAB plus** aus diesem Profil die Wahrscheinlichkeit für eine bestimmte Bakterienart.

Die Kulturen 10.1, 18.1, 20.4 und 28.2 sind nicht mehr in der Kategorie 'akzeptierbare Identifizierung' enthalten. Für diese Kulturen waren die Ergebnisse der mehrfach wiederholten Tests uneinheitlich.

Die Kulturen 10.1 und 22.1.o konnten durch weitere biochemische Tests (z.B. King-Agar B Base) als *Pseudomonas fluorescens* identifiziert werden.

Die Kulturen 18.1, 20.4 und 28.2 wurden durch die Testsysteme zwar nur zu einem geringen Prozentsatz identifiziert: Dieser Prozentsatz und die Arten waren aber bei allen Tests einheitlich. In Übereinstimmung mit der Vorcharakterisierung auf selektiven Nährmedien und Literaturvergleichen wurden die so ermittelten Arten in die Tabelle übernommen.

Tabelle 45: Zusammenfassung der *bioMérieux*-Testergebnisse für die aus der Laborkläranlage isolierten Mikroorganismen.

Lfd. Nr.	Kolonie-Nr.	%ID	T	Art
1	3.1	99,4	0,33	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
2	4b.1	92,9	0,76	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
3	4c.1	85,5	0,72	<i>Pseudomonas sp.</i>
4	5.1	-	-	(Pilz)
5	6.1	88,6	0,83	<i>Pseudomonas sp.</i>
6	7a.1	98,7	1,00	<i>Alcaligenes faecialis</i>
7	7a.2.w	99,4	1,00	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
8	7a.2.g	83,1	0,83	<i>Pseudomonas sp.</i>
9	10.1	42,7	0,98	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
10	12.1.o	83,1	0,90	<i>Pseudomonas sp.</i>
11	12.2	89,2	0,24	<i>Pseudomonas cepacia</i>
12	12.3	98,0	0,41	<i>Klebsiella tertegina</i>
13	13.1	95,5	0,42	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
14	13.2	92,0	0,41	<i>Pseudomonas cepacia</i>
15	18.1	6,5	0,50	<i>Moraxella sp.</i>
16	19.1	99,3	0,65	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
17	19.4	99,4	1,00	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
18	20.1	99,1	0,66	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
19	20.3	93,1	0,3	<i>Aeromonas sp.</i>
20	20.4	21,3	0,74	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
21	22.1.g	85,8	0,83	<i>Pseudomonas sp.</i>
22	22.1.w	96,5	0,38	<i>Pseudomonas sp.</i>
23	22.1.o	42,7	0,98	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
24	22.2	80,2	0,81	<i>Pseudomonas sp.</i>
25	24.1	-	-	(Pilz)
26	25.1	97,9	0,62	<i>Pseudomonas sp.</i>
27	28.1	93,9	0,96	<i>Pseudomonas sp.</i>
28	28.2	31,2	0,94	<i>Acinetobacter sp.</i>

Unter Berücksichtigung der jeweils eingesetzten Verdünnungsstufe konnte auf die Zellzahl der isolierten Kulturen pro ml geschlossen und der prozentuale Anteil bezogen auf die Gesamtpopulation errechnet werden.

Die Population der kultivierbaren Bakterien aus der Laborkläranlage wird durch die Gattung *Pseudomonas* dominiert (80,38 %), gefolgt von der Gattung *Aeromonas* (16,62%). Einen geringen Anteil machen die Gattungen *Sphingomonas* (1,37%), *Klebsiella* (0,37%) und *Ochrobactrum* (0,71%) aus. Außerdem sind die Gattungen *Moraxella* und *Alcaligenes* (je 0,04%), *Acinetobacter* (0,02%) und die isolierten Pilzgattungen (0,01%, hiervon *Penicillium*: 0,0075% und *Scopulariopsis*: 0,0025%) vertreten.

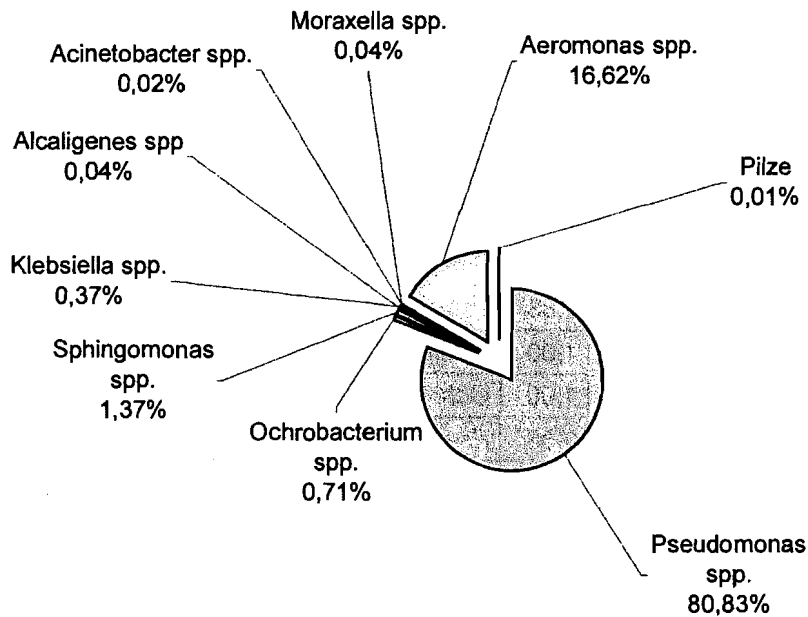


Abbildung 98: Populationsprofil der aus der Laborkläranlage isolierten, aerob kultivierbaren Mikroorganismen.

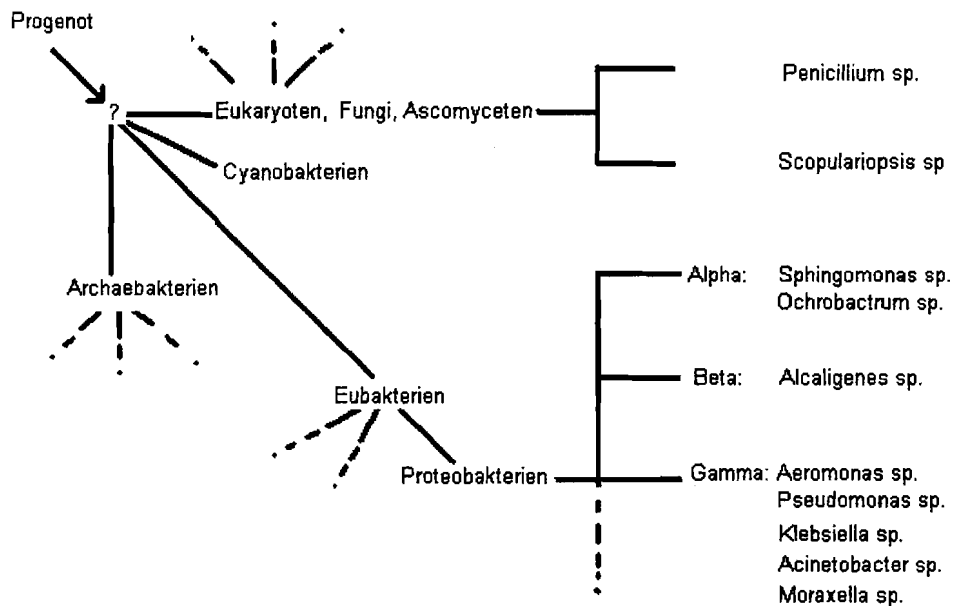


Abbildung 99: Phylogenetische Einordnung der aus der Laborkläranlage isolierten Mikroorganismen.

3.3.6 Biostufe 2 (Bakterieller Abbau)

In keinen der drei bakteriell besiedelten Reaktortypen, die als zweite Reinigungsstufe getestet wurden, konnte eine entscheidende Degradation des Konzentrats aus der Nanofiltration beobachtet werden. Der Rest-CSB wird bakteriell nur noch um bestenfalls 20 % reduziert. Stellvertretend werden hier nur die CSB-Werte des Rührreaktors gezeigt (siehe nächste Abbildung).

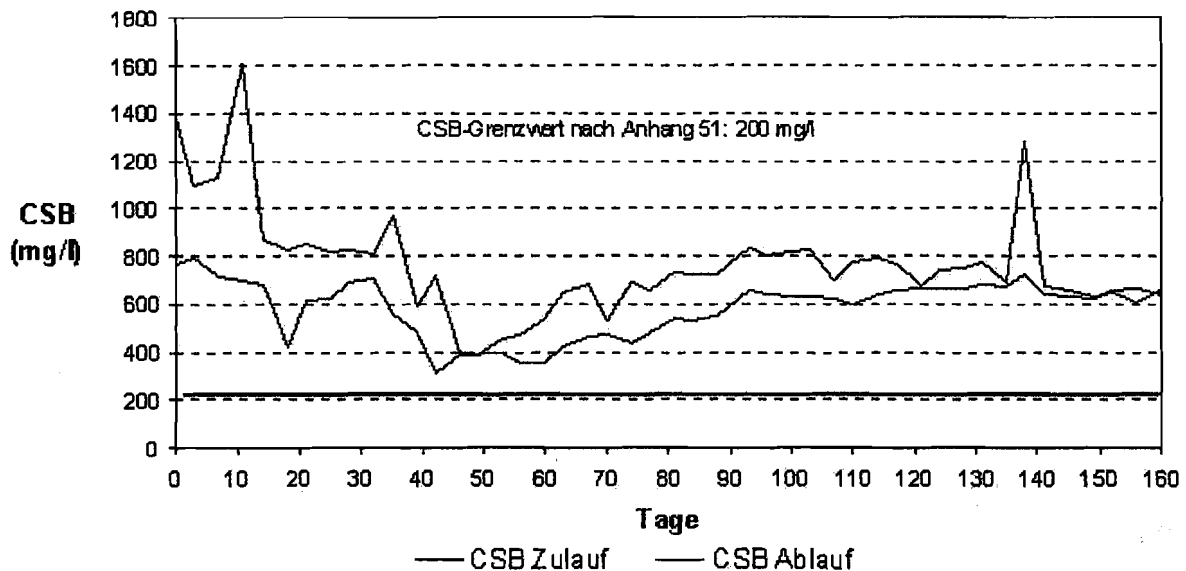


Abbildung 100: Deponie Schöneiche - Biostufe 2: CSB-Werte im Rührreaktor mit integrierten Immobilisierungskörpern und Mikrofiltration

Den Hauptanteil der refraktären Stoffe bilden Huminstoffe, wie im folgenden Kapitel noch weiter erläutert wird. Die maximale Permeabilität einer Bakterienzelle für die unspezifische Aufnahme von Makromolekülen liegt bei einer Molekülmasse von 600. Die kleinsten Huminstoffe, wasserlösliche Fulvosäuren, haben eine Molekülmasse von 800 bis 9000. Für eine biologische Degradation müssen daher andere Strategien verfolgt werden. Hier bietet sich das extrazelluläre Enzymsystem der Weiß- und Braunfäulepilze an.

3.4 Eigenfärbung des behandelten Deponiesickerwassers

Als Ursache für die Färbung des behandelten Deponiesickerwassers kommen zu einem geringen Anteil niedermolekulare organische Verbindungen und zu einem überwiegenden Anteil Huminstoffe in Betracht.

Die sehr niedrigen AOX-Werte im Ablauf der Biostufe 1 belegen, dass der refraktäre Anteil (Rest-CSB) des Schöneicher Sickerwassers nur in geringem Maße auf chlorierte Xenobiotika zurückzuführen ist. Ein weiteres Indiz, dass Huminstoffe die Verursacher der Eigenfärbung sind, ist die schwache Toxizität des in der Biostufe 1 behandelten Sickerwassers. Bei einer Verdünnungsstufe von 1 : 4 wurden Leuchtbakterien um durchschnittlich 12,1 % und Protozoen um 15,1 % in den entsprechenden Biotests gehemmt. Die geringe Giftigkeit wird durch das Wachstum von Algen in einer NF-Konzentrat-Probe untermauert, die mehrere Monate in einer Demonstrationsflasche aus Weißglas an einem hellen Standort gelagert wurde. Außerdem konnte die Aktivierung der Atmungskette durch Schöneicher Sickerwasser in einem Biotest mit aus Rinderherzen isolierten Mitochondrien gezeigt werden.¹⁷⁰ Laut der ungarischen Huminite Ltd.¹⁷¹ fungieren Hydrochinon-Strukturen innerhalb der komplexen Huminstoffe als Substrat in der Elektronentransportkette. Huminstoffe können zudem die Toxizität eines Abwassers durch den Einbau von Fremdstoffen (Xenobiotika) senken.

¹⁷⁰ Achazi: Fortgeschrittenenpraktikum Ökotoxikologie, SS 2001, FU Berlin

¹⁷¹ Huminite Producing and Service Ltd.: www.huminite.hu (Stand: 11.07.2001), Budapest

Die unterschiedlich starke Färbung des Permeats und des Retentats in der Nanofiltrationsstufe der Laborkläranlage lässt vermuten, dass bei einer Trenngrenze von ~350 Dalton sowohl niedermolekulare Komplexe als auch Huminstoff-Komplexe im behandelten Depo- niesickerwasser enthalten sind. Die kleinen Moleküle können die Membran passieren, wäh- rend die Huminstoffe zu 99 % zurückgehalten werden.

Aufgrund seiner Simulationsexperimente von AbfalldPONen in Bioreaktoren bestätigt Henneke¹⁷²: „In unseren Versuchen haben wir sehr stark gefärbtes Sickerwasser erhalten (gelb bis schwarzbraun). Bei einer DOC-Fraktionierung mittels Ultrafiltration (Ausschluss- grenzen 1000, 10000, 100000 MWCO¹⁷³) konnte man feststellen, dass lediglich 30 % des vorhandenen DOC in die Fraktion < 1000 molekulare Masseinheiten fiel. Zudem wurde das Filtrat immer heller. Das deutet darauf hin, dass die gelösten Huminstoffe selbst für die in- tensive Färbung verantwortlich sind.“



Abbildung 101: Eigenfärbung des Deponiesickerwassers aus Schöneiche. Von links nach rechts: Umkehrosmose-Konzentrat, Rohsickerwasser, Ablauf der ersten Biostufe, NF-Konzentrat und NF-Permeat. Die Schwärzung des Umkehrosmose-Konzentrats und Rohsickerwassers ist auf Metallsulfide zurückzuführen, die aufgrund der Bildung von Schwefelwasserstoff durch sulfatreduzierende Bak- terien entstehen. Die Gelbfärbung des Sickerwassers wird hauptsächlich durch Fulvosäuren und zu einem geringeren Teil durch niedermolekulare Stoffe verursacht.

¹⁷² Henneke, D.: persönliche Mitteilung, Fraunhofer-Gesellschaft für Umweltchemie und Ökotoxi- kologie, Schmalleberg Juni 2000

¹⁷³ MWCO (= moleculare weight cut off): Trennschärfe bei Membranverfahren anhand des Mole- kulargewichts einer Substanz



Abbildung 102: Eigenfärbung des schwach belasteten Deponiesickerwassers aus Vorketzin. Von links nach rechts: Rohsickerwasser, Ablauf der Biostufe, NF-Konzentrat und NF-Permeat.

Harms et al.¹⁷⁴ wiesen nach, dass zwei Drittel des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) im Sickerwasser dreier niedersächsischer Hausmülldeponien Huminstoffe waren. Durch Nassoxidation und biologische Nachbehandlung lassen sich die Humin- und Fulvosäuren in kleinere Moleküle spalten und zu 90 % bzw. 80 % bakteriell degradieren.

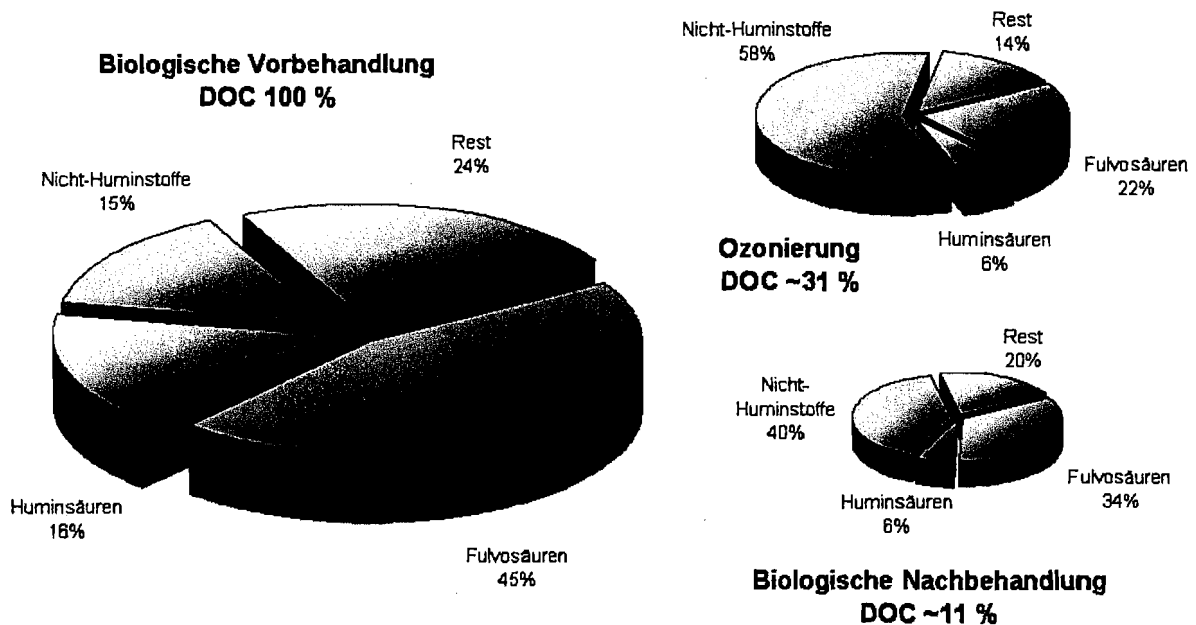


Abbildung 103: Sickerwasserfraktionen von 3 niedersächsischen Hausmülldeponien nach biologischer Vorbehandlung, Nassoxidation und biologischer Nachbehandlung (geändert nach Harms et al.). Die Nicht-Huminstoffe (kleinere organische Verbindungen) können die zur Auftrennung verwendeten XAD-2-Säulen passieren. Humin- und Fulvosäuren adsorbieren in den Säulen und können wieder eluiert werden. Unter Rest verstehen Harms et al die Fraktion, die nicht von den XAD-2-Säulen desorbiert wurde und die Differenz des DOC zum C-Gehalt der übrigen Einzelfractionen bildet. Darunter fallen Huminstoffe mit höherem Molekulargewicht.

¹⁷⁴

Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

3.4.1 Huminstoffe

Huminstoffe sind u. a. Abbauprodukte des Lignins und können mit ihren funktionellen Gruppen über Metallionen an Tonmineralien assoziieren. Gegenüber kovalenten Bindungen können Ionenbindungen relativ leicht getrennt werden, so dass die Huminstoffe aus dem Deponekörper herausgewaschen werden können. Die folgende Tabelle zeigt die unterschiedlichen Fraktionen der Huminstoffe.

Tabelle 46: Huminstoff-Fraktionen (geändert, nach Scheffer, Schachtschabel¹⁷⁵)

Fraktion	Farbe	Löslichkeit			Molekulargewicht	Molekülbausteine
		Wasser	Säure	Lauge		
Fulvosäuren	gelb - gelbbraun	von oben abnehmend	ja	ja	800 -9000	Polysaccharide nach unten abnehmend, Aromaten zunehmend
Hymatomelansäuren	braun		nein	ja	} steigend bis 50000	
Braunhuminsäuren	tiefbraun		nein	ja		
Grauhuminsäuren	grauschwarz		nein	ja		
Humine	schwarz		nein	nein	verschieden	

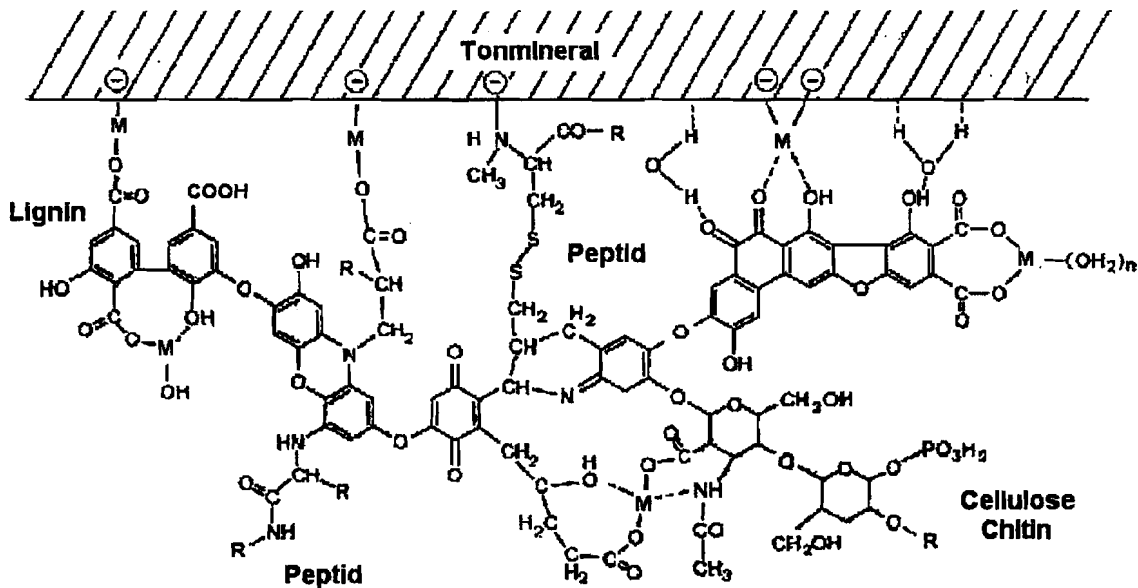


Abbildung 104: Vereinfachtes Modell einer Huminsäure-Tonmineral-Komplexes (aus Scheffer, Schachtschabel¹⁷⁶).

Die Verwitterung und Auflösung von Mineralien und Sedimenten beruht auf der Fähigkeit von wasserlöslichen Fulvosäuren, Metallionen durch Komplexbildung herauszulösen.¹⁷⁷ Die folgende Abbildung zeigt die verschiedenen, für die Komplexbildung verantwortlichen funktionellen Gruppen der Huminstoffe:

¹⁷⁵ Scheffer, Schachtschabel, P.: Lehrbuch der Bodenkunde, 12. Auflage, S.58, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1989

¹⁷⁶ ebenda, S.57

¹⁷⁷ Haider, K.: Biochemie des Bodens, S. 55 f., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

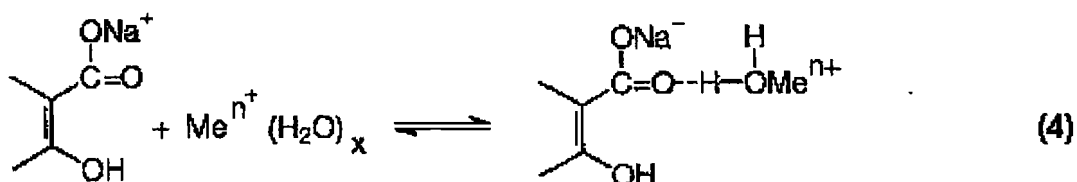
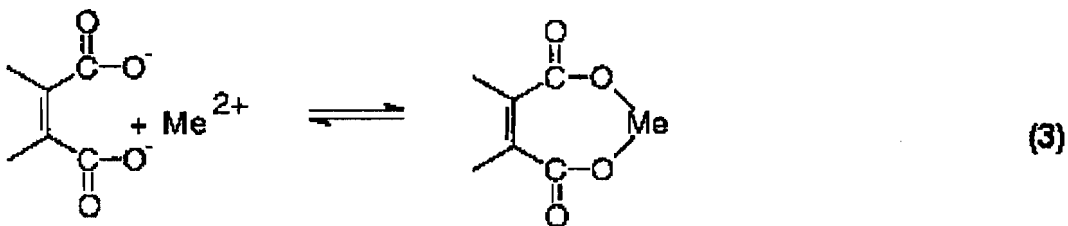
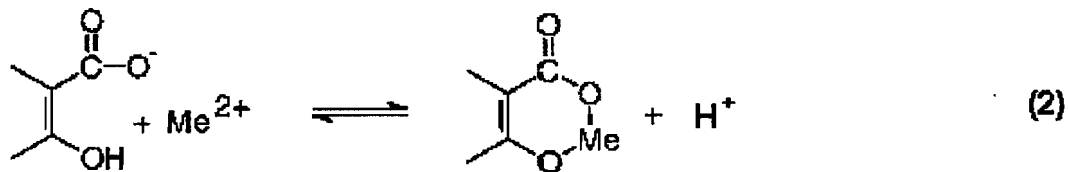
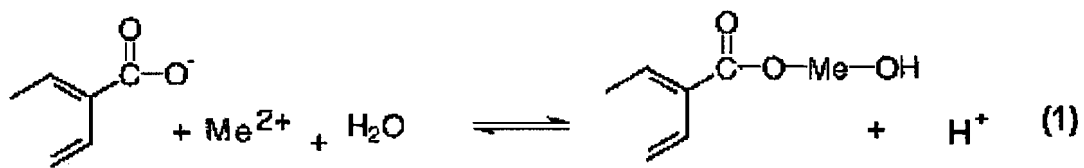


Abbildung 105: Bildung von Metallkomplexen aus funktionellen Gruppen von Huminstoffen mit Metallionen (aus Haider¹⁷⁸ nach Schnitzer¹⁷⁹ und Senesi¹⁸⁰). (1) Organische Salze mit Carboxyl-Gruppen und Metallionen. (2 und 3) Stabile innere Komplexe durch benachbarte Carboxyl- und/oder OH-Gruppen (scherenförmige Chelat-Komplexe). (4) Schwächere Komplexe über Nebervalenzbindungen.

3.4.2 Niedermolekulare Verbindungen

Niedermolekulare Stoffe werden beim Abbau von Vegetationsresten und organischem Abfall freigesetzt¹⁸¹ und umfassen einfache Carbonsäuren, Hydroxycarbonsäuren, aromatische Hydroxycarbonsäuren, Ketosäuren, Aldehyde, (Poly)phenole, Hydroxamate und Aminosäuren. Alle genannten Verbindungen neigen zur Komplexbildung. In Böden spielen die von Mikroorganismen (und Pflanzen) ausgeschiedenen Hydroxamate eine wichtige Rolle bei der Mobilisierung schwerlöslicher Metallionen aus Mineralien. Die Organismen versorgen sich mit Hilfe der komplexierenden Eigenschaften der Hydroxamate bei Eisen- und Manganmangel.¹⁸² Während einer biologischen Behandlung kann die Komplexbildung von Metallen

¹⁷⁸ Haider, K.: Biochemie des Bodens, S. 56, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

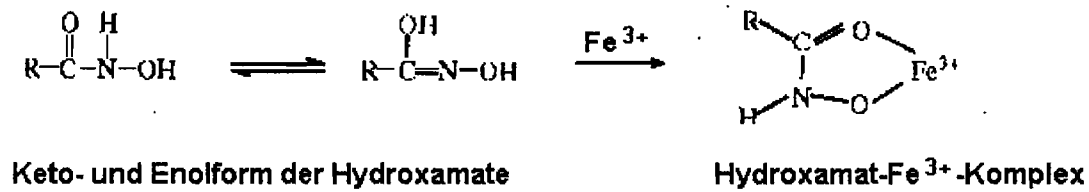
¹⁷⁹ Schnitzer, M.: Bedeutung der organischen Bodensubstanz für die Bodenbildung, Transportprozesse in Böden und die Bodenstruktur, Ber. Landwirtschaft 206 (Sonderheft), S. 63 – 81, 1992

¹⁸⁰ Senesi, Spectroscopic studies of metal ion-humic substance complexation in soil, Transact, 15th World Congress of Soil Science, Acapulco, Mexico, Vol.3a, S. 384 – 402, 1994

¹⁸¹ Scheffer, Schachtschabel, P.: Lehrbuch der Bodenkunde, 12. Auflage, S.60, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1989

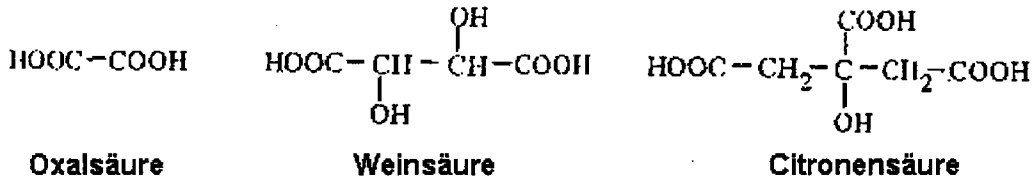
¹⁸² Haider, K.: Biochemie des Bodens, S. 67, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

und Organika durch Bakterien, z.B. *Pseudomonas fluorescens*, sogar verstärkt werden. Harms et al.¹⁸³ detektierten 256 Einzelverbindungen im Sickerwasser, darunter hauptsächlich Carbonsäuren mit einem Anteil unter 1 % des Gesamt-DOC.

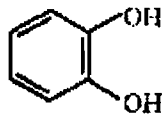


Keto- und Enolform der Hydroxamate

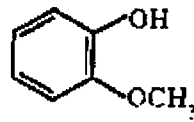
Hydroxamat-Fe³⁺-Komplex



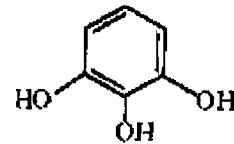
Hydrochinon



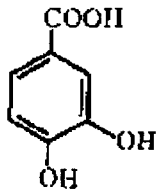
Brenzkatechin



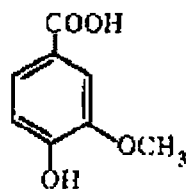
Guajakol



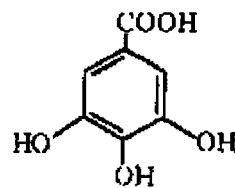
Pyrogallol



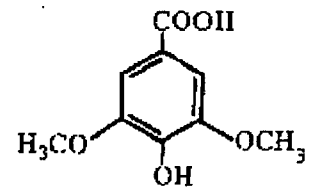
Protocatechusäure



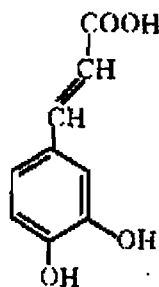
Vanillinsäure



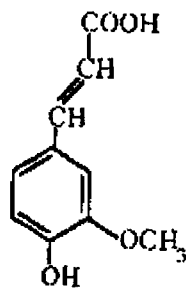
Gallussäure



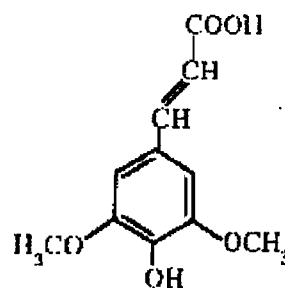
Syringasäure



Kaffesäure



Ferulasäure



Sinapinsäure

Abbildung 106: Schematische Struktur von Hydroxamaten und ihre Funktion bei der Komplexbildung von Fe³⁺ oder anderen Metallionen. Strukturen verschiedener organischer Säuren und Phenole aus Böden mit komplexierenden Eigenschaften.¹⁸⁴

¹⁸³ Harms, M., Lorenz, W., Bahadir, M.: Analytische Untersuchungen zur nassoxidativen Sickerwasserreinigung, KA 05/1999, auf CD-ROM: Korrespondenz Abwasser 1995 – 2000, GFA – Gesellschaft zur Förderung der Abwassertechnik, Hennef 2001

¹⁸⁴ Haider, K.: Biochemie des Bodens, S. 68, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1996

3.4.3 Absorptionsspektren des Deponiesickerwassers nach der Behandlung in Biostufe 1

Die Absorptionsspektren des biologisch behandelten Deponiesickerwassers zeigen ein Maximum bei einer Wellenlänge von 250 bis 350 nm. VE-Wasser verursacht ein kleineres Maximum im Infrarot-Bereich, das bei den Sickerwasserspektren ebenfalls zu messen ist. Im unteren Wellenspektrum absorbieren u. a. organische Verbindungen mit aromatischen und aliphatischen Strukturen. Die für die Absorption zwischen 250 und 500 nm verantwortlichen Sickerwasserinhaltsstoffe werden durch die Nanofiltration mit einer Trenngröße von 350 Dalton teilweise aufkonzentriert. Im sichtbaren Bereich wird trotz Gelb- bis Gelborangefärbung des Sickerwassers das Licht nur minimal absorbiert. Ursache für die Verfärbung des Sickerwassers ist die Absorption von komplementärem blauen, violetten und ultravioletten Licht (< 550 nm).

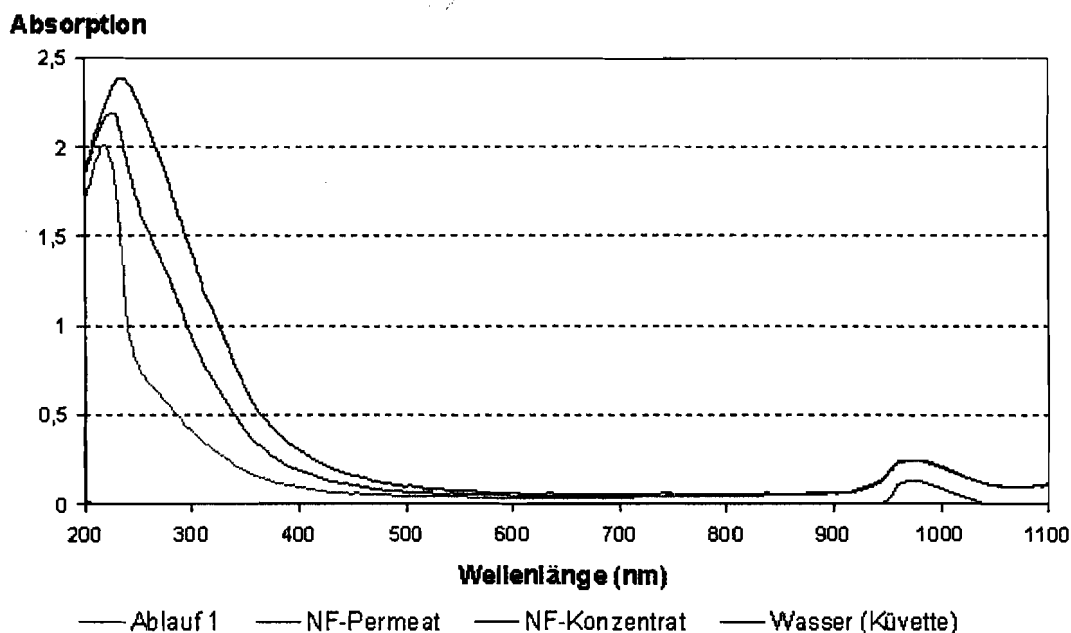


Abbildung 107: Absorptionsspektren von Deponiesickerwasser aus Schöneiche nach der Behandlung in der ersten Biostufe. Alle Sickerwasserproben wurden 1 : 3 verdünnt. Der Infrarot-Peak zwischen 950 und 1050 nm wird durch VE-Wasser verursacht.

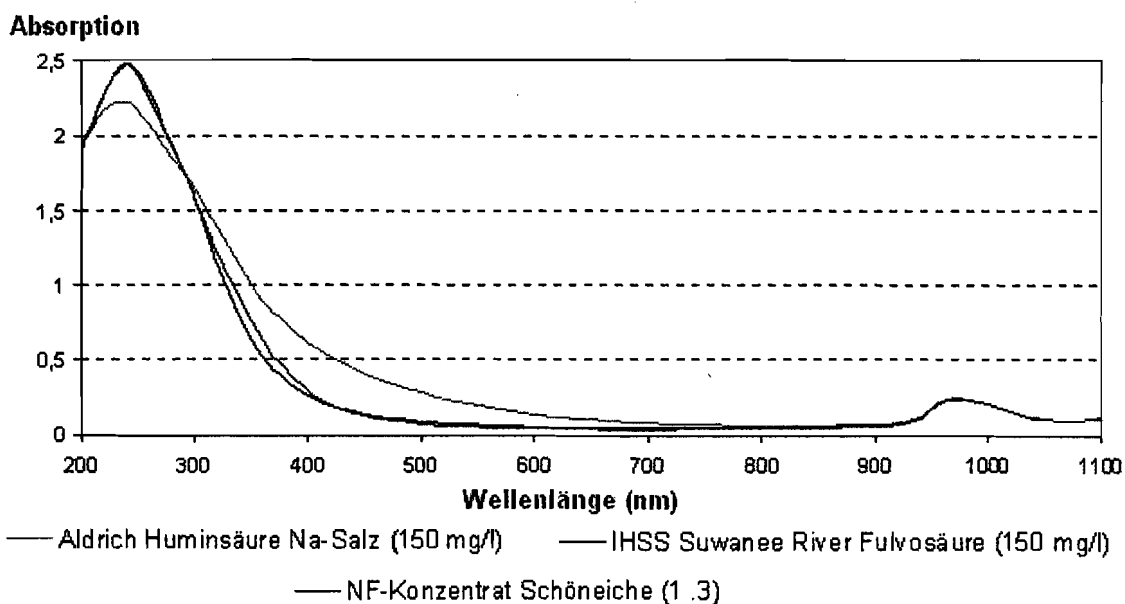


Abbildung 108: Vergleich von biologisch vorbehandeltem NF-Konzentrat der Deponie Schöneiche mit Referenzlösungen von Aldrich H1.675-2 Huminsäure-Natriumsalz und IHSS 1R101F Fulvosäure.

Humine und nicht dissoziierte Huminsäuren scheiden aufgrund ihrer andersartigen Färbung und schlechten Löslichkeit in Wasser als Verursacher der Verfärbung des Sickerwassers aus. Wasserlösliche Huminsäuresalze zeigen ähnliche Absorptionsspektren wie das NF-Konzentrat, sind aber braun gefärbt. Wasserlösliche Fulvosäuren zeigen eine mit dem Sickerwasser übereinstimmende Färbung und ein beinahe deckungsgleiches Wellenlängenspektrum. Als Referenz wurde die Färbung und Absorption von *Suwanee River Fulvosäure (IHSS 1R101F)* und wasserlöslichem Humussäure-Natriumsalz (*Aldrich H1.675-2*) mit dem NF-Konzentrat (1 : 3 verdünnt) verglichen.



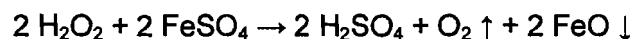
Abbildung 109: Farbvergleich eines Humussäure-Natriumsalzes (*Aldrich H1.675-2*, 150 mg/l) und einer Fulvosäure (*Suwanee River IHSS 1R101F*, 150 mg/l) mit dem NF-Konzentrat des biologisch vorbehandelten Sickerwassers aus Schöneiche (1 : 3 verdünnt).

3.5 Chemische Degradation des NF-Konzentrats mit Fentons Reagenz

Nach Knackmuss¹⁸⁵ kann mit der chemischen Spaltung des NF-Konzentrats durch Fentons Reagenz prinzipiell gezeigt werden, ob ein biologischer Abbau durch Pilze möglich ist, weil diese Reaktion analog zu den Umsetzungen der H₂O₂-abhängigen Fe²⁺-Biokatalysatoren der Weiß- und Braunfäulepilze verläuft.

Das NF-Konzentrat wurde mit verschiedenen Konzentrationen von Fentons Reagenz versetzt (F-Ansätze: F 1 – F 4, siehe Tabelle nächste Seite). Zur Kontrolle wurden parallel V-Ansätze (NF-Konzentrat + VE-Wasser) und R-Ansätze (Reagenzien + VE-Wasser) mit analogen Konzentrationsverhältnissen ausgewertet. Durch die Zugabe der Fenton-Reagenzien wird das NF-Konzentrat in den Fenton-Ansätzen verdünnt. Die verdünnungsbedingte Abnahme des Konzentratanteils wurde in den V-Ansätzen (V 1 – V 4) gemessen. In den R-Ansätzen (R 1 – R 4) wurde der Effekt der Fenton-Reagenzien auf die Analyseparameter untersucht.

Höhere Konzentrationen der Fenton-Reagenzien führten neben einem Absinken des pH auf 2,5 zu rotorangefarbenen Ausfällungen und zur Gasbildung. Eine mögliche Gleichung für die neben der Fenton-Reaktion ablaufenden chemischen Umsetzung könnte lauten:



Durch die Reaktion zwischen dem NF-Konzentrat und den Fenton-Reagenzien setzt die Nebenreaktion in den F-Ansätzen erst bei höheren Konzentrationen ein, als dies in den R-Ansätzen ohne Konzentrat der Fall ist (siehe Abbildung nächste Seite).

¹⁸⁵ Knackmuss, H. J.: Vorschlag in der Beiratssitzung zu diesem Projekt am 4.9.00, Fraunhofer-Gesellschaft für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik Stuttgart

Tabelle 47: Ansätze zum Test von Fentons Reagenz auf das NF-Konzentrat

	10 mM FeSO ₄ x 7 H ₂ O		30 % H ₂ O ₂		VE- Wasser	NF-Konzentrat	CSB	TOC	Färbung	Niederschlag
V 0	-	-	-	-	-	10.000 µl	432 mg/l	178 mg/l	gelblich	-
F 1	50 µM	50 µl	0,1 %	34 µl	-	9.916 µl	842 mg/l	94,6 mg/l	farblos	-
R 1	50 µM	50 µl	0,1 %	34 µl	9.916 µl	-	512 mg/l	< 5 mg/l	farblos	-
V 1	-	-	-	-	84 µl	9.916 µl	418 mg/l	166 mg/l	gelblich	-
F 2	100 µM	100 µl	0,2 %	67 µl	-	9.833 µl	1.456 mg/l	88,2 mg/l	farblos	-
R 2	100 µM	100 µl	0,2 %	67 µl	9.833 µl	-	1.040 mg/l	< 5 mg/l	farblos	rotorange minimal
V 2	-	-	-	-	167 µl	9.833 µl	403 mg/l	157 mg/l	gelblich	-
F 3	500 µM	500 µl	1 %	334 µl	-	9.166 µl	5.380 mg/l	57,4 mg/l	farblos	-
R 3	500 µM	500 µl	1 %	334 µl	9.166 µl	-	5.110 mg/l	< 5 mg/l	farblos	rotorange stark
V 3	-	-	-	-	834 µl	9.166 µl	374 mg/l	145 mg/l	gelblich	-
F 4	1 mM	1.000 µl	2 %	667 µl	-	8.333 µl	22.480 mg/l	43 mg/l	farblos	rotorange gering
R 4	1 mM	1.000 µl	2 %	667 µl	8.333 µl	-	20.700 mg/l	< 5 mg/l	farblos	rotorange sehr stark
V 4	-	-	-	-	1.667 µl	8.333 µl	343 mg/l	133 mg/l	schwächer gelblich	-

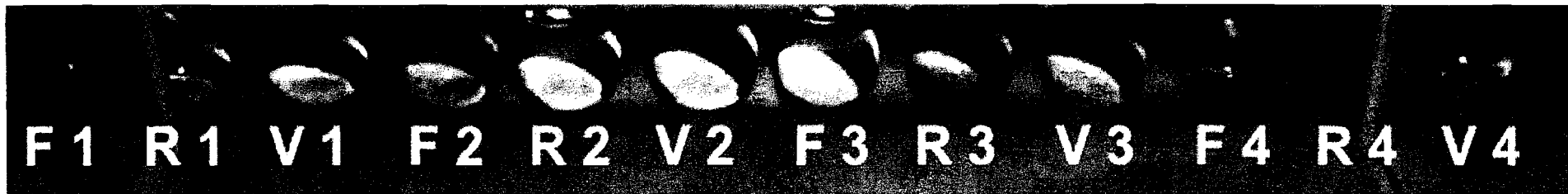


Abbildung 110: F 1 – F 4: Fenton-Reaktion (Entfärbung des NF-Konzentrats durch Wasserstoffperoxid und Eisen(II)sulfat), R 1 – R 4: Reagenzienansätze (NF-Konzentrat durch VE-Wasser ersetzt), V 1 – V 4: verdünntes NF-Konzentrat (Reagenzienanteil durch VE-Wasser ersetzt, Bezugspunkt zur Auswertung der F-Ansätze). In den Ansätzen F 4, R 2, R 3 und R 4 kommt es zu Ausfällungen durch eine Nebenreaktion der überschüssigen Fenton-Reagenzien (Foto: Arens 2003).

Obwohl das NF-Konzentrat in den F-Ansätzen komplett entfärbt wird, steigt der CSB-Gehalt nach der Fenton-Reaktion außergewöhnlich stark an. Eine Überprüfung der R-Ansätze identifizierte die Fenton-Reagenzien als Ursache für den drastischen CSB-Anstieg. In der Bedienungsanleitung von *Dr. Lange* fehlt im Gegensatz zur DIN 38409 H41¹⁸⁶ ein entsprechender Hinweis. Dieser wurde leider erst im nachhinein wahrgenommen. Unter den Punkten 5.2 und 6.2 dieser Norm ist dargelegt, dass Wasserstoffperoxid unter den Reaktionsbedingungen des CSB-Aufschlusses erfasst wird. Bei 148°C wird das üblicherweise als Oxidationsmittel eingesetzte H₂O₂ durch die schwefelsaure Kaliumdichromat-Lösung selbst oxidiert. Der an die Norm angelehnte CSB-Küvettentest ist daher für den Nachweis einer Spaltung des NF-Konzentrats nicht geeignet.

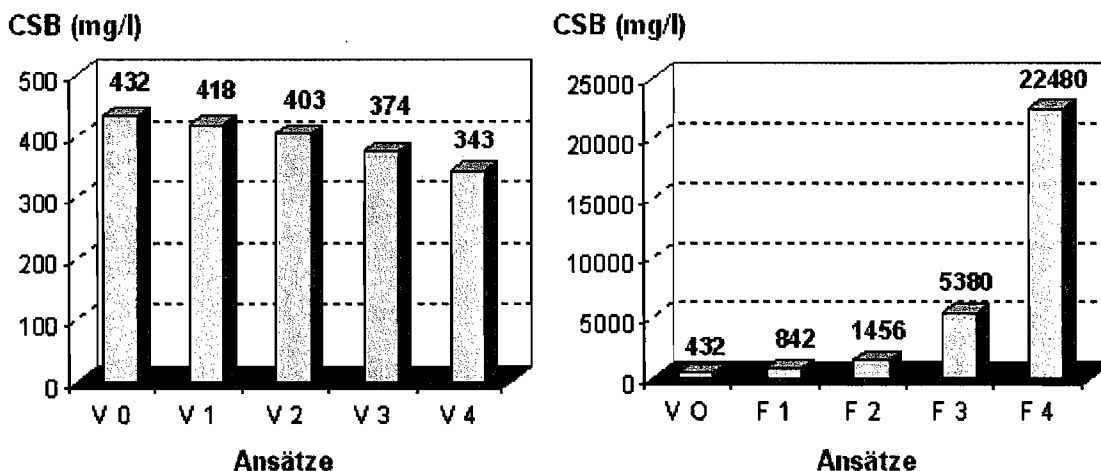


Abbildung 111: A. CSB-Verdünnungseffekt durch den Reagenzienvolumenanteil, gemessen in den V-Ansätzen - B. Zunahme des CSB in den Fenton-Ansätzen (F 1 – F 4, V 0 = NF-Konzentrat).

Die Spaltbarkeit des NF-Konzentrats durch Fentons Reagenz wurde aus dem oben genannten Grund mit der TOC-Austreibmethode gemessen. Der Einfluss von Fentons Reagenz auf den TOC-Aufschluss mittels Natriumperoxodisulfat kann vernachlässigt werden. In den R-Ansätzen lagen die „TOC-Werte“ unterhalb des Messbereichs (ca. 3 mg/l).

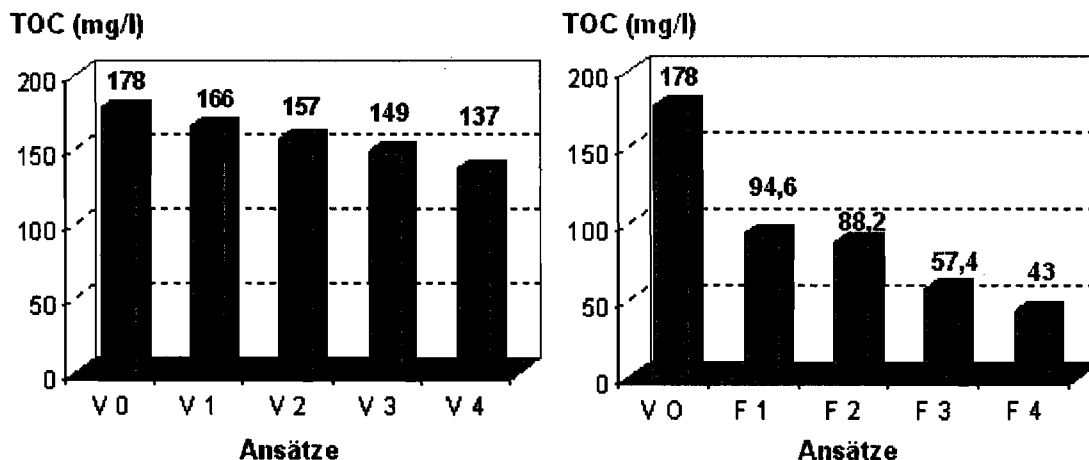


Abbildung 112: A. TOC-Verdünnungseffekt durch den Reagenzienvolumenanteil, gemessen in den V-Ansätzen - B. Abnahme des TOC durch Aufspaltung des NF-Konzentrats in den Fenton-Ansätzen (F 1 – F 4, V 0 = NF-Konzentrat).

¹⁸⁶

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im Deutschen Institut für Normung e. V.: Summarische Wirkungs- und Stoffgrößen (Gruppe H) – Bestimmung des Chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) im Bereich über 15 mg/l, DIN 38409 H41, Dezember 1980

Unter Berücksichtigung des Volumenanteils der Reagenzien ergibt sich für die Fenton-Ansätze (F 1 - F 4) im Vergleich zum unbehandelten NF-Konzentrat (V 1 - V 4) folgende prozentuale TOC-Abnahme:

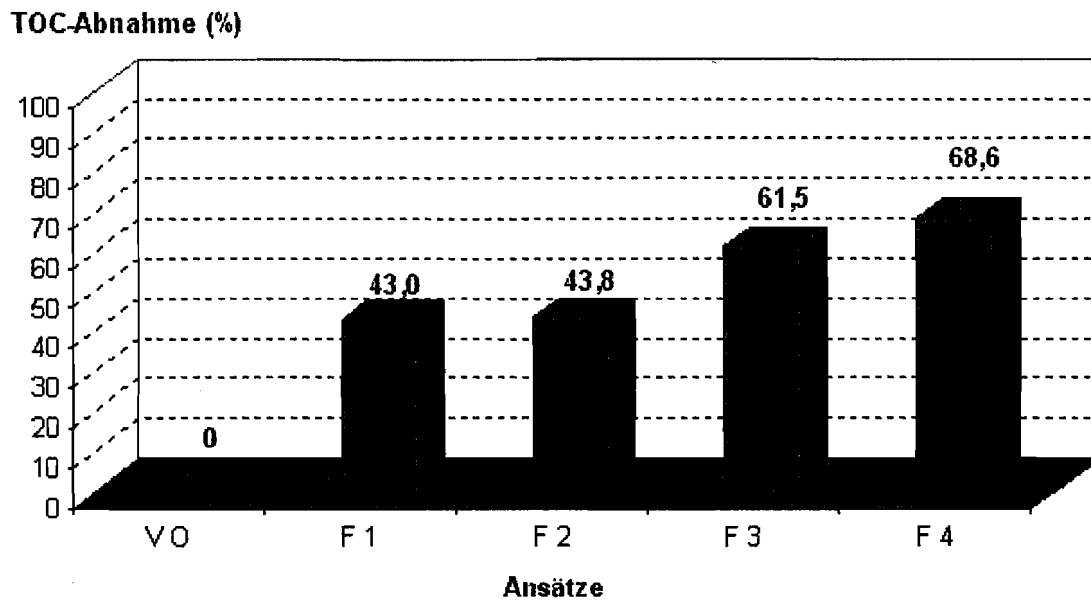


Abbildung 113: Prozentuale Abnahme des TOC durch die Fenton-Reaktion unter Berücksichtigung des Verdünnungseffekts (V 0 = NF-Konzentrat, F 1 – F 4 = Fenton-Ansätze).

Die F-Ansätze reduzieren die organischen Inhaltstoffe des NF-Konzentrats zwischen 43 % und 68,6 %. Ergänzend sei auf das von Wahner¹⁸⁷ entwickelte FENTOX[®]-Verfahren hingewiesen. Dieses bereits auf bayerischen Deponien realisierte Verfahren beruht auf der chemischen Spaltung von Deponiesickerwasser mit Fentons Reagenz und anschließender bakterieller Degradation.

Das Funktionsprinzip der Fenton-Reaktion ist analog zum ligninolytischem System der Braun- und Weißfäulepilze. Der nächste Schritt galt daher der Optimierung der Enzymaktivität durch die Wahl geeigneter Kultivierungsbedingungen für die Pilze.

3.6 Vorversuche mit Weiß- und Braunfäulepilzen zur weitergehenden Deponiesickerwasserreinigung

Die Spaltung des NF-Konzentrats durch die Fenton-Reaktion ist ein Indiz für dessen Degradierbarkeit durch das Enzymsystem der Weiß- und Braunfäulepilze.

3.6.1 Versuch 1: Batchkulturen mit angereichertem Sickerwassermedium

Die 14 DSMZ-Stämme wurden in 20 ml modifiziertem DSMZ-Medium 90 kultiviert. Statt Wasser wurde das Medium mit Sickerwasserkonzentrat aus der Nanofiltration aufgefüllt. Der Ausgangs-CSB lag bei 4480 mg/l.

¹⁸⁷

Wahner, D.: Angewandte Elektrochemie und chemische Umwelttechnik der TU München, <http://www.lrz-muenchen.de/~aae/aaeframe.html>, Stand: 17.01.2003

Nach 67 Tagen Inkubation wurden 200 µl Belebtschlamm angeimpft und für weitere 13 Tage geschüttelt. Im Vergleich zur Ausgangskonzentration kam es je nach Pilzart zu einer CSB-Abnahme zwischen 34,4 % und 79,4 % nach 67 Tagen (siehe folgende Tabelle und Abbildung). Die Zugabe von Belebtschlamm bewirkte nach 80 Tagen eine CSB-Reduktion von 35,3 % bis 87,3 %.

Tabelle 48: Versuch 1 - Batchkulturen zur Spaltung von NF-Konzentrat durch Weiß- und Braunfäulepilze

Konzentration in (mg/l) Spezies	DSMZ- Stamm	CSB 0 d	CSB 7 d	CSB 17 d	CSB 24 d	CSB 34 d	CSB 67 d	CSB 80 d
<i>Bjerkandera adusta</i>	3375	4480	4452	1270	1126	1094	932	944
<i>Gloeophyllum striatum</i>	9592	4480	2550	2550	2520	2431	2564	1488
<i>Gloeophyllum striatum</i>	9594	4480	2708	1982	1872	1672	1348	1270
<i>Gloeophyllum striatum</i>	10335	4480	3524	3584	2384	1393	1000	1056
<i>Heterobasidion annosum</i>	2728	4480	2052	1582	1506	1014	1008	570
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	1547	4480	1804	1498	1428	1113	1132	708
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	1556	4480	1986	1234	1196	1014	1008	662
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	9620	4480	2110	1370	1242	1153	1132	948
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1020	4480	2136	1520	1416	1034	924	620
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1833	4480	1792	1416	1350	1273	1164	736
<i>Pleurotus ostreatus</i>	3344	4480	4480	1398	1332	1133	1076	1100
<i>Trametes versicolor</i>	1977	4480	3684	1230	1078	1054	1116	936
<i>Trametes versicolor</i>	3086	4480	2918	2944	2894	2770	2940	2898
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	1019	nicht gewachsen						

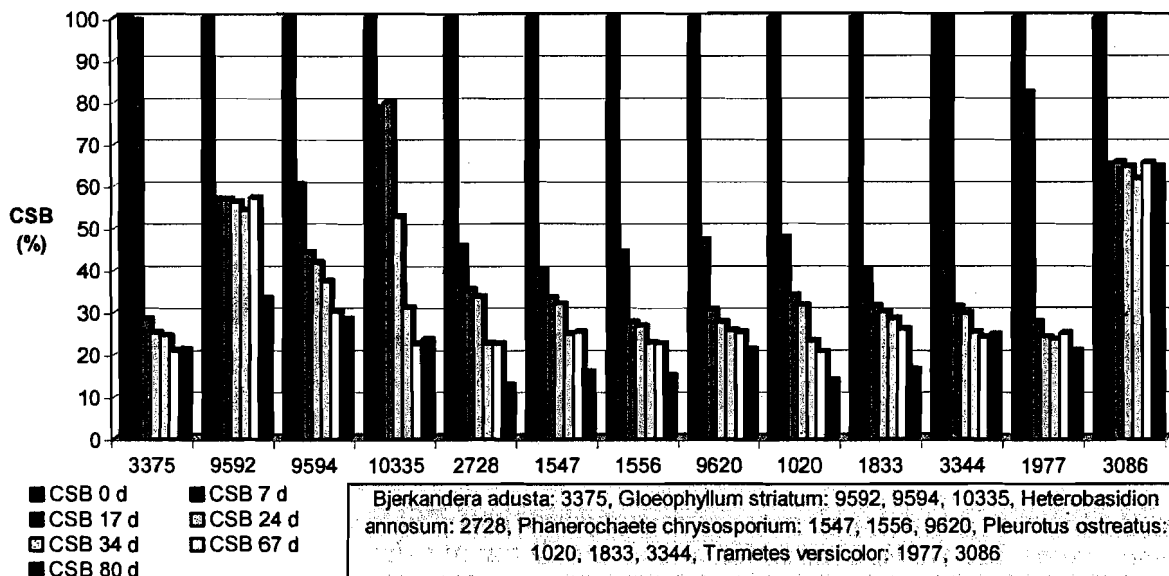


Abbildung 114: Veränderung des CSB durch Holz abbauende Pilze und anschließende Degradation durch Belebtschlamm. Nach 67 d wurde 200 ml Belebtschlamm zu den Kulturen gegeben. Die blauen Säulen stellen den bakteriellen Abbau dar.

Leider wurde es unterlassen, die CSB-Konzentrationen der Einzelkomponenten des Mediums zu Beginn der Versuchsreihe zu erfassen. Im nachhinein kann also ein tatsächlicher

Abbau des Sickerwasserkonzentrats nicht nachgewiesen werden. Der Versuch wurde daher in abgewandelter Form wiederholt.

3.6.2 Versuch 2: Batchkulturen mit K1-Medium

In jeweils 20-ml-Batchkulturen (K1-Medium) wurden 1 cm³ große, mit den 14 ausgewählten DSMZ-Stämme bewachsene Agarblöcke getestet. Zur Kontrolle diente 20 ml steriles K1-Medium.

Nach einer Inkubationszeit von 10 Tagen war im Vergleich zur Kontrolle entgegen der Erwartung ein TOC-Anstieg in den Pilzkulturen zu beobachten. Ursache für die Zunahme an organischem Kohlenstoff könnte ein Herauslösen von Nährstoffen aus den Agarblöcken (Malextrakt, Sojapepton) oder ein Ausschütten von Stoffwechselprodukten durch die Pilze sein. Wenn die im NF-Konzentrat enthaltenen Huminstoffe nicht mineralisiert werden, so könnten die Makromoleküle dennoch transformiert worden und damit einem bakteriellen Abbau zugänglich sein.

Um zu testen, ob trotz des TOC-Anstiegs Abbauprodukte des NF-Konzentrats vorliegen, wurden die Kulturen zur bakteriellen Degradation mit 200 µl Belebtschlamm angeimpft und für weitere 3 Tage geschüttelt. Im Vergleich zur Negativ-Kontrolle kam es je nach Pilzart zu einer TOC-Abnahme zwischen 23 % und fast 55 % (siehe folgende Tabelle und Abbildung).

Tabelle 49: Versuch 2 - Batchkulturen zur Spaltung von NF-Konzentrat durch Weiß- und Braunfäulepilze

Spezies	DSMZ-Stamm	Tage			Abnahme nach 13 Tagen	
		0	10	13	TOC (%) total	TOC (%) bereinigt
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	1019	136	185 ▲	66	51,5	51,1
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1020	136	168	73	46,3	45,9
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	1547	136	173	92	32,4	31,9
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	1556	136	172	61	55,1	54,8
<i>Pleurotus ostreatus</i>	1833	136	190	104	23,5	23,0
<i>Trametes versicolor</i>	1977	136	139	100	26,5	25,9
<i>Heterobasidion annosum</i>	2728	136	203	88	35,3	34,8
<i>Trametes versicolor</i>	3086	136	153	67	50,7	50,4
<i>Pleurotus ostreatus</i>	3344	136	149	72	47,1	46,7
<i>Bjerkandera adusta</i>	3375	136	155	74	45,6	45,2
<i>Gloeophyllum striatum</i>	9592	136	176	77	43,4	43,0
<i>Gloeophyllum striatum</i>	9594	136	161	81	40,4	40,0
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	9620	136	159	79	41,9	41,5
<i>Gloeophyllum striatum</i>	10335	136	197 ▼	80	41,2	40,7
NF-Konzentrat (K1-Medium)	CSB = 557 mg/l	136	136	135	0,7	0,0

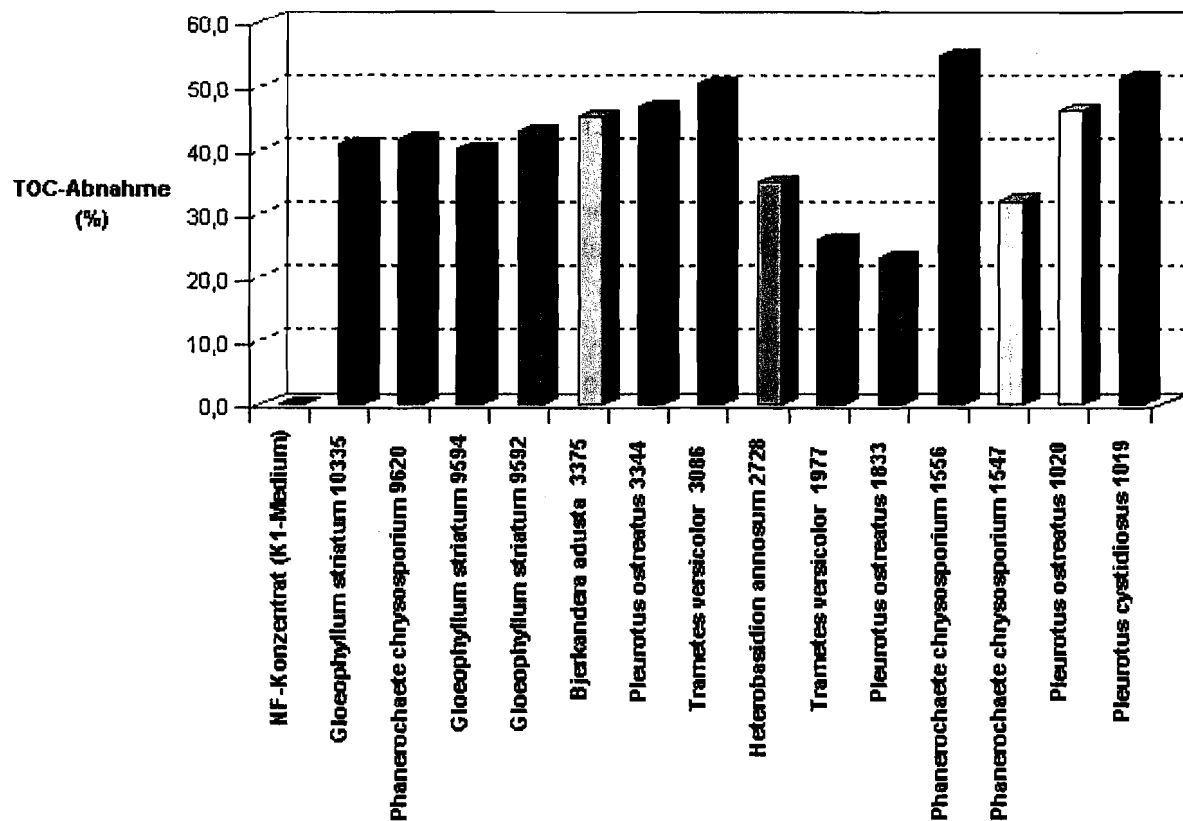


Abbildung 115: Transformation des Sickerwasserkonzentrats aus der Nanofiltration durch Holz abbauende Pilze und anschließende Degradation durch Belebtschlamm.

3.7 Einsatz von Pilzreaktoren als zweite Biostufe

Das biologisch vorbehandelte Deponiesickerwasser weist eine Eigenfärbung auf, die durch Huminstoffe verursacht wird. Aufgrund der Molekülgröße sind Bakterien nicht in der Lage, Huminstoffe intrazellulär zu metabolisieren. Nach der Neukonfiguration der Biostufe 1 waren die Huminstoff-Konzentrationen im Ablauf der ersten Reinigungsstufe allerdings so niedrig, dass die CSB-Werte weit unterhalb der gesetzlichen Bestimmungen waren und eine Nachbehandlung nicht notwendig war.

Dennoch wurden die Huminstoffe durch Nanofiltration aufkonzentriert und in einer zweiten Biostufe nachbehandelt. Alle Braun- und Weißfäulepilze, die in den Batchkulturen Abbauleistungen zeigten, wurden zusammen mit den Nährböden, auf denen sie kultiviert wurden, zwischen die Trägermaterialien der Reaktoren geschichtet. Es wurden zwei verschiedene Festbettreaktoren getestet. Variante 1 enthielt Rindenmulch als Trägermaterial. Da organisches Substrat aus dem Rindenmulch ausgewaschen wurde, kam es zu einer erhöhten Belastung im Ablauf der Stufe 2. Daher wurde dieser Versuch eingestellt (ohne Abbildung). Variante 2 war mit einem Festbett aus Polyurethan-Schaumstoffwürfeln bestückt. Der ursprünglich ebenfalls vorgesehene Tropfkörperreaktor mit rotierenden Aufwuchsschalen wurde auf Grund des zu niedrigen Beladungsvolumen nicht verwendet.

Ab dem 165. Tag nach der Neukonfiguration der Biostufe 1 wurde das Ablaufwasser in die erste Stufe zurückgeleitet. Hintergrund dieser Untersuchung ist die Absicht, auch Sickerwasserkonzentrate aus der geplanten Umkehrosroseanlage für die Deponie Vorketzin mit dem hier vorgestellten Verfahren zu reinigen. Bei der Behandlung von Konzentraten ist damit zu rechnen, dass eine vollständige bakterielle Degradation der organischen Inhaltsstoffe von

Deponiesickerwasser nicht zu realisieren ist (siehe 3.3.6 Biostufe 2). Daher kamen Braun- und Weißfäulepilze zur weitergehenden Deponiesickerwasserreinigung in Biostufe 2 zum Einsatz. Diese Pilze scheiden Enzyme aus, die extrazellulär Huminstoffe und Xenobiotika abbauen, wie in der Einleitung ausführlich dargelegt wurde. Die Rückführung der Pilzmetabolite in die Biostufe 1 kann dann eine vollständige Mineralisierung des Sickerwassers bewirken.

Die ligninolytischen Enzymsysteme der Braun- und Weißfäulepilze zum Abbau der refraktären Stoffe werden erst nach Verbrauch aller leicht verfügbaren N- oder C-Quellen aktiviert (Vorbehandlung des Sickerwassers in Biostufe 1). Durch die Nanofiltration werden die Reststoffe aufkonzentriert und so in höherer Dosis als Nahrungsquelle angeboten.

In folgender Grafik ist der Einfluss der Pilze auf die refraktäre organische Fraktion dargestellt. Der Ablauf-CSB ist gegenüber den Zulaufwerten um ca. 20 % reduziert. Die Färbung des Sickerwassers nimmt leicht ab. Die erhoffte Mineralisierung der Huminstoffe durch die Pilze hat nicht stattgefunden.

Nach Rückführung des Ablaufwassers aus der zweiten in die erste Reinigungsstufe konnte aber keine Zunahme des CSB im Ablauf der Stufe 1 gemessen werden (siehe oben). Daraus folgt, dass die Huminstoffe von den Pilzen transformiert und von den Bakterien der Stufe 1 weiter abgebaut wurden.

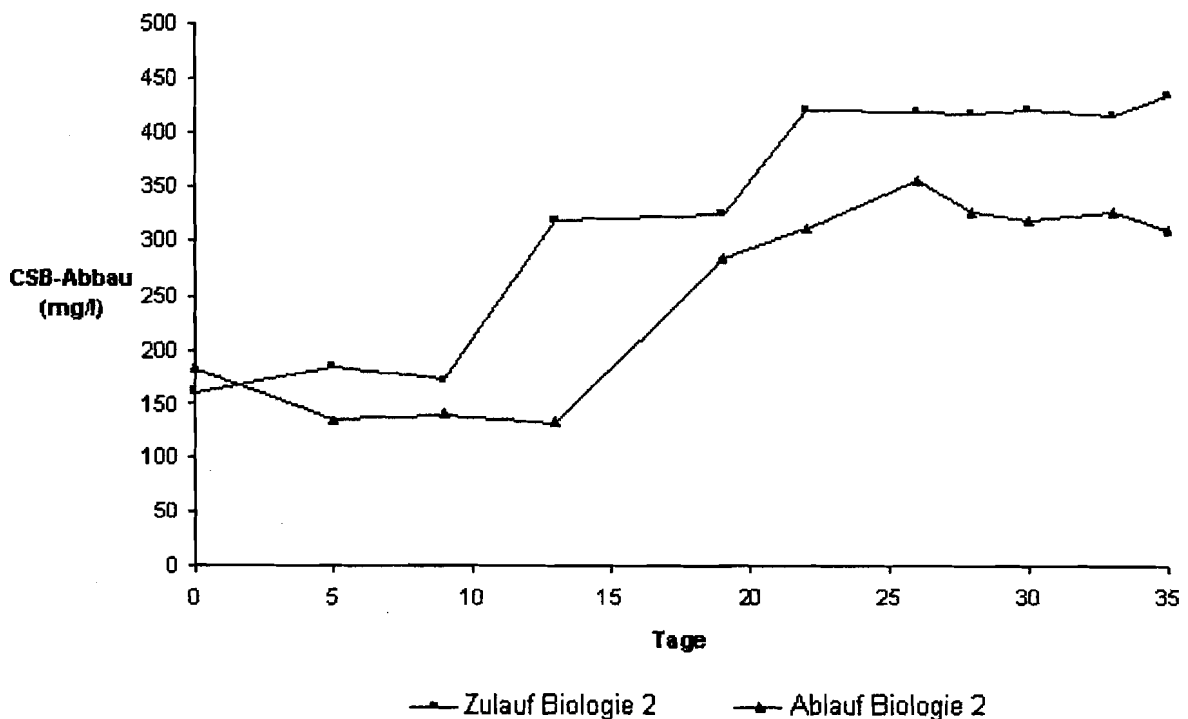


Abbildung 116: Veränderung des CSB durch Holz abbauende Pilze in Biostufe 2.

4 Fazit und Ausblick

4.1 Laborbetrieb zur Deponiesickerwasserreinigung

Im Rohsickerwasser konnten Desulfurikanten nachgewiesen werden. Die Verhinderung des Wachstums sulfatreduzierender Bakterien in Sickerwasservorlagen durch Umrühren bzw. Belüften führt zu einer erheblichen Reduzierung von problematischen Reststoffen (Metallsulfide). Diese Maßnahme ist für alle Sickerwasserbehandlungsverfahren relevant. Auf der Deponie Schöneiche führte die Umwälzung des Sickerwassers zu einer erheblichen Verbesserung des Betriebszustands der chemisch-physikalischen Behandlungsanlage, zu einem geringeren Materialverschleiß und Wartungsaufwand und damit letztendlich zu Kosteneinsparungen.

Festbettreaktoren bilden die Basis für eine modifizierte Auslegung zur vollständigen biologischen Reinigung von Deponiesickerwasser. Der Vorteil in der Nutzung von Festbettreaktoren liegt in einem theoretisch unbegrenztem Schlammalter. Die abzubauenen Substrate reichern sich auf den Trägermaterialien an und machen die Bakterienpopulationen unempfindlicher gegenüber Stoßbelastungen, als dies bei Rührreaktoren der Fall ist. Dieser wartungsarme Reaktortyp benötigt zum Rückhalt der Biomasse weder Filtration noch Sedimentation. Die Durchströmung des Reaktors von unten nach oben erlaubt einen gravimetrischen Ablauf mit automatischer Niveauregulierung des Fermenters. Durch Einsparung von Pumpen und Filtrationssystemen sind die Kosten gegenüber Rührreaktoren erheblich niedriger.

In der ersten Reinigungsstufe sind vier Festbettreaktoren mit unterschiedlichen Bakterienpopulationen in Reihe geschaltet: In Reaktor 1 verwerten heterotrophe¹⁸⁸ Bakterien unter Luftzufuhr organische Sickerwasserinhaltsstoffe zur Gewinnung von Zellkohlenstoff. Syntrophe¹⁸⁹, lithoautotrophe¹⁹⁰ Bakterien oxidieren in Reaktor 2 unter aeroben Bedingungen Ammonium über Nitrit überwiegend zu Nitrat und teilweise zu Luftstickstoff (aerobe Deammonifikation). Als anorganische Kohlenstoffquelle dient Natriumcarbonat (pH11), das gleichzeitig die saure Nitratbildung abpuffert. Co-Oxidation führt in diesem Reaktor zur weiteren Reduzierung der organischen Verbindungen. In Reaktor 3 bilden heterotrophe Bakterien unter Sauerstoffabschluss und durch die Zugabe von Essigsäure als leicht verwertbarer organischer Kohlenstoffquelle aus dem restlichen Nitrat Luftstickstoff (Denitrifikation). In Reaktor 4 verringern heterotrophe Bakterien die organischen Stoffe mittels Luftsauerstoff weiter.

Die organischen Inhaltsstoffe des Schöneicher Deponiesickerwassers konnten in der Biostufe 1 um 80 % verringert werden. Der Rest-CSB ist wenig giftig und besteht hauptsächlich aus Huminstoffen, die bakteriell nicht oder nur extrem langsam degradiert werden können. Eine Nachbehandlung bleibt dann essentiell, wenn die Huminstofffraktion zu einem Überschreiten der Grenzwerte nach Anhang 51 führt.

Sickerwasser aus einer Deponie in der Methanphase zeichnet sich durch hohe Ammoniumkonzentrationen bei relativ geringem Gehalt an bakteriell leicht verwertbaren, organischen Kohlenstoff aus. Das Hauptaugenmerk in der biologischen Vorbehandlung muss daher auf die

¹⁸⁸ heterotroph: Gewinnung von Zellkohlenstoff überwiegend aus organischem Substrat

¹⁸⁹ syntroph, Syntrophie: Substratabhängigkeit zwischen Bakterien. Die Nitritoxidierer sind funktionell mit den Ammoniumoxidierern assoziiert.

¹⁹⁰ lithoautotroph: Verwertung von anorganischen Wasserstoff-Donatoren (lithotroph, hier: Ammonium) und Kohlendioxid (autotroph) für die Zellkohlenstoff-Synthese

Elimination des Stickstoffs durch lithoautotrophe Ammoniumoxidierer und heterotrophe Denitrifikanten gerichtet werden. Die Optimierung der Stufe 1 führte zu einer Stickstoffreduzierung von über 90 %.

Das Rohsickerwasser der Deponie Schöneiche (Methanphase) kann schon mit der Biostufe 1 gemäß der Abwasserverordnung aufgereinigt werden. Die niedrigen Metallkonzentrationen in Schöneiche und Vorketzin erlauben einen nahezu reststofffreien Betrieb. Nach Neukonfiguration der Stufe musste einmal nach ca. 160 Tagen Belebtschlamm aus dem Denitrifikationsreaktor abgezogen werden.

Bei der biologischen Behandlung von Sickerwasserkonzentraten steigt der Anteil an schwer abbaubaren Verbindungen. Der daraus resultierende Rest-CSB entspricht überwiegend wasserlöslichen Huminstoffen (Fulvosäuren), die aufgrund ihrer Molekülgröße (> 800 Dalton) von Bakterien nicht aufgenommen und in vertretbaren Zeiträumen metabolisiert werden können. Um die Einleitwerte nach AbwV Anhang 51 gewährleisten zu können, müssen diese Stoffe zurückgehalten werden. Eine Nanofiltrationsanlage mit einer Trenngrenze von 350 Dalton konzentriert die refraktären organischen Verbindungen in einen Retentatstrom auf, der einer weiteren biologischen Behandlung zugeführt wird. Der Filtratstrom kann gemäß Anhang 51 eingeleitet werden.

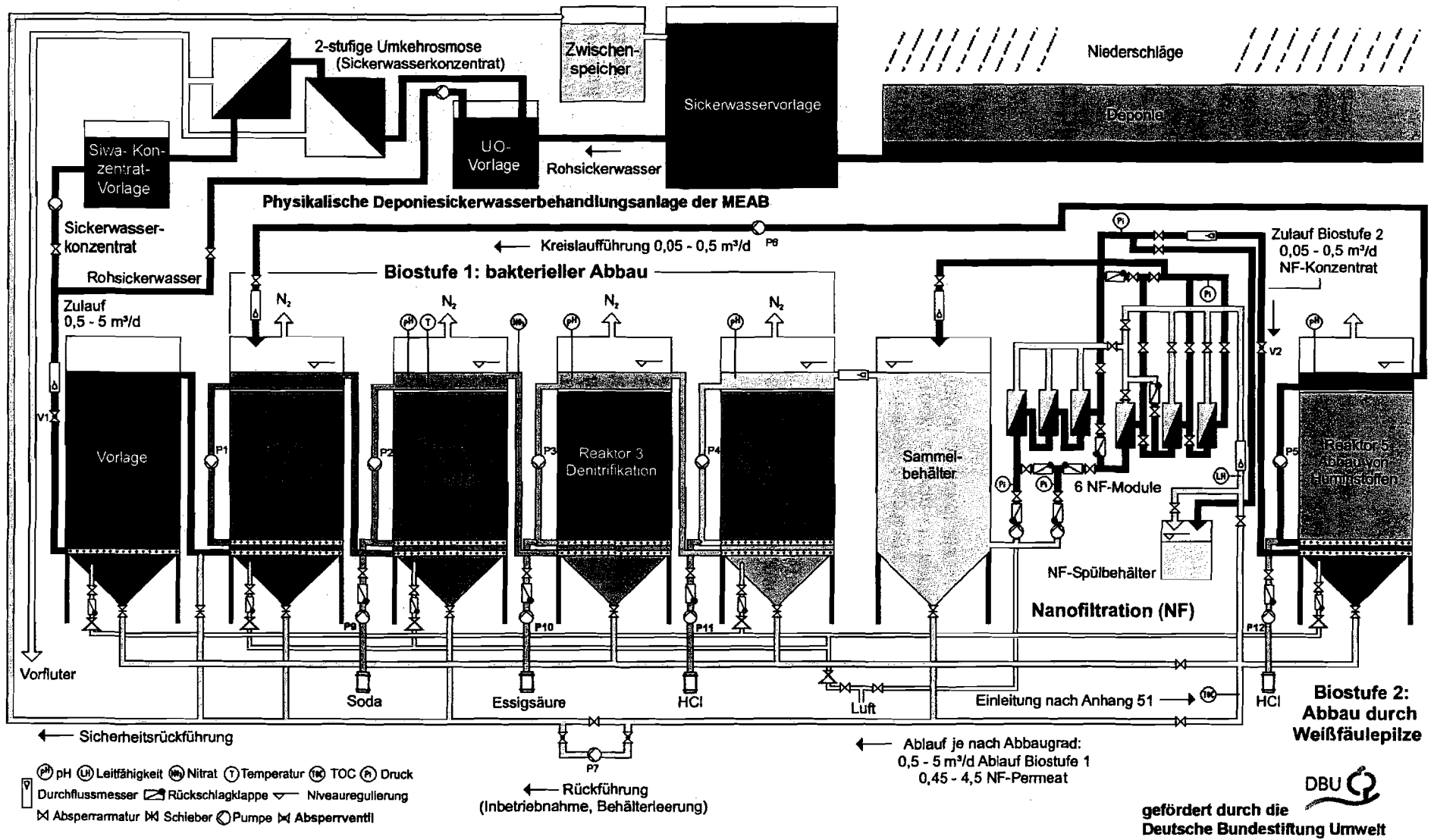
Für die Degradation der refraktären Stoffe kommen Weiß- bzw. Braunfäulepilze in einer zweiten biologischen Reinigungsstufe zum Einsatz, die hoch wirksame Ligninasen, Mangan-Peroxidasen und Laccasen ausscheiden, mit denen sie extrazellulär die Fulvosäuren abbauen. Der Ablauf-CSB ist gegenüber den Zulaufwerten um ca. 20 % reduziert. Die Färbung des Sickerwassers nimmt leicht ab. Die erhoffte Mineralisierung der Huminstoffe durch die Pilze hat zwar nicht stattgefunden, aber nach Rückführung des Ablaufwassers aus der zweiten in die erste Reinigungsstufe konnte keine Zunahme des CSB im Ablauf der Stufe 1 gemessen werden. Daraus folgt, dass die Huminstoffe von den Pilzen transformiert und von den Bakterien der Stufe 1 weiter abgebaut wurden.

Eine Aufkonzentrierung des Rohsickerwassers durch eine zweistufige Umkehrosmose um den Faktor 10, wie sie für Vorketzin geplant ist, führt auch zu einer Erhöhung der anorganischen Inhaltsstoffe. Kurzzeitige Stoßbelastungen mit Schwermetallen üben nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Stabilität der Festbettbiologie aus. Bei permanenter Überlastung der Biologie kann der Abzug von Biomasse inkl. der assoziierten Metalle notwendig werden. Die anfallenden Schlammengen stehen allerdings in keiner Relation zu den Reststoffmengen, die durch Eindampfen und Trocknen von Umkehrosmose-Konzentraten anfallen. Zu berücksichtigen ist, dass Kupfer, Zink und Nickel als Spurenelemente von den Organismen aufgenommen werden.

4.2 Pilotbetrieb auf der Deponie Schöneiche

Die Märkische Entsorgungsanlagen-Betriebsgesellschaft (MEAB) möchte das neu entwickelte Verfahren langfristig zur Behandlung von Konzentraten aus einer zweistufigen Umkehrosmose-Anlage auf der Deponie Vorketzin einsetzen. Hintergrund sind Einsparungen gegenüber dem ursprünglich geplanten Transport des Konzentrats zur Eindampfungs- und Trocknungsanlage in Schöneiche.

Abbildung 117 (nächste Seite): Fließschema des Technikums zur biologischen Behandlung von Rohsickerwasser und Umkehrosmose-Konzentrat - Die Module der gelb unterlegten Fläche gehören zur physikalischen Deponiesickerwasserbehandlungsanlage der MEAB (Grafik: Arens 2003).



**Biostufe 2:
Abbau durch
Weißfäulepilze**



gefördert durch die
Deutsche Bundesstiftung Umwelt



Abbildung 118: Technikum – Vorderansicht mit Biostufe 1 (Hintergrund), Steuerung (ganz rechts), Denitrifikationskontrolle, Datenerfassung (Bildmitte) und Ablaufkontrolle (ganz links).

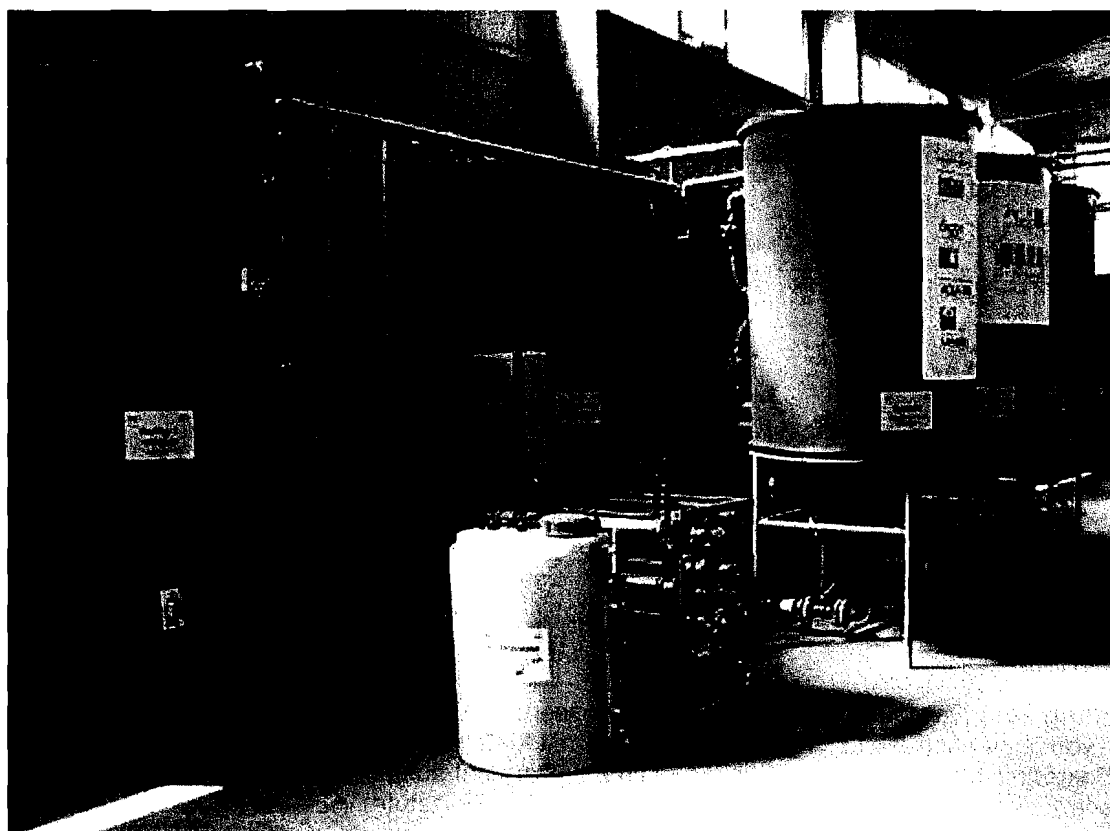


Abbildung 119: Technikum - Rückansicht mit Biostufe 1 (Hintergrund), Nanofiltration (Bildmitte) und Biostufe 2 (links).

Aufgrund der noch nicht abgeschlossenen Sicherungsmaßnahmen in Vorketzin ist zunächst ein Technikum auf der Deponie Schöneiche errichtet worden, um die Effizienz des Verfahrens sowohl zur Behandlung von Rohsickerwasser als auch von Umkehrosmosekonzentraten im technischen Maßstab zu überprüfen. Die Anlage ist seit dem 14.07.03 im kontinuierlichen Betrieb. Um das Verfahren als Stand der Technik etablieren zu können, besteht weiterer Forschungsbedarf.

5 Zusammenfassung

Bei der Behandlung von Rohsickerwasser aus Schöneiche wurden in den Laborkläranlagen alle Grenzwerte nach Anhang 51 der Abwasserverordnung (AbwV) zum Teil erheblich unterschritten.

Der verfahrenstechnische Aufwand zur Behandlung von Deponiesickerwasser wurde minimiert. Die Verwendung von preisgünstigen Festbettreaktoren erlaubt den Wegfall der ursprünglich geplanten Mikrofiltration und verringert den Energie- und Wartungsaufwand. Für die Rohsickerwasserbehandlung der Deponie Schöneiche reichen vier in Reihe geschaltete Festbettreaktoren aus.

Erst wenn Sickerwasserkonzentrate behandelt werden sollen, muss die Huminstofffracht durch Nanofiltration aufkonzentriert und in einer zweiten Biostufe mit Braun- und Weißfäulepilzen nachbehandelt werden.

Die guten Reinigungsergebnisse und das *Scale Up* des Labormodells auf einen größeren Maßstab führte zum Abschluss eines Kooperationsvertrages mit der MEAB über den Betrieb eines Technikums am Deponiestandort Schöneiche. Die MEAB beteiligt sich maßgeblich an den Investitions- und Betriebskosten der Pilotanlage. Ist der Pilotbetrieb erfolgreich, soll eine Anlage mit der hier entwickelten Konfiguration auf der Deponie Vorketzin errichtet werden. Die Ergebnisse des Technikumbetriebs werden in einem gesonderten Bericht zusammengefasst.

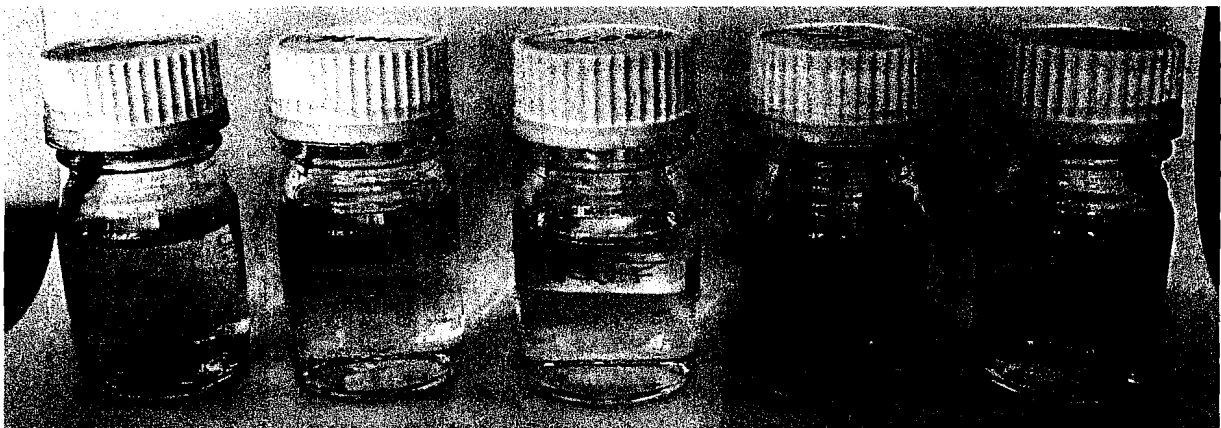


Abbildung 120: Reinigung von Deponiesickerwasser aus Schöneiche in der optimierten Laborkläranlage – von links nach rechts: 1. Rohsickerwasser mit Metallsulfidniederschlägen, 2. Ablauf der Biostufe 1 (Bakterienstufe) nach der Neukonfiguration, 3. Permeat aus der Nanofiltration (Anlagenablauf), 4. Konzentrat der Nanofiltration und 5. Ablauf der Biostufe 2 (Pilzstufe).