

- DENIOPT -

**Optimierung eines neuen, innovativen Denitrifikations-Verfahrens für eine effiziente und
sichere Anwendung in der marinen sowie limnischen
Kreislauf-Aquakultur**

(AZ: 31426)

Abschlussbericht

Bewilligungsempfänger und Projektleitung:

Andreas Spranger
Kunststoff-Spranger GmbH
Reissiger Gewerbering 9
08525 Plauen

Verfasser:

Dr. Johann Torno
Gesellschaft für Marine Aquakultur mbH
Hafentörn 3
25761 Büsum

Büsum, April 2019

gefördert durch



www.dbu.de

Projektkennblatt
der
Deutschen Bundesstiftung Umwelt



Az	31426	Referat	23	Fördersumme	309.167 €
----	--------------	---------	-----------	-------------	------------------

Antragstitel **Optimierung eines neuen, innovativen Denitrifikations-Verfahrens für eine effiziente und sichere Anwendung in der marinen sowie limnischen Kreislauf-Aquakultur**

Stichworte Aquakultur, Tierproduktion, Verfahren, Kreislauf

Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase
12 Monate	26.08.2014	31.08.2015	1
33 Monate	19.06.2016	31.03.2019	2

Bewilligungsempfänger Kunststoff-Spranger GmbH Herr Andreas Spranger Reissiger Gewerbering 9 08525 Plauen	Tel
	Fax
	Projektleitung Andreas Spranger
	Bearbeiter Dr. Johann Torno

Kooperationspartner Gesellschaft für Marine Aquakultur mbH
Hafentörn 3
25761 Büsum
www.gma-buesum.de

Zielsetzung und Anlass des Vorhabens

Im Rahmen des vorangegangenen DBU-Projektes AZ 28133 konnte ein wartungsarmes, stabil arbeitendes Denitrifikations-Verfahren auf Basis der Bewegtbett-Technologie entwickelt und für den effizienten Einsatz in Süßwasser-Aquakultursystemen erprobt werden. Im Zuge des vorliegenden Projektes (AZ 31426) sollen verfahrenstechnische Anpassungen dieses Denitrifikations-Verfahrens auf Basis der Bewegtbett-Technologie an Salzwasserbedingungen durchgeführt werden. Des Weiteren wurde auf bekannte Probleme konventioneller Denitrifikationssysteme eingegangen um zu evaluieren, inwiefern das neue Denitrifikations-Verfahren diesen Problemen vorbeugen kann. Begleitend wurden Produktions- und Gesundheitsparameter der kultivierten Fischart erhoben und ausgewertet.

Ziel des Vorhabens war die Optimierung des Denitrifikations-Verfahrens für den effizienten und sicheren Einsatz in der marinen und limnischen Kreislauf-Aquakultur um somit die Weiterentwicklung eines zunehmend bedeutenden Anwendungsbereiches voranzutreiben.

Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Im Rahmen des vorangegangenen Projektes AZ 28133 wurde der Selbstreinigende-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor) für den effizienten Einsatz in Süßwasser-Aquakultursystemen entwickelt und erprobt. Zu Beginn des vorliegenden Vorhabens (AZ 31426) wurde der SID-Reaktor an eine Salzwasser-Kreislaufanlage im Technikumsmaßstab (40 m³ Wasservolumen) der Gesellschaft für Marine Aquakultur (GMA) mbH integriert und im Dauerbetrieb unter marinen Produktionsbedingungen getestet. Es wurden relevante Betriebsparameter, die zu einer Verbesserung der Effizienz des Systems führen sollten, beurteilt und optimiert. Dabei wurden zur Beurteilung der Effekte relevante Wasserqualitätsparameter wie O₂, pH, Säure-Bindung-Vermögen, Trübung, Oxidations-Reduktions-Potential, Stickstoffverbindungen (TN, TAN, NO₂-N, NO₃-N), Kohlenstoffverbindungen etc., aber auch mikrobiologische Parameter, sowie Gesundheits- und Leistungsparameter (z.B. Gesundheitszustand, Futteraufnahme, etc.) der kultivierten Fischart analysiert und ausgewertet. Auf Basis der Ergebnisse wurden relevante Bemessungsgrundlagen, wie die maximal erzielbare Denitrifikationsrate, daraus resultierende Wasser- und Energie-Einsparungspotentiale, oder das Potential zur Rückgewinnung von Härte-Äquivalenten ermittelt. Eine abschließende Beurteilung der Wirtschaftlichkeit des Verfahrens für den Einsatz in marinen und limnischen Aquakultur-Kreislaufsystemen wird damit realisiert.

Ergebnisse und Diskussion

Nach der fachgerechten Installation des SID-Reaktors an eines der Kreislaufsysteme der GMA wurde der SID-Reaktor unter der Dokumentation relevanter Parameter in Betrieb genommen. Während der stufenweise aufgebauten Inbetriebnahme wurden erste systemspezifische Kenngrößen (Hydraulische Retentionszeit, Rückspülintervall, C/N-Verhältnis) erarbeitet und bewertet. Eine hydraulische Retentionszeit von 6 Stunden führte zu einer Denitrifikationseffizienz von bis zu 81% Nitratreduktion und zu einer Gesamtdenitrifikationsrate von 253 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper. Eine geringere hydraulische Retentionszeit von 2 Stunden führte zu einer verringerten Denitrifikationseffizienz von 64%, jedoch zu einer erhöhten Gesamtdenitrifikationsrate von 497 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper. Rückspülintervalle von alle 30 und 60 Minuten zeigten die besten Ergebnisse im Hinblick auf Stabilität und Effizienz des Denitrifikationsprozesses. Beim Blick auf die Kohlenstoffdosierung ist ein C/N-Verhältnis von 2,3 zu empfehlen, um die untersuchten Wasserqualitätsparameter in einem für Denitrifikationsprozesse optimalen Bereich zu halten. Das mikrobielle Monitoring des anaeroben SID-Reaktors und des aeroben Moving-Bed-Biofilm-Reaktors (MBBR) konnte zeigen, dass eine diverse Bakteriengemeinschaft zu stabilen und kontinuierlichen Denitrifikationsprozessen trotz sich ändernder Betriebsparameter führte. Durch Messungen der Bakterienaktivität konnte dokumentiert werden, dass während des Betriebs des SID-Reaktors die Bakterienaktivität im Haltungswasser im Vergleich zum Betrieb ohne SID-Reaktor reduziert war. In der vorliegenden Studie wurde ein signifikanter Einfluss erhöhter Nitratwerte auf den Somatischen-Index der Leber (HSI) und die tägliche Futtermittelaufnahme (DFI) bei Wolfsbarschen dokumentiert. Darüber hinaus deutete ein Trend zu niedrigeren spezifischen Wachstumsraten (SGR) und höherer Mortalität bei höheren Nitratkonzentrationen auf einen potenziell negativen Einfluss von Nitrat auf die weiteren Gesundheits- und Leistungsparameter hin. Als potentielle endogene Kohlenstoffquellen für den SID-Reaktor wurden die Abwässer aus Proteinabschäumer und Trommelsiebfilter untersucht. Basierend auf den berechneten Methanol-Äquivalenten wiesen beide zu geringe Kohlenstoffkonzentrationen auf, um Methanol als externe Kohlenstoffquelle zu ersetzen. Als alternative Kohlenstoffquelle wurde biologisch abbaubares Kunststoffgranulat aus Polyhydroxyalkanoat (PHA) untersucht. Unter den angegebenen experimentellen Bedingungen zeigte der Beginn der Denitrifikationsleistung des mit PHA betriebenen SID-Reaktors im Vergleich zu dem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor einen schnelleren Start des Denitrifikationsprozesses. Die Denitrifikationseffizienz war jedoch im Vergleich zum mit Methanol betriebenen SID-Reaktor niedriger. Darüber hinaus waren bei der Verwendung von PHA die Trübungs-, TAN-, NO₂-N- und TOC Werte im Haltungswasser einheitlicher und niedriger als bei der Verwendung von Methanol. Weitere Ergebnisse aus Versuchen zeigten, dass der Betrieb eines SID-Reaktors keinen negativen Einfluss auf den Geschmack und Geruch der Fischfilets hatte. Generell zeigte sich eher ein tendenziell positiver Einfluss der SID-Reaktoren auf die Filetqualität. Generell ist der Einsatz des SID-Reaktors unter Berücksichtigung der laufenden Kosten als wirtschaftlich rentabel anzusehen. Um das tatsächliche Kosteneinsparpotential durch einen SID-Reaktor zu ermitteln, wird jedoch empfohlen eine detaillierte Kosten-Nutzen-Analyse unter der Berücksichtigung der genutzten Fischart, aller der am jeweiligen Standort kritischen Faktoren und der Anschaffungskosten separat durchzuführen.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Die Projektergebnisse sind bislang in zwei Publikationen veröffentlicht, in 14 Fachvorträgen auf nationalen und internationalen Seminaren und Konferenzen präsentiert. Des Weiteren wurden der SID-Reaktor und Forschungsergebnisse aus dem Projekt auf drei internationalen Fachmessen präsentiert. Zudem wurden im Rahmen des Projektes eine Projektierungsarbeit, zwei Bachelorarbeiten, eine Masterarbeit, eine Dissertation und ein Handbuch angefertigt.

Fazit

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen zeigen deutlich ein hohes Potential des SID-Reaktors für die sichere und effiziente Nitrat Reduktion in kreislaufgeführten marinen und limnischen Aquakulturanlagen. Im Rahmen des Projektes konnte gezeigt werden, dass bestehende Aquakulturanlagen schnell und einfach mit einem SID-Reaktor nachgerüstet werden können. Die Ergebnisse des Projektes erlauben des Weiteren eine optimale Einstellung betriebsrelevanter Parameter, wie z.B. hydraulische Retentionszeit, Rückspülintervall der Aufwuchskörper und C/N-Verhältnis. Der Einsatz alternativer Kohlenstoffquellen in Form von biologisch abbaubarem Polyhydroxyalkanoat (PHA) scheint im Hinblick auf Sicherheit, Handhabung und Abbauleistung zukunftsweisend zu sein. Ein positiver Effekt des SID-Reaktors auf Geruch und Geschmack des Fischfilets kann aus den Ergebnissen gedeutet werden, sollte jedoch in Zukunft detaillierter untersucht werden. In der abschließenden Kosten-Nutzen-Analyse konnte gezeigt werden, dass der SID-Reaktor zur Senkung der Betriebskosten beitragen kann und im Rahmen des Projektes als ökonomisch rentabel zu bewerten ist.

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Abbildungen	I
Verzeichnis der Tabellen	II
Verzeichnis der Abkürzungen	III
1 Zusammenfassung	1
2 Vorwort	5
2.1 Aquakultur- Produktionssysteme	5
2.2 Stickstoff in Aquakultur-Systemen	6
2.3 Nitrat in Kreislaufanlagen	7
3 Kurzfassung des Gesamtvorhaben	10
4 Arbeitspakete	11
5 Tierwohl und Tiergesundheit	14
6 Material und Methoden	15
6.1 Der Selbstreinigende-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor) ...	15
6.2 Versuchsanlagen	18
6.2.1 Aufbau der 40 m ³ Versuchskreislaufanlage	18
6.2.2 Aufbau der 1 m ³ Versuchskreislaufanlage	19
6.2.3 Aufbau der 0,32 m ³ Versuchskreislaufanlage	20
6.3 Daten- & Parametererfassung	21
6.3.1 Wasserqualitätsanalyse	21
6.3.2 Wachstums- und Gesundheitsparameter	22
6.3.3 SID-Reaktor Denitrifikationsleistung	22
6.3.4 Mikrobielle Analysen	23
7 Statistische Analysen	24
8 Vorhabensdurchführung und -ergebnisse	25
8.1 Installation des SID-Reaktors und Versuchs Vorbereitungen (AP 1)	25

Inhaltsverzeichnis

8.2	Verfahrenstechnische Anpassung des SID-Reaktors für die marine Aquakultur (AP 2).....	27
8.2.1	Einleitung.....	27
8.2.2	Versuchssystem und -aufbau	29
8.2.3	Versuchsdesign.....	29
8.2.4	Ergebnisse	32
8.2.5	Diskussion.....	41
8.2.6	Zusammenfassung	49
8.3	Mikrobiologisches Monitoring - Bakteriengemeinschaft und -aktivität (AP 2 & AP 3)	50
8.3.1	Bakteriengemeinschaft	50
8.3.2	Bakterienaktivität	55
8.4	Gesundheits- und Leistungsparameter - Nitrat Exposition (AP 2 & AP 3). 57	
8.4.1	Einleitung.....	57
8.4.2	Versuchssystem und -design.....	58
8.4.3	Ergebnisse und Diskussion.....	64
8.4.4	Zusammenfassung	70
8.5	Einsatz von endogenen Kohlenstoffquellen im SID-Reaktor (AP 3 & AP 4)71	
8.5.1	Einleitung.....	71
8.5.2	Versuchssystem und -design.....	71
8.5.3	Ergebnisse und Diskussion.....	72
8.5.4	Zusammenfassung	73
8.6	Einsatz von biologisch abbaubarem Polyhydroxyalkanoat (PHA) Kunststoff im SID-Reaktor (AP 3 & AP 4)	74
8.6.1	Einleitung.....	74
8.6.2	Versuchssystem und -aufbau	75
8.6.3	Versuchsdesign.....	76
8.6.4	Ergebnisse	78
8.6.5	Diskussion.....	84
8.6.6	Zusammenfassung	90
8.7	Einfluss des SID-Reaktors auf Filet Geruch und Geschmack (Off-Flavour) (AP 3)	91
8.7.1	Einleitung.....	91
8.7.2	Versuchssystem und -design.....	91

Inhaltsverzeichnis

8.7.3	Ergebnisse und Diskussion.....	93
8.7.4	Zusammenfassung	94
8.8	Ökonomische Bilanzierung (AP 2).....	95
8.8.1	Maximale Nitratreduktion durch den SID-Reaktor	95
8.8.2	Wassereinsparpotential	96
8.8.3	Energiekosten.....	97
8.8.4	Rückgewinnung von Härte-Äquivalenten	98
8.8.5	Kosten für die Kohlenstoffquelle	99
8.8.6	Zusammenfassende Kostenkalkulation	99
9	Berichtswesen und Veröffentlichungen	101
10	Abschließende Beurteilung des Projektes.....	104
11	Literaturverzeichnis.....	105

Verzeichnis der Abbildungen

ABBILDUNG 1: VEREINFACHTES SCHEMA DER NITRIFIKATION UND DENITRIFIKATION IN AQUATISCHEN HABITATEN.....	6
ABBILDUNG 2: DER SELBSTREINIGENDE-INNERTGAS-DENITRIFIKATIONS-REAKTOR.....	16
ABBILDUNG 3: DER KLEINSKALIGE SELBSTREINIGENDE-INNERTGAS-DENITRIFIKATIONS-REAKTOR.....	17
ABBILDUNG 4: AUFBAU DER 40 M ³ KREISLAUFANLAGE.....	19
ABBILDUNG 5: AUFBAU DES EXPERIMENTELLEN KONTROLL-RAS (A) UND DER ZWEI RAS, DIE MIT EINEM SELBSTREINIGENDEN- INNERTGAS-DENITRIFIKATIONSREAKTOR (SID-REAKTOR) AUSGESTATTET SIND (B).19	
ABBILDUNG 6: AUFBAU EINES DER 12 VERWENDETEN EXPERIMENTELLEN KREISLAUFANLAGE.....	20
ABBILDUNG 7: INBETRIEBNAHME DES SID-REAKTORS.....	26
ABBILDUNG 8: VERSUCHSABLAUF ZUR BESTIMMUNG DES OPTIMALEN VERHÄLTNISSES VON KOHLENSTOFF ZU STICKSTOFF (C/N).....	31
ABBILDUNG 9: PARTIKELCHARAKTERISTIK IM ABLAUFWASSER DES SID-REAKTORS.....	38
ABBILDUNG 10: SEGMENTIERTE LINEARE REGRESSIONEN MIT EINER ABHÄNGIGEN VARIABLEN UND DEM UNABHÄNGIGEN C/N-VERHÄLTNIS [MG MG ⁻¹].....	40
ABBILDUNG 11: VERGLEICH DER PROZENTUALEN ANTEILE DER EINZELNEN HAUPTGRUPPEN-POPULATIONEN AN DER GESAMTLEBENZELLZAHL DER DREI BEPROBUNGSZEITPUNKTE.....	52
ABBILDUNG 12: BAKTERIENAKTIVITÄT IM WASSER DER HALTUNGSEINHEITEN UND IM ZULAUFES UND ABLAUF DES SID-REAKTORS.....	56
ABBILDUNG 13: NITRAT-N KONZENTRATION DER ZWÖLF EXPERIMENTELLEN RAS WÄHREND DES ZEHNWÖCHIGEN VERSUCHS.....	60
ABBILDUNG 14: (A) SOMATISCHER-INDEX DER LEBER (HSI), (B) TÄGLICHE FUTTERAUFNAHME (DFI), (C) SPEZIFISCHE WACHSTUMSRATE (SGR) UND (D) GESAMTMORTALITÄT BEI ENTSPRECHENDEN NITRATWERTEN (NO ₃ ⁻ -N).....	66
ABBILDUNG 15: A, HEL-X® AUFWUCHSKÖRPER; B, PHA GRANULAT.....	76
ABBILDUNG 16: VERLAUF DES GESAMT-AMMONIUMSTICKSTOFFS (TAN), NITRITS (NO ₂ ⁻ -N) UND DES GESAMTEN ORGANISCHEN KOHLENSTOFFS (TOC) IM ABLAUF DER MIT ME ₂ OH UND PHA BETRIEBENEN SID-REAKTOREN.....	80
ABBILDUNG 17: VERLAUF DER NITRATKONZENTRATION (NO ₃ ⁻ -N) IM AUFZUCHTWASSER VON RAS-C, RAS-M UND RAS-P.....	81
ABBILDUNG 18: VERLAUF DER DENITRIFIKATIONSEFFIZIENZ FÜR DEN MIT METHANOL (ME ₂ OH) UND POLYHYDROXYALKANOAT (PHA) BETRIEBENEN SID-REAKTOR.....	82
ABBILDUNG 19: DIE FÜR DIE BEURTEILUNG VON GERUCH UND GESCHMACK (OFF-FLAVOUR) GENUTZTEN DREI TEILSTÜCKE EINES ZANDER-FILETS.....	92
ABBILDUNG 20: BEWERTUNG DER ZANDER-FILETS NACH GERUCH, GESCHMACK UND GESAMTURTEIL.....	93

Verzeichnis der Tabellen

TABELLE 1: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER FÜR DEN ZULAUF UND ABLAUF DES SID-REAKTORS IN ABHÄNGIGKEIT VON DEN HYDRAULISCHEN RETENTIONSZEITEN (HRZ) VON 2, 4 UND 6 STUNDEN.	33
TABELLE 2: MITTELWERTE (\pm SD) DER DENITRIFIKATIONSEFFIZIENZ UND -RATE IN ABHÄNGIGKEIT VON DEN HYDRAULISCHEN RETENTIONSZEITEN (HRZ) VON 2, 4 UND 6 STUNDEN.....	34
TABELLE 3: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER FÜR DEN SID-REAKTOR ZULAUF UND ABLAUF ABHÄNGIG VOM RÜCKSPÜLINTERVALL (RSI) ALLE 10, 30, 60 UND 90 MINUTEN.	36
TABELLE 4: MITTELWERTE (\pm SD) DER DENITRIFIKATIONSEFFIZIENZ UND -RATE IN ABHÄNGIGKEIT VOM RÜCKSPÜLINTERVALL (RSI) ALLE 10, 30, 60 UND 90 MINUTEN.	37
TABELLE 5: C/N-VERHÄLTNIS AM BREAKPOINT FÜR DIE ABHÄNGIGEN VARIABLEN SAUERSTOFFSÄTTIGUNG, ORP, TAN, NO_2^- -N, NO_3^- -N BZW. TN-REDUKTION.....	39
TABELLE 6: GESAMTZELLZAHL UND LEBENDZELLZAHL DES BIOFILMS AUF DEN AUFWUCHSKÖRPERN	51
TABELLE 7: GRENZWERTE FÜR WASSERQUALITÄTSPARAMETER FÜR DIE ZUCHT VON EUROPÄISCHEN WOLFSBARSCHEN (DICENTRARCHUS LABRAX).....	61
TABELLE 8: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER BEI UNTERSCHIEDLICHEN NITRATKONZENTRATIONEN IM HALTUNGSWASSER	62
TABELLE 9: MITTELWERTE (\pm SD) DER PRODUKTIONS- UND GESUNDHEITSPARAMETER DES EUROPÄISCHEN WOLFSBARSCHES BEI UNTERSCHIEDLICHEN NITRATKONZENTRATIONEN IM HALTUNGSWASSER	63
TABELLE 10: LETALE KONZENTRATION (LC50) VON NITRAT (NO_3^- -N) UND ODER „NO OBSERVED EFFECT CONCENTRATION“ (NOEC) FÜR VERSCHIEDENE FISCHARTEN.....	- 69 -
TABELLE 11: BERECHNETE METHANOL-ÄQUIVALENTE FÜR DAS ABWASSER AUS TROMMELSIEBFILTER, PROTEINABSCHÄUMER UND HALTUNGSWASSER.....	72
TABELLE 12: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER DES RAS-HALTUNGSWASSERS BEI UNTERSCHIEDLICHEN KOHLENSTOFFQUELLEN	77
TABELLE 13: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER DES RAS-HALTUNGSWASSERS BEI UNTERSCHIEDLICHEN KOHLENSTOFFQUELLEN	78
TABELLE 14: MITTELWERTE (\pm SD) DER WASSERQUALITÄTSPARAMETER DES RAS-HALTUNGSWASSERS BEI UNTERSCHIEDLICHEN KOHLENSTOFFQUELLEN	79
TABELLE 15: MITTELWERTE (\pm SD) DER DENITRIFIKATIONSRATE FÜR DIE SID-REAKTOREN VON RAS-M UND RAS-P WÄHREND DER VERSUCHSPHASE II.....	83
TABELLE 16: SUBSTRATVERBRAUCH UND -KOSTEN FÜR METHANOL (MEOH) UND POLYHYDROXYALKANOAT (PHA).....	83
TABELLE 17: TORRY BEWERTUNGSSHEMA FÜR DIE SENSORISCHE BEWERTUNG VON GEGARTEM MAGERFISCHFILET.....	92
TABELLE 18: KOSTEN VERBUNDEN MIT EINEM WASSERWECHSEL BZW. DENITRIFIKATIONSKOSTEN BASIEREND AUF DEM EINSATZ VON 1 KG FUTTERMITTEL.	100

Verzeichnis der Abkürzungen

%	Prozent
AFU	engl. arbitrary fluorescence units
AK	Aufwuchskörper
ANAMMOX	Anaerobe Ammonium-Oxidation
AOB	Ammoniak Oxidierende Bakterien
C/N-Verhältnis	Kohlenstoff zu Stickstoff Verhältnis
CaCO ₃	Calciumcarbonat
CF	Konditionsfaktor (engl. condition factor)
CH ₄ N ₂ O	Harnstoff
CV	Variationskoeffizient
d	Tag
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol, ein Fluoreszenzfarbstoff
DFI	tägliche Futteraufnahme (engl. daily feed intake)
DK	Denitrifikationskosten
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff (engl. dissolved organic carbon)
FCR	Futterquotient (engl. feed conversion ratio)
h	Stunde
HSI	Somatischer-Index der Leber (engl. hepato-somatic index)
kW	Kilowatt
kWh	Kilowattstunde
L	Liter
LC ₅₀	letale Konzentration (engl. lethal concentration)
m ³	Kubikmeter
Max	Maximum
mbar	Millibar
MBBR	Bewegtbett Biofilm Reaktor (engl. Moving Bed Biofilm Reactor)

MeOH	Methanol, CH ₄ O
mg	Milligramm
Min	Minimum
ml	Milliliter
mmol	Millimol
mV	Millivolt
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
N ₂	Stickstoffgas
N ₂ O	Distickstoffmonoxid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaNO ₃	Natriumnitrat
NH ₃	Ammoniak
NH ₄ ⁺	Ammonium
NO	Stickstoffmonoxid
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃ ⁻	Nitrat
NOB	Nitrit Oxidierende Bakterien
NOEC	Konzentration ohne beobachtbaren Effekt (engl. No Observed Effect Concentration)
NR	Nitrat Reduktion
NTU	engl. Nephelometric Turbidity Unit
O ₂	Sauerstoff
Off-Flavour	Unerwünschter Geruch / Geschmack
ORP	Oxidations-Reduktions-Potential
PHA	Polyhydroxyalkanoat
PHB	Polyhydroxybutyrat
PHBV	Poly(3-hydroxybutansäure-co-3-hydroxyvaleriansäure)

RAS	Kreislaufanlage (engl. Recirculating Aquakulture System)
RSI	Rückspülintervall
RSV	Relativer Substrat Verbrauch
SBV	Säurebindungsvermögen
SD	Standardabweichung (engl. Standard Deviation)
SGR	spezifische Wachstumsrate (engl. specific growth rate)
SID-Reaktor	Selbstreinigender-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor
SML	spezifische Migrationsgrenzwerte (engl. specific migrations limits)
SP	Substrat Preis
SSA	spezifische Oberfläche (engl. Specific Surface Area)
SSI	Somatischer-Index der Milz (engl. spleen-somatic index)
SV	Substrat Verbrauch
TAN	Gesamt Ammoniak Stickstoff (Total Ammonium Nitrogen)
TC	Gesamter Kohlenstoff (engl. Total Carbon)
TIC	Gesamter anorganischer Kohlenstoff (engl. Total Inorganic Carbon)
TN	Gesamt Stickstoff (engl. Total Nitrogen)
TOC	Gesamter organischer Kohlenstoff (engl. Total Organic Carbon)
TRO	Restoxidationsmittel (engl. total residual oxidant)
UASB	engl. Upflow Anaerobic Sludge Blanket

1 Zusammenfassung

Basierend auf den Ergebnissen aus dem vorangegangenen DBU Forschungsvorhaben AZ 28133 „Förderinitiative Aquakultur: Entwicklung eines Verfahrens zur Denitrifikation in geschlossenen Kreislaufanlagen zur Fischerzeugung unter Verwendung eines modifizierten Niedrigenergie-Moving-bed-Filters“, durchgeführt in den Jahren 2010 bis 2012, wurde der Betrieb des modifizierten Filtersystems (**Selbstreinigender-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor; SID-Reaktor**) im aktuellen Vorhaben für den stabilen und sicheren Einsatz in der Aquakultur-Kreislauftechnik weiterentwickelt und optimiert. Der von der Fa. Kunststoff-Spranger GmbH konstruierte SID-Reaktor wurde an der Gesellschaft für Marine Aquakultur (GMA) mbH an eine geschlossene marine Kreislaufanlage (Rezirkulierendes-Aquakultur-System, RAS) im Technikumsmaßstab angeschlossen.

Zu Beginn wurde die Nitrat Entfernung durch den SID-Reaktor in einer marinen Kreislaufanlage untersucht. Die Effekte von unterschiedlichen hydraulischen Retentionszeiten (HRZ), Rückspül-Intervallen (RSI) und Kohlenstoff zu Stickstoff Verhältnissen (C/N-Verhältnis) wurden in einem konsekutiven experimentellen Ansatz im Hinblick auf Wasserqualität und Denitrifikationsleistung untersucht. Während der ersten Testserie wurden drei unterschiedliche HRZ geprüft. Es konnte gezeigt werden, dass eine HRZ von 2 Stunden in höchster absoluter Denitrifikationsrate ($497 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper), aber in geringer relativer Denitrifikationseffizienz von 64% resultierte. Eine HRZ von 6 Stunden hatte hingegen die höchste relative Denitrifikationseffizienz von 81%, aber eine niedrigere absolute Denitrifikationsrate ($253 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper) zur Folge. Während der zweiten Testserie wurden vier unterschiedliche RSI untersucht. Es war ersichtlich, dass ein RSI alle 10 Minuten in einer geringen Denitrifikationseffizienz von 29% resultierte, wobei ein RSI alle 90 Minuten in einem gestiegenen Wartungsaufwand resultierte. Insgesamt zeigten RSIs alle 30 bis 60 Minuten die besten Ergebnisse. Während der dritten Testserie wurden sieben C/N-Verhältnisse getestet, wobei Methanol als Kohlenstoffquelle genutzt wurde. Die Ergebnisse zeigten, dass ein C/N-Verhältnis von 2,3 ausreichend war, um eine optimale Denitrifikationsleistung zu erzielen. Eine Über- und Unterdosierung führte hingegen zu einer Verschlechterung der Wasserqualität.

Generell konnte kein negativer Effekt des SID-Reaktors auf die Bakterienpopulation und -aktivität des aeroben nitrifizierenden Bewegtbett Biofilm Reaktor (MBBR) der Anlage festgestellt werden. Zwar waren Änderungen in der Bakteriengemeinschaft zu beobachten, diese waren jedoch auf eine natürliche Fluktuation in der Gemeinschaft zurückzuführen. Des Weiteren konnte durch die Zunahme der Lebendzellzahl im MBBR ebenfalls kein negativer

Einfluss des SID-Reaktors auf die Bakterienvitalität festgestellt werden. Die Untersuchungen zur Bakteriengemeinschaft und -aktivität konnten zeigen, dass die Bakterienpopulationen sowohl im aeroben MBBR als auch in dem SID-Reaktor äußerst divers waren und somit zum stabilen Betrieb der gesamten Kreislaufanlage beitrugen. Durch das Monitoring der Bakterienaktivität konnte ein positiver Effekt des SID-Reaktors auf die bakterielle Belastung des Haltungswassers festgestellt werden. So waren die Bakterienaktivität und damit schlussfolgernd auch die Bakterienanzahl im Haltungswasser unter dem Einsatz des SID-Reaktors reduziert. Es ist davon auszugehen, dass die versuchsbedingten immer wiederkehrenden Änderungen im Betrieb des SID-Reaktors zu gewissen Umstellungen der Bakteriengemeinschaft in beiden Filtersystemen führten. Generell scheint eine diverse Bakterienpopulation in einem Filtersystem von Vorteil zu sein, da diese auch kurzfristige Umstellungen des Reaktors ermöglicht und zu vernachlässigbar kurzen Unterbrechungen im Denitrifikationsprozess führt.

Die Auswirkungen von Nitrat auf Leistungs- und Gesundheitsparameter von Europäischen Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) wurden ebenfalls untersucht. Die Wolfsbarsche dienten dabei als eine Aquakultur-relevante, marine Modelfischart, die in RAS produziert wird. In 12 klein-skalierten, experimentellen RAS wurden die Wolfsbarsche in einem triplikaten Versuchsansatz für 10 Wochen vier unterschiedlichen Nitratkonzentrationen zwischen 0 und 500 mg L⁻¹ ausgesetzt. Am Ende des Versuches waren Endgewicht, Endlänge, Konditionsfaktor, Futterverwertung und der Somatische-Index der Milz (SSI) durch die getesteten Nitratkonzentrationen weitestgehend unbeeinflusst. Des Weiteren waren spezifische Wachstumsraten und die Mortalität ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Versuchsgruppen. Jedoch war bei hohen Nitratkonzentrationen ein Trend zu geringeren spezifischen Wachstumsraten und steigender Mortalität zu erkennen. Die Ergebnisse zeigen eine signifikant negative Korrelation von dem Somatischen-Index der Leber und Futteraufnahme in Zusammenhang mit steigenden Nitratkonzentrationen. In dieser Studie konnte die Empfindlichkeit von Wolfsbarschen gegenüber Nitrat, im Vergleich zu anderen Fischarten, als gering eingeschätzt werden. Dennoch kann im Fall von empfindlicheren Entwicklungsstadien oder anderen Fischarten eine Nitrat Entfernung durch Denitrifikationsreaktoren unabdingbar sein.

Basierend auf den berechneten Methanol-Äquivalenten wiesen Abwässer aus dem Proteinabschäumer, als auch aus dem Trommelsiebfilter zu geringe Kohlenstoffkonzentrationen auf, um Methanol als externe Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation im SID-Reaktor zu ersetzen. Eine direkte Nutzung von endogenem Kohlenstoff

aus der Anlage zur Induktion der Denitrifikation war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, sodass weiterhin externe Kohlenstoffquellen eingesetzt wurden.

Des Weiteren wurde untersucht, ob Methanol als flüssige Kohlenstoffquelle durch einen biologisch abbaubaren Kunststoff aus Polyhydroxyalkanoat (PHA) ersetzt werden kann. Das genutzte PHA Granulat fungierte dabei gleichzeitig als Aufwuchskörper und feste Kohlenstoffquelle. Der Versuch wurde mit drei Süßwasser-RAS (1 m³), besetzt mit Zandern (*Sander lucioperca*), durchgeführt. Das erste RAS fungierte als Kontrolle und wurde ohne ein Denitrifikationssystem betrieben. Das zweite RAS wurde mit einem Methanol betriebenen SID-Reaktor ausgestattet. An das dritte RAS wurde ein PHA betriebener SID-Reaktor angeschlossen. Während des Versuches wurden Wasserqualitätsparameter aller drei RAS dokumentiert und verglichen. Des Weiteren wurde die Denitrifikationsleistung der zwei SID-Reaktoren verglichen. Wenn PHA als Kohlenstoffquelle genutzt wurde, waren Werte für Trübung, Gesamtammonium, Nitrit und für gesamt organischen Kohlenstoff geringer, als bei der Verwendung von Methanol. Außerdem hatte der Einsatz von beiden SID-Reaktoren im Vergleich zur Kontrolle einen Anstieg der Alkalinität und des pH-Wertes zur Folge, sodass eine 50%ige Einsparung von Alkalinitätssupplementen möglich war. Beim Gebrauch von PHA als Kohlenstoffquelle wurde eine relative Denitrifikationseffizienz von 40% Nitratentfernung erzielt. Beim Einsatz von Methanol als Kohlenstoffquelle wurde eine relative Denitrifikationseffizienz von 98% Nitratentfernung erzielt. Im Hinblick auf die absolute Denitrifikationsrate wurden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen dem PHA und dem Methanol betriebenen SID-Reaktor festgestellt. Grundsätzlich zeigten die Ergebnisse, dass das Funktionsprinzip des SID-Reaktors, der üblicherweise mit einer flüssigen Kohlenstoffquelle betreiben wird, auch für den Einsatz mit einer festen Kohlenstoffquelle geeignet ist.

Der Einfluss der Denitrifikationsprozesse des SID-Reaktors auf Geschmack und Geruch der Fischfilets wurde ebenfalls in einem Versuch evaluiert. Die Ergebnisse des Versuches zeigten, dass der Betrieb eines SID-Reaktors keinen negativen Einfluss auf den Geschmack und Geruch der Filets hatte. Die im SID-Reaktor für die Reduktion von Nitrat verantwortlichen Bakterien produzierten somit selbst scheinbar keine oder geringe Mengen an Off-Flavour verursachenden Substanzen. Generell zeigt sich ein tendenziell positiver Einfluss der SID-Reaktoren auf die Filetqualität. Der SID-Reaktor kann somit indirekt durch die Reduktion von Off-Flavour die Betriebskosten einer Anlage minimieren, wenn das Hältern der schlachtreifen Fische im sauberen Wasser verkürzt oder komplett ausgelassen werden kann.

Generell ist der Einsatz des SID-Reaktors unter Berücksichtigung der laufenden Kosten als wirtschaftlich Rentabel anzusehen. Um das tatsächliche Kosteneinsparpotential durch einen SID-Reaktor zu ermitteln, wird jedoch empfohlen eine detaillierte Kosten-Nutzen-Analyse unter der Berücksichtigung der kultivierten Fischart, aller am jeweiligen Standort kritischen Faktoren und Anschaffungskosten separat durchzuführen.

2 Vorwort

2.1 Aquakultur- Produktionssysteme

Aquakultur-Produktionssysteme lassen sich anhand ihrer Produktionsintensität pro Wasservolumen in vier Kategorien einteilen: extensiv, semi-intensiv, intensiv und super-intensiv (Lekang 2013, Bregnballe 2015). Jedes dieser Aquakultur-Produktionssysteme hat seine Vor- und Nachteile. So zeichnen sich extensive Produktionssysteme, wie beispielsweise Teiche, durch ein typischerweise niedriges technologisches Niveau und somit einen geringen Energiebedarf aus. Dabei wird der produzierte Fisch bei niedrigen Dichten gehalten, und die Eingriffe des Menschen beschränken sich hauptsächlich auf die Erhaltung des Wasserlebensraums und den Fischbestand. Extensive Produktionssysteme haben jedoch durch diese Umstände auch einen geringen Ertrag pro Wasservolumen. Im Vergleich dazu werden in super-intensiven Produktionssystemen durch ein komplexes Management und einen hohen technologischen Aufwand höhere Besatzdichten erzielt und ermöglichen damit eine höhere Produktion pro Wasservolumen. Dabei wird durch die Kontrolle der meisten Umweltbedingungen, Besatzmanagement und artifizielle Futtermittel die Produktivität dieser Systeme gesteigert. In super-intensiven Anlagen bleibt das Wasser in einem geschlossenen Kreislauf und wird mithilfe von Wasseraufbereitungsanlagen wiederverwendet, sodass der verfügbare Platz und die Wasserressourcen wesentlich effizienter genutzt werden können. Diese nahezu geschlossenen Rezirkulierenden-Aquakultur-Systeme (RAS) sind von der Umwelt isoliert und ermöglichen somit die vollständige Kontrolle der Umweltbedingungen unter höchstem technologischem Aufwand. Super-intensive Systeme sind daher aufgrund der Investition und des hohen Energiebedarfs der verwendeten Technologie in der Regel mit hohen Kosten verbunden.

Aufgrund der hocheffizienten Nutzung von Wasser in super-intensiven RAS sammeln sich systembedingt metabolische Endprodukte von Organismen im Wasser an. Bei Fischen führen die Verdauung und das Verstoffwechsell von stickstoffhaltigen Molekülen wie Proteinen und anderen essentiellen Nahrungsbestandteilen zu einer Stickstoffausscheidung (Wright & Anderson 2001). Diese stickstoffhaltigen Ausscheidungsprodukte können sich im System anreichern und bei bestimmten Konzentrationen die Gesundheit der gezüchteten Fischarten gefährden (Camargo et al. 2005, van Bussel et al. 2012, Schram et al. 2014, Davidson et al. 2017).

2.2 Stickstoff in Aquakultur-Systemen

Bei Fischen ist das primäre Endprodukt des metabolischen Abbaus von stickstoffhaltigen Verbindungen aus den Futtermitteln vor allem Ammonium (NH_4^+). Dieses wird primär über die Kiemen freigesetzt (Wright & Anderson 2001). Ammonium wird von Bakterien im ersten Schritt der Nitrifikation (Abbildung 1) zu Nitrit (NO_2^-) und im zweiten Schritt zum Nitrat (NO_3^-) metabolisiert. In natürlichen aquatischen Lebensräumen tritt normalerweise keine übermäßige Stickstoffanreicherung in Form von Nitrat auf. Eine große Anzahl von Organismen ist in der Lage, die biologische Nitratentfernung entweder über assimilatorische oder dissimilatorische Pfade durchzuführen. Ein dissimilatorischer Weg ist die Denitrifikation (Abbildung 1). Denitrifikation, ein katabolischer Stoffwechselweg, ist definiert als der mikrobielle Prozess der schrittweisen Reduktion von Nitrat (NO_3^-) und oder Nitrit (NO_2^-) zu Stickstoffmonoxid (NO), Distickstoffmonoxid (N_2O) und Stickstoff (N_2). Nur unter anoxischen Bedingungen und wenn eine organische Kohlenstoffquelle ausreichend verfügbar ist, wechseln fakultative anaerobe Bakterien von der aeroben auf die anaerobe Atmung unter Verwendung der Kohlenstoffquelle als Elektronendonator und Nitrat als Elektronenakzeptor.

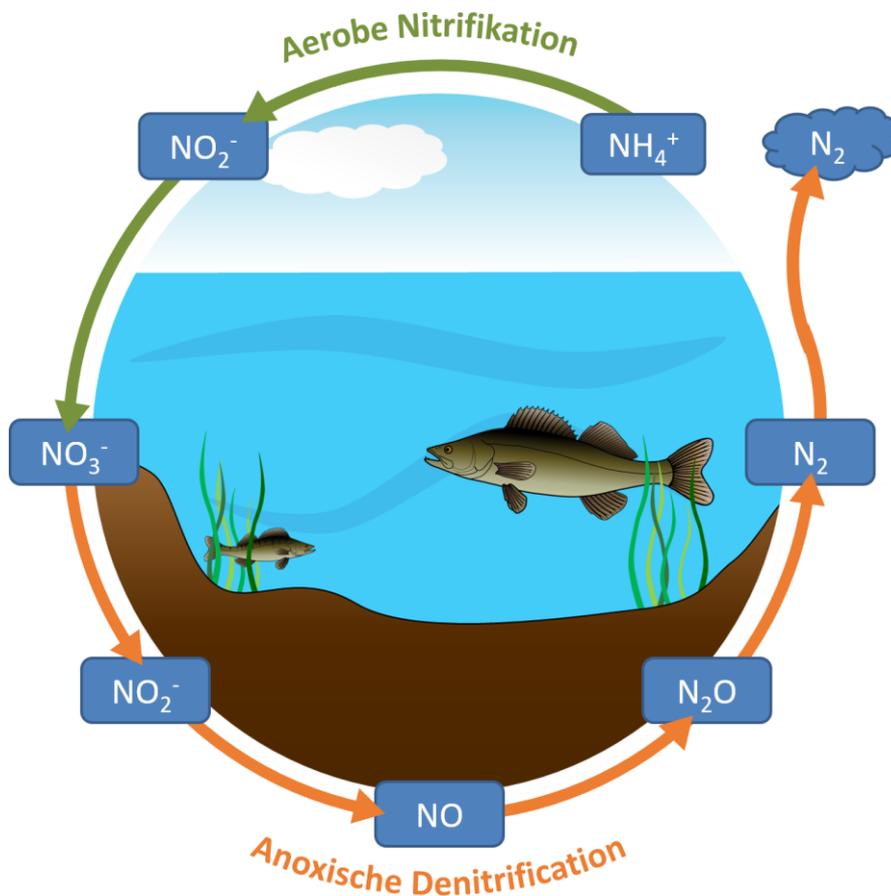


Abbildung 1: Vereinfachtes Schema der Nitrifikation und Denitrifikation in aquatischen Habitaten.

Eine große Anzahl von Mikroorganismen ist zur Denitrifikation befähigt, daher handelt es sich um einen allgegenwärtigen Prozess, der in terrestrischen und aquatischen Ökosystemen vorkommt. Denitrifikation tritt in tropischen und gemäßigten Böden, in natürlichen und intensiv bewirtschafteten Ökosystemen, in Meeres- und Süßwasserumgebungen, in Kläranlagen und in Aquiferen auf (Skiba 2008). Während der Denitrifikation wird eine Nettoerduktion von Stickstoff erreicht, da gasförmige Stickstoffverbindungen (N_2O und N_2) das Gewässer verlassen und in die Atmosphäre emittieren können.

In intensiven Aquakulturanlagen finden normalerweise keine Denitrifikationsprozesse statt, da typischerweise die erforderlichen Umgebungsbedingungen nicht vorliegen (z.B. anoxische Bedingungen und eine ausreichende Menge an organischem Kohlenstoff). In Kreislaufanlagen werden durch hohe Besatzdichte und artifizielle Futtermittel die Produktivität und somit die Erträge des Systems erhöht. Dies ist nur bei vollständiger Kontrolle der Umgebungsbedingungen möglich, wobei eine hohe Sauerstoffsättigung und eine geringe organische Belastung im Wasser sichergestellt werden, welche Denitrifikationsprozesse verhindern. Infolge der gehemmten Denitrifikation und des begrenzten Wasseraustauschs sammelt sich folglich Nitrat in den Kreislaufanlagen an.

2.3 Nitrat in Kreislaufanlagen

Nitrat zeigt bei artspezifischen Konzentrationen negative Auswirkungen auf die Gesundheit und das Wachstum von Fischen (Scott & Crunkilton 2000, Shimura et al. 2004, McGurk et al. 2006, van Bussel et al. 2012, Schram et al. 2014, Torno et al. 2018). Einige der bislang beschriebenen negativen Auswirkungen sind Methämoglobinämie, Störungen des Hormonsystems und allgemeine histologische Schäden, wie zum Beispiel Schäden an Kiemen, Darmampullen, Leber und Nieren. Darüber hinaus beeinträchtigt Nitrat die Futtermittelverwertung, den Konditionsfaktor und den Somatischen-Index der Milz (SSI).

Da Nitrat nachweislich negative Auswirkungen auf Fische hat und eine natürlich vorkommende biologische Nitratentfernung normalerweise nicht in RAS vonstattengeht, ist eine artifizielle Nitratentfernung bei der Fischproduktion in geschlossenen RAS von entscheidender Bedeutung. Aktuell sind unterschiedliche Denitrifikationssysteme für Kreislaufanlagen vorhanden (van Rijn et al. 2006), die alle jedoch mit verschiedenen systemspezifischen Herausforderungen verbunden sind. Schwierigkeiten, die bei Belebtschlamm-Systemen auftreten, sind beispielsweise Probleme bei der Schlammabscheidung (Tandoi et al. 2017). UASB-Reaktoren (engl. Upflow Anaerobic Sludge Blanket) können bei einem Systemstart eine vergleichsweise lange Inkubationsphase

der Mikroorganismen erfordern (Liu et al. 2003, Yang et al. 2003). Festbettreaktoren müssen in regelmäßigen Abständen gespült werden, da sie dazu neigen zu verschlammten. Die wiederkehrende Reinigung dieser Reaktoren führt zu zusätzlicher Wartungsarbeit und hat durch die Unterbrechungen im Prozess unregelmäßige Denitrifikationsraten zur Folge (Sauthier et al. 1998). Wirbelbett-Reaktoren müssen dauerhaft bei einer stabilen Durchflussrate betrieben werden, um die richtige Bettausdehnung aufrechtzuerhalten, was zu hohen Energiekosten durch zusätzliche Wasserpumpen führt (Summerfelt 2006). Autotrophe Schwefelreaktoren können den pH-Wert senken und die Sulfat Konzentration im Haltungswasser erhöhen (Oh et al. 2001). Beides kann die Fischgesundheit negativ beeinflussen. Darüber hinaus sind konventionelle heterotrophe Denitrifikationsreaktoren oft mit Herausforderungen verbunden, wie beispielsweise der exakten Dosierung einer Kohlenstoffquelle (z. B. Methanol), die für die Denitrifikation zwingend erforderlich ist. Diese Kohlenstoffquellen können jedoch potentiell gefährlich sein.

Somit gibt es aktuell im Bereich der Aquakultur einen Bedarf an neuartigen Denitrifikationssystemen, die einen sicheren, effizienten und einfach durchzuführenden Denitrifikationsprozess bei niedrigen Wartungskosten ermöglichen, um so eine zukunftsweisende Aquakultur-Produktionsform zu gewährleisten. Ein solches neuartiges Denitrifikationssystem, der **S**elbstreinigende-**I**nnertgas-**D**enitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor; Abbildung 2; patentiert von Müller-Belecke & Spranger 2014) wurde erstmals in einem von der DBU geförderten Projekt (AZ 28133; Müller-Belecke et al. 2013) beschrieben. In dieser Studie zeigten erste Versuche vielversprechende Ergebnisse in Süßwasser RAS, die dem SID-Reaktor ein hohes Potenzial eines einfach zu verwendenden, sicheren und effizienten Denitrifikationssystems zuschreiben.

Der Aufbau des SID-Reaktors basiert auf einem kombinierten Funktionsprinzip eines Festbett- sowie eines Bewegtbett-Biofilmreaktors (Müller-Belecke et al. 2013). Der SID-Reaktor ist mit schwimmenden Aufwuchskörpern gefüllt, die 60% des Wasservolumens des Reaktors ausmachen. Heterotrophe denitrifizierende Bakterien besiedeln die Aufwuchskörper und wandeln Nitrat in inneres Stickstoffgas um (dissimilative Nitratreduktion). Um anoxische Bedingungen zu ermöglichen, ist die Reaktorkammer selbst mit einer gasdichten oberen Abdeckung verschlossen, welche den Sauerstoffeintrag durch die Umgebungsluft verhindert. Zusätzlich sammelt sich das während der Denitrifikation erzeugte Stickstoffgas im oberen Teil des Reaktors an, so dass sich eine mit Stickstoffgas angereicherte Gasblase bildet. Innerhalb eines definierten Zeitintervalls werden die Aufwuchskörper aufgewirbelt. Eine Seitenkanal-Vakuumpumpe zwingt das innere sauerstoffarme Gas aus dem oberen Teil des Reaktors nach unten in den SID-Reaktor und

versetzt die Aufwuchskörper somit in Bewegung. Ziel ist es, ein Verstopfen der Aufwuchskörper durch exzessives Bakterienwachstum zu verhindern (Selbstreinigungseffekt des SID-Reaktors). Eine kleine Öffnung an der Oberseite des Reaktors lässt übermäßiges Stickstoffgas austreten und ermöglicht außerdem einen Druckausgleich beim Betrieb der Seitenkanal-Vakuumpumpe. Weitere Bestandteile des SID-Reaktors sind ein Behälter für eine Kohlenstoffquelle und eine peristaltische Dosierpumpe, welche die Kohlenstoffquelle ständig dem in den SID-Reaktor einströmenden Wasser zuführt.

3 Kurzfassung des Gesamtvorhaben

Aufgrund der begrenzten Ertragsfähigkeit der natürlichen Fischbestände gewinnt Aquakultur stetig an Bedeutung. Eine ressourcen- und umweltschonende Produktionsform bietet die Aquakultur im geschlossenen Wasserkreislauf. Die dabei im Zuge der Nitrifikation auftretende kontinuierliche Anreicherung von toxischem Nitrat stellt jedoch noch immer einen wesentlich limitierenden Faktor für eine weitere Reduktion des Wasseraustauschs und somit des Energieverbrauchs und der Kostensenkung, sowie der Nährstoff-Emissionen dar. Eine effektive Nitrat-Eliminierung in Form eines effizienten Denitrifikationsverfahrens ist daher von großer Bedeutung. Konventionelle Denitrifikationsverfahren weisen bislang bei der Anwendung in der Fischzucht immer noch diverse Schwierigkeiten auf, die einen stabilen und effizienten Betrieb limitieren.

Im Rahmen des beantragten Vorhabens wurde ein neues, innovatives Denitrifikationsverfahren für den stabilen und sicheren Einsatz in der Aquakultur-Kreislauftechnik weiterentwickelt und optimiert. Ziel des Projektes war die Etablierung einer innovativen Methode zur stabilen, sicheren und effizienten Nitrat-Entfernung in marinen wie auch limnischen Aquakultur-Kreislaufsystemen. So wurden neben einer verfahrenstechnischen Optimierung des Reaktors auch wasserchemische, biologische, technische und ökonomische Aspekte berücksichtigt. Des Weiteren wurde geprüft, ob das entwickelte Verfahren auch unter Salzwasserbedingungen einsetzbar ist und somit das Anwendungsgebiet mariner Aquakultursysteme erschließbar ist.

Die Etablierung eines stabil arbeitenden, effizienten Denitrifikationsverfahrens zur Nitrat-Eliminierung in der geschlossenen Kreislauf-Aquakultur ist nicht nur aus Sicht des Umweltschutzes von entscheidender Bedeutung, sondern trägt zudem zur Rentabilitätssteigerung kreislaufgeführter Verfahren bei. Dadurch kann eine wichtige Voraussetzung für die weitere Etablierung dieser umweltschonenden aber bislang noch relativ kostenintensiven Produktionsform erfüllt werden.

4 Arbeitspakete

Das Forschungsvorhaben DENIOPT wurde in zwei Phasen mit insgesamt 3 Jahren Laufzeit unterteilt, in denen folgende 4 Arbeitspakete bearbeitet wurden.

Arbeitspaket 1 - Aufbau und Vorbereitung

Unter Berücksichtigung anlagenspezifischer Kriterien wurde das zu testende Denitrifikationsverfahren in Bezug auf seine technische Spezifikation und Dimensionierung an den Versuchskreislauf vorangepasst. Darüber hinaus erfolgte eine von der Kunststoff-Spranger GmbH betreute Einarbeitung der am Projekt beteiligten Mitarbeiter in die einzelnen Prozesse des Denitrifikationsverfahrens mit den jeweiligen Einstellmöglichkeiten. Der SID-Reaktor wurde unter fachgerechter Anleitung an eines der großen Kreislaufsysteme im Technikumsmaßstab (40 m³ Wasservolumen) der GMA installiert. Die Inbetriebnahme des Reaktors erfolgte unter Dokumentation des Startprozesses und der Auswirkung auf wasserchemische Parameter. Aus den Beobachtungen wurde eine Empfehlung für einen optimalen Startprozess abgeleitet und im erarbeiteten Betriebshandbuch niedergeschrieben. In mehreren Testläufen und Vorversuchen wurden erste systemspezifische Kenngrößen wie Verweilzeit, hydraulische Beaufschlagung, Menge an zudosiertem Kohlenstoff, etc. erarbeitet. Diese Testläufe wurden bereits in Meerwasser durchgeführt.

Arbeitspaket 2 - Verfahrenstechnische Anpassung des SID-Reaktors für die marine Aquakultur

Um ebenfalls das Anwendungsgebiet mariner Aquakultursysteme für das entwickelte Denitrifikationsverfahren erschließen zu können, wurde im Rahmen des Projektes der Betrieb des Denitrifikationsreaktors unter Salzwasserbedingungen dokumentiert. Hierbei wurde der SID-Reaktor in einen der großen Salzwasser-Kreisläufe der GMA integriert, im Dauerbetrieb unter marinen Produktionsbedingungen getestet und hinsichtlich seiner Betriebsparameter für einen optimierten Betrieb angepasst. Auf Basis eines mikrobiologischen und wasserchemischen Monitorings wurden optimale Verfahrenseinstellungen in Bezug auf hydraulische Retentionszeit, Rückspül-Intervalle, Kohlenstoff-Dosierung, etc. erarbeitet. Zur Beurteilung der Effekte wurden relevante Wasserqualitätsparameter wie O₂, CO₂, pH, Alkalinität, Trübung, Redoxpotential, Stickstoffverbindungen (TAN, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N), Kohlenstoffverbindungen (TC, TOC, IC), etc., aber auch mikrobiologische Parameter (Gesamtakterien-Zellzahl), bakterielle Artzusammensetzung des Denitrifikations-Biofilms, sowie Gesundheits- und Leistungsparameter der kultivierten Fischart (z.B. Krankheitsbefall, Futteraufnahme, etc.) analysiert und ausgewertet. Ein abschließendes Ziel dieser Untersuchung stellt die

Ermittlung relevanter Bemessungsgrundlagen wie die maximal erzielbare Denitrifikationsrate, das daraus resultierende Wasser-Einsparpotential und das Potential zur Rückgewinnung von Härte-Äquivalenten dar. Dadurch ist eine abschließende ökonomische Bilanzierung des Verfahrens in marinen Aquakultur-Kreislaufsystemen möglich.

Arbeitspaket 3 - Untersuchungen zu den Auswirkungen der Denitrifikation auf Wasserchemie und Mikrobiozönose im System

Um das Risiko einer möglichen Beeinträchtigung durch potentielle denitrifikationsbedingt-hervorgerufene mikrobiologische oder wasserchemische Veränderungen der Wassermatrix auf die aerobe Nitrifikation im Biofilter sowie auf die Fischgesundheit zu minimieren, wurde im Rahmen eines Langzeitbetriebs ein Monitoring relevanter mikrobiologischer und wasserchemischer Parameter zum besseren Verständnis möglicher Wechselwirkungen in Süß- und Salzwasser durchgeführt. Neben der analytischen Erfassung relevanter Stoffflüsse und der Ermittlung der Bakterien-Aktivität im Biofilter anhand standardisierter Aktivitätstests, wurden mögliche Veränderungen in der Bakteriengemeinschaft der Biofilme und des Wasserkörpers mittels mikrobiologisch-molekularbiologischer Methoden aufgedeckt und dominante Mikroorganismen identifiziert und quantifiziert. Des Weiteren wurde die Rolle des denitrifizierenden SID-Reaktors als mögliche Quelle oder Senke für geschmacksbeeinträchtigende Substanzen (engl.: Off-Flavour) untersucht und beurteilt.

Arbeitspaket 4 - Untersuchungen zur Eignung flotierenden Granulats auf Basis biologisch abbaubarer Polymere

Um eine stets bedarfsgerechte Dosierung der Kohlenstoff-Quelle gewährleisten und eine Fehldosierung mit möglicherweise negativen Folgen für die kultivierten Organismen ausschließen zu können, wurde der Einsatz biologisch abbaubarer Polymere als Filtersubstrat zur kombinierten Bereitstellung von Bakterienaufwuchsfläche und Kohlenstoff-Quelle getestet. Besonderer Fokus wurde hierbei auf das biologisch abbaubare Polyhydroxyalkanoat (PHA) gelegt. Um die Verwendung der biologisch abbaubaren Polymere als sichere und effiziente Kohlenstoff-Quelle einschätzen zu können, wurden Vergleichsuntersuchungen unter Verwendung der klassischen Kohlenstoff-Quelle Methanol durchgeführt.

Zielgruppe der Ergebnisse des beantragten Vorhabens

Haupt-Zielgruppe der Ergebnisse sind insbesondere Unternehmen, die geschlossene Kreislaufsysteme konzipieren, bauen und verkaufen, sowie die Betreiber entsprechender Aquakultur-Kreislaufanlagen. Die erzielten Ergebnisse des beantragten Vorhabens wurden in unterschiedlicher Form für verschiedene Zielgruppen öffentlich präsentiert. Die Kunststoff-Spranger GmbH konnte die gewonnenen Ergebnisse nutzen, um den SID-Reaktor als ein Produkt zu etablieren und Produktionswachstum zu erzielen. Die GMA konnte das gewonnene Know-how in Form von Wissens- und Technologietransfer sowohl Wissenschaft als auch Wirtschaft aufbereitet zur Verfügung stellen.

5 Tierwohl und Tiergesundheit

Die jahrelange Erfahrung der GMA Mitarbeiter in der Aufzucht und Haltung von aquatischen Organismen in Kreislaufanlagen gestattet einen verantwortungsvollen Umgang mit den Versuchstieren, wobei Tierwohl und -gesundheit während der gesamten Projektzeit wichtige Aspekte darstellten. Durch den an der GMA tätigen Tierschutzbeauftragten, eine Tierärztin und einen Fischwirt bzw. Fischwirtin waren zu jeder Zeit fachkundige Ansprechpartner vor Ort, die alle laufenden Versuche begleiteten. Ferner waren alle Versuchskreisläufe an eine Alarmierung angeschlossen, die die zentralen Parameter in den Kreisläufen überwacht und bei abweichenden Werten oder im Notfall (Stromausfall etc.) den Bereitschaftsdienst, der jederzeit erreichbar ist, alarmierte.

Generell richteten sich die zentralen Wasserparameter im Projekt nach Werten, die für die Haltung von Zandern (*Sander lucioperca*) und Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) empfohlen werden (Moretti et al. 1999a, Dülger et al. 2012). Die Temperatur des Haltungswassers wurde während des gesamten Versuchszeitraumes in einem für die jeweilige Spezies optimalen Bereich gehalten. Durch die Zugabe von technischem Sauerstoff lag der Sauerstoffgehalt im Haltungswasser >100% Sättigung und durch die Zugabe von Natriumbikarbonat (NaHCO_3) wurde ein pH-Wert von 7,5 realisiert. Alle zentralen Wasserparameter wurden in der täglichen Tagesroutine erfasst, sodass eine schnelle Reaktion auf sich verändernde Haltungsbedingungen möglich war. Somit konnten Probleme in der Haltungstechnik schnell erkannt und behoben werden. Zudem wurden täglich Futteraufnahme und das Wachstum der Versuchsfische regelmäßig dokumentiert, um so weitere Rückschlüsse auf das Tierwohl zu ermöglichen.

6 Material und Methoden

6.1 Der Selbstreinigende-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor)

SID-Reaktor

Der Aufbau des SID-Reaktors basiert auf einem kombinierten Funktionsprinzip eines Festbett- sowie eines Bewegtbett-Biofilmreaktors (Müller-Belecke et al. 2013). Der Reaktor (Abbildung 2) hat ein Gesamtvolumen von 0,85 m³, während der Wasserstand im Reaktor auf 0,75 m³ eingestellt war. Der SID-Reaktor wurde mit 0,45 m³ schwimmenden Aufwuchskörpern gefüllt. Die spezifische Oberfläche der Aufwuchskörper, die den Bakterien zur Besiedlung zur Verfügung stand, betrug 386,5 m². Denitrifizierende Bakterien wandeln Nitrat nach der folgenden vereinfachten chemischen Reaktionskette in inertes Stickstoffgas um (dissimilative Nitratreduktion):



Die Reaktorkammer selbst ist mit einer gasdichten Abdeckung verschlossen, um einen Sauerstoffeintrag durch die Umgebungsluft zu verhindern, sodass anoxische Bedingungen sichergestellt werden. Zusätzlich sammelt sich das während der Denitrifikation gebildete Stickstoffgas im oberen Teil der Reaktorkammer. Innerhalb eines definierten Zeitintervalls werden die Aufwuchskörper aufgewirbelt. Eine Seitenkanal-Vakuumpumpe (0,55 kW, 120 m³ h⁻¹ Gasstrom, 100 mbar, Typ: SV 8.130/1-01, Gebr. Becker GmbH, Wuppertal, Deutschland) befördert das sauerstoffarme Gas aus dem oberen in den unteren Reaktorraum und setzt so die Aufwuchskörper in Bewegung. Das Umwälzen der Aufwuchskörper verhindert ein durch Bakterienwachstum hervorgerufenes Verstopfen (Selbstreinigungseffekt des SID-Reaktors). Eine kleine Öffnung (Ø = 0,5 cm) an der Oberseite des Reaktors ermöglicht dem überschüssigen Stickstoffgas aus dem Reaktor auszutreten und sorgt zudem für einen Druckausgleich, wenn die Seitenkanal-Vakuumpumpe läuft.

Weitere Bestandteile des SID-Reaktors waren ein Behälter (20 L) für eine Kohlenstoffquelle und eine peristaltische Dosierpumpe (Kronos 50, Seko Deutschland GmbH, Mainz-Kastel, Deutschland), die dem Zulaufwasser des SID-Reaktors ständig die Kohlenstoffquelle zuführt. Der Durchfluss wird durch ein Membranventil mit einem digitalen Durchflussmesser (Signet 2551, Georg Fischer AG, Schaffhausen, Schweiz) eingestellt.

Für die Untersuchungen wurde der SID-Reaktor in eine bestehende großskalige Kreislaufanlage an der Gesellschaft für Marine Aquakultur (GMA) mbH integriert (Abbildung 4).

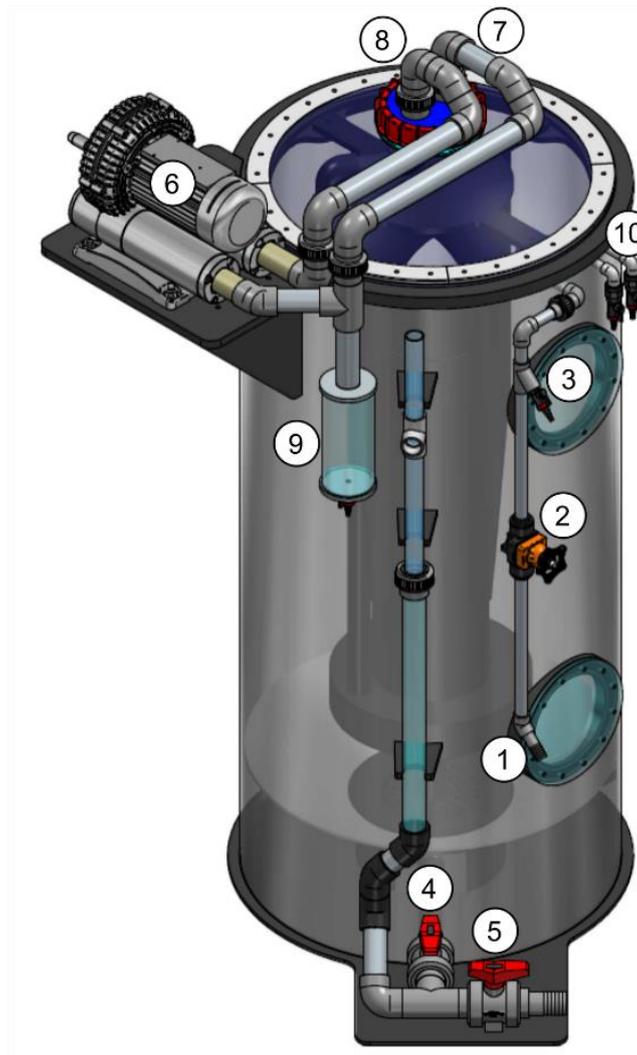


Abbildung 2: Der Selbstreinigende-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor, 0,75 m³). Wasser-Zulauf (1), Durchflussregler (2), Methanol-Zulauf (3), Wasser-Ablauf (4), Schlamm-Ablass (5), Seitenkanal Vakuumpumpe (6) mit Zulauf (7) und Ablauf (8), Kondenswasserfalle (9), und Druckablass-Öffnung (10).

Kleinskaliger SID-Reaktor

Im Rahmen des Projektes wurden zur Beantwortung einiger Fragestellungen kleinskalige Versionen des SID-Reaktors (Abbildung 3) verwendet. Diese Reaktoren haben ein Gesamtvolumen von jeweils 27 Litern. Der Wasserstand in den Reaktoren ist auf 22 Liter eingestellt. Wie bei dem großskaligen SID-Reaktor ist jede Reaktorkammer mit einer gasdichten Abdeckung verschlossen, um den Sauerstoffeintrag durch Umgebungsluft zu verhindern, sodass anoxische Bedingungen ermöglicht werden. Des Weiteren kann sich so das während der Denitrifikation gebildete Stickstoffgas im oberen Teil der Reaktorkammer ansammeln. Innerhalb eines definierten Zeitintervalls werden die Aufwuchskörper aufgewirbelt um ein Verstopfen der Aufwuchskörper durch Bakterienwachstum zu verhindern (Selbstreinigungseffekt des SID-Reaktors). Eine Seitenkanal-Vakuumpumpe (0,145 kW, 4,2 m³ h⁻¹, 1 bar, Typ: DTE3, Gardner Denver Thomas GmbH, Deutschland) bläst dabei das sauerstoffarme Gas aus dem oberen in den unteren Teil des SID-Reaktors und setzt die Aufwuchskörper dadurch in Bewegung. Im oberen Drittel des SID-Reaktors ist eine Gaze installiert, um das Herausspülen von Aufwuchskörpern zu verhindern. Eine kleine Öffnung ($\varnothing = 0,5$ cm) an der Oberseite des Reaktors lässt übermäßiges Stickstoffgas austreten und ermöglicht außerdem einen Druckausgleich, während die Seitenkanal-Vakuumpumpe läuft.

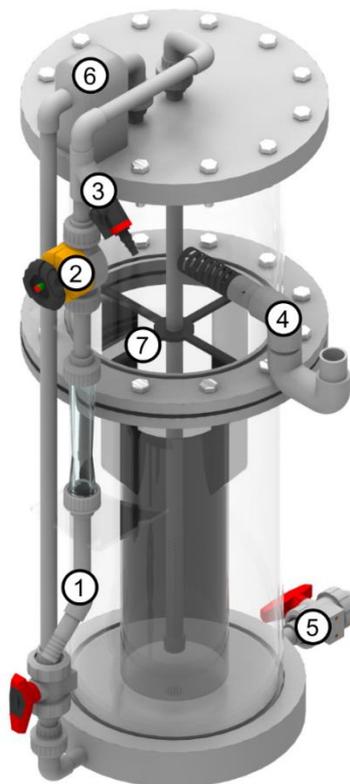


Abbildung 3: Der kleinskalige Selbstreinigende-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID-Reaktor, 0,027 m³). Wasser-Zulauf (1), Durchflussregler (2), Methanol-Zulauf (3), Wasser-Ablauf (4), Schlamm-Ablass (5), Seitenkanal Vakuumpumpe (6), und Trenngaze (7).

6.2 Versuchsanlagen

Um die Fragestellung im Rahmen des Projektes bestmöglich zu beantworten wurden insgesamt drei unterschiedliche Kreislaufanlagen für die entsprechenden Versuche genutzt. Die drei Kreislaufanlagen unterschieden sich maßgeblich durch das Anlagenvolumen und waren 40, 1 und 0,32 m³ groß.

6.2.1 Aufbau der 40 m³ Versuchskreislaufanlage

Das verwendete RAS (Abbildung 4, insgesamt 40 m³, Kunststoff-Spranger GmbH, Plauen, Deutschland) wurde mit sandfiltriertem, UV- und ozonbehandeltem Nordseewasser (Salzgehalt: 24 - 30‰) gefüllt. Das Lichtregime wurde auf 16 Stunden Licht und 8 Stunden Dunkelheit eingestellt. Wasser aus den zehn Aufzuchtanks (je 2,5 m³) wurde über einen Trommelfilter (Maschenweite 60 µm) zu einem Pumpensumpf geleitet. Um eine ausreichende Sauerstoffsättigung in den Aufzuchtanks zu gewährleisten, wurde ein Sauerstoffkegel in das RAS integriert. Für die Nitrifikation wurde ein Bewegtbett Biofilm Reaktor (engl.: Moving-Bed-Biofilm-Reaktor, MBBR, 4,5 m³ Gesamtvolumen, 25 m³ h⁻¹ Wasserstrom) mit 1,5 m³ Aufwuchskörper (HEL-X®, Durchmesser: 12 mm, Oberfläche: 859 m² m⁻³, spezifische Oberfläche (SSA): 704 m² m⁻³, Dichte: 0,95 g, Christian Stöhr GmbH & Co. Elektro- und Kunststoffwaren KG, Marktrodach, Deutschland) gefüllt. Darüber hinaus war das RAS mit einem Proteinabschäumer (Helgoland 500, 11 m³ h⁻¹ Wasserstrom, Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH, Uetze-Eltze, Deutschland) ausgestattet, welcher zusätzlich mit Ozon (C-Lasky DSI / DTI, 10 Gh-1 Ozon, AirTree, Europe GmbH, Baunatal, Deutschland) betrieben wurde. Die Wassertemperatur im RAS wurde durch einen Wärmetauscher auf 25 °C eingestellt. Der pH-Wert wurde zwischen 7,3 und 7,5 gehalten, indem dem Aufzuchtwasser Natriumhydrogencarbonat Pulver (NaHCO₃) zugesetzt wurde. Die Sauerstoffsättigung des Aufzuchtwassers wurde im Durchschnitt bei >100% (> 8 mg L⁻¹) aufrechterhalten, wodurch eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Fische, sowie der aeroben Biofiltersysteme gewährleistet wurde.

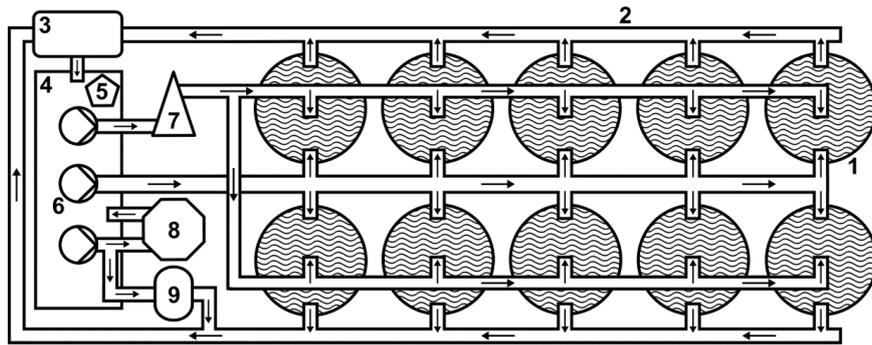


Abbildung 4:: Aufbau der 40 m³ Kreislaufanlage. Das RAS umfasst zehn 2,5 m³ Aufzuchtanks (1), den Abfluss (2), Trommelfilter (3), Pumpensumpf (4), Proteinabschäumer (5), drei Umwälzpumpen (6) und einen Sauerstoffkegel (7) einen aeroben MBBR-Nitrifikationsfilter (8) und den anoxischen SID-Reaktor (9). Der Wasserfluss wird durch Pfeile angezeigt.

6.2.2 Aufbau der 1 m³ Versuchskreislaufanlage

Im Rahmen des Projektes wurden drei Kreislaufanlagen mit einem Wasservolumen von 1 m³ verwendet (Abbildung 5, insgesamt 1 m³, Kunststoff-Spranger GmbH, Plauen). Jede Kreislaufanlage war mit einem aeroben Biofiltersystem ausgestattet. Dieses bestand aus einem Hamburger Mattenfilter (HMF), einem MBBR (0,12 m³ Gesamtvolumen), der mit 0,06 m³ Aufwuchskörper (HEL-X®, s.o.) gefüllt war. Des Weiteren war ein Proteinabschäumer (Aqua Medic Turboflotor Blue 3000, AB Aqua Medic GmbH, Bissendorf, Deutschland), betrieben mit Ozon (Ozon 300, 300 mg h⁻¹ Ozon, AB Aqua Medic GmbH, Bissendorf, Deutschland), an die Kreislaufanlagen angeschlossen. Eine UV-Desinfektion (Aqua Medic Helix Max UV 55W, AB Aqua Medic GmbH, Bissendorf, Deutschland) wurde an den Auslass des aeroben Biofiltersystems angeschlossen. Um die erforderliche Sauerstoffsättigung im Haltungsbecken einzustellen, wurde ein Sauerstoffdiffusor in den Becken installiert.

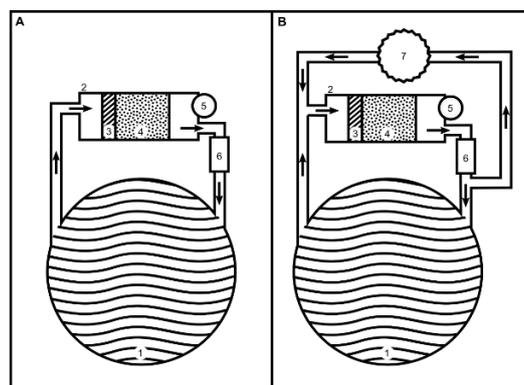


Abbildung 5: Aufbau des experimentellen Kontroll-RAS (A) und der zwei RAS, die mit einem Selbstreinigenden-Innertgas-Denitrifikationsreaktor (SID-Reaktor) ausgestattet sind (B). Jedes RAS war mit einem Aufzuchtank (1), einem Biofiltersystem (2), bestehend aus einem Hamburger-Mattenfilter (3), einem Bewegbett-Biofilmreaktor (4) und einem Proteinabschäumer (5) ausgestattet. Der Abfluss aus dem Biofiltersystem wurde durch eine UV-Desinfektionsanlage (6) geleitet. Des Weiteren waren zwei der drei RAS mit einem SID-Reaktor (7) ausgestattet. Der Wasserfluss wird durch Pfeile angezeigt.

6.2.3 Aufbau der 0,32 m³ Versuchskreislaufanlage

Wie in Abbildung 6 dargestellt, bestand jedes RAS (320 L Gesamtvolumen) aus einem Aufzuchtank (280 L; 0,7 m² Grundfläche, Kunststoff-Spranger GmbH, Plauen, Deutschland), einem HMF und einem MBBR (Kunststoff-Spranger GmbH, Plauen, Deutschland) und einem Proteinabschäumer (Modell 1AH 1100, Erwin Sander, Uetze-Eltze, Deutschland). Die Gesamtdurchflussrate betrug 500 L h⁻¹ (400 L h⁻¹ durch den MBBR und 100 L h⁻¹ durch den Proteinabschäumer) und entsprach einer Austauschrate vom 1,8-fachen des Tankvolumens pro Stunde. Die Temperatur wurde mit einem temperaturgesteuerten 500 W Heizstab (Aqua Medic, Bissendorf, Deutschland) auf 25 °C eingestellt. Der pH-Wert wurde während des gesamten Versuchszeitraums unter Verwendung von Natriumhydrogencarbonatpulver (NaHCO₃) konstant bei 7,5 gehalten. Um eine Sauerstoffsättigung von >100% sicherzustellen wurde technischer Sauerstoff verwendet. Die Photoperiode wurde auf 14 Stunden hell und 10 Stunden dunkel eingestellt.

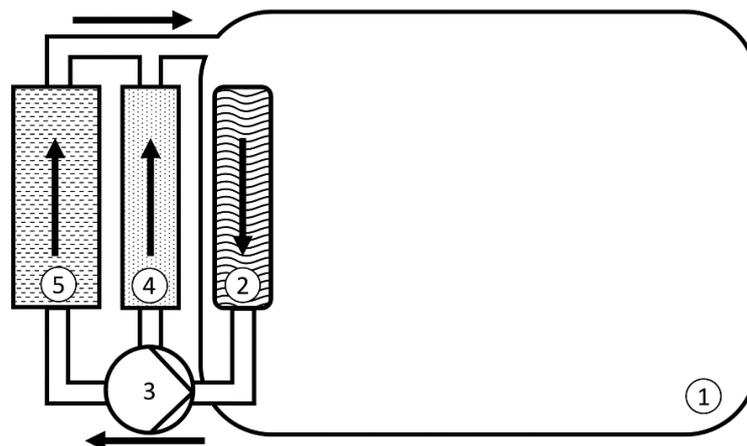


Abbildung 6: Aufbau eines der 12 verwendeten experimentellen Kreislaufanlage (RAS). 320 L Gesamtvolumen, 280 L Tankvolumen, Pfeile zeigen den Wasserfluss an. Wasser aus dem Aufzuchtank (1) passiert einen Partikelfilter (2) und wird mit einer Wasserpumpe (3) an einen Proteinabschäumer (4) und einen Bewegtbett Biofilm Reaktor (MBBR) (5) mit einer Gesamtdurchflussmenge von 500 L h⁻¹ verteilt (100 L h⁻¹ vom Proteinabschäumer und 400 L h⁻¹ vom MBBR).

6.3 Daten- & Parametererfassung

6.3.1 Wasserqualitätsanalyse

Bei allen Experimenten wurden chemische, physikalische und mikrobiologische Wasserparameter erfasst und für die Beurteilung der Funktion des Reaktors im jeweiligen Versuch ausgewertet. Darüber hinaus wurde als weiteres Bewertungskriterium die Partikeleigenschaften im SID-Reaktor Ablaufwasser fotografisch dokumentiert und bewertet. Zur Bewertung der Wasserqualitätsparameter wurden Daten sowohl für den Einlass als auch für den Auslass der SID-Reaktoren erhoben. Das Einlaufwasser entsprach dabei dem Haltungswasser der jeweiligen Kreislaufanlage.

Gesamtammoniakstickstoff (TAN, Salicylatmethode, Methode 8155, Hach Lange GmbH, Düsseldorf, Deutschland), Nitrit (NO_2^- -N, Diazotierungsmethode, Methode 8507, Hach Lange GmbH, Düsseldorf, Deutschland) und Nitrat (NO_3^- -N, Cadmium-Reduktionsverfahren, Verfahren 8171, Hach Lange GmbH, Düsseldorf) wurden photometrisch gemessen (DR 2800, Hach Lange GmbH, Düsseldorf, Deutschland). Die Trübung (NTU, PCE-TUM 20, PCE Deutschland GmbH, Meschede, Deutschland), das Säurebindungsvermögen (SBV) durch Titration von $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ Salzsäure und der Salzgehalt (HI 96822, Hanna Instruments Deutschland GmbH, Vöhringen, Deutschland) wurden ebenfalls ermittelt. Zur automatischen Datenprotokollierung wurden drei Sensoren im Auslass des SID-Reaktors installiert. Die Daten der Sauerstoffsättigung (%), Sauerstoffkonzentration (mg L^{-1}) und Wassertemperatur ($^{\circ}\text{C}$) wurden aufgezeichnet (Handy Polaris, OxyGuard International A/S, Farum, Dänemark). Ebenso wurden der pH-Wert (SenTix®41, WTW pH 3310, Xylem Analytics Deutschland Sales GmbH & Co.KG, Weilheim, Deutschland) und das Oxidations-Reduktions-Potential (ORP, GMH 5550, GHM Messtechnik GmbH, Regenstauf, Deutschland) automatisch aufgezeichnet. Zur Bestimmung von Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen in den Wasserproben wurde ein computergesteuerter TOC-Analysator verwendet, der mit einem automatischen Probennehmer ausgestattet war (SHIMADZU Corporation, TOC-LCPH/CPN). Insgesamt können sechs Kategorien von Kohlenstoffverbindungen mittels TOC-Analysator bestimmt werden: Gesamtkohlenstoff (TC), anorganischer Kohlenstoff (IC), gesamtorganischer Kohlenstoff (TOC), gelöster Kohlenstoff (DC), gelöster anorganischer Kohlenstoff (DIC), gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) und zusätzlich die Menge des Gesamtstickstoffs (TN).

6.3.2 Wachstums- und Gesundheitsparameter

Zur Beurteilung der Wachstums- und Gesundheitsparameter wurden die Fische vor und nach der jeweiligen Versuchsreihe gewogen, um die Anfangs- und Endbiomasse zu bestimmen. Darüber hinaus wurden das individuelle Gewicht und die Länge der Fische vor und nach dem Experiment bestimmt. Zur Ermittlung des Leber- und Milzgewichtes wurden die Versuchsfische tierschutzgesetzkonform betäubt, getötet und zur Messung des Leber- und Milzgewichtes sezziert. Zusätzlich wurden die Futteraufnahme und die Mortalität dokumentiert. Aus den erfassten Daten wurden die spezifische Wachstumsrate (SGR), der Futterquotient (engl. feed conversion ratio, FCR), die tägliche Futteraufnahme (engl.: daily feed intake, DFI), der Konditionsfaktor (engl.: condition factor, CF), der Somatische-Index der Leber (HSI) und der Somatische-Index der Milz (SSI) gemäß folgender Formeln bestimmt.

$$CF = \text{Individualgewicht [g]} / \text{Individuelllänge [cm]}^3 * 100$$

$$SGR [\% d^{-1}] = (\ln(\text{Biomasse Start [kg]}) - \ln(\text{Biomasse Ende [kg]})) / \text{Fütterungstage} * 100$$

$$FCR [kg kg^{-1}] = \text{Futteraufnahme gesamt [kg]} / (\text{Biomasse Ende [kg]} - \text{Biomasse Start [kg]})$$

$$DFI [\% d^{-1}] = SGR * FCR$$

$$HSI [\%] = \text{Lebergewicht [g]} / \text{Individualgewicht Ende [g]}$$

$$SSI [\%] = \text{Milzgewicht [g]} / \text{Individualgewicht Ende [g]}$$

6.3.3 SID-Reaktor Denitrifikationsleistung

Der Gesamtwirkungsgrad der Denitrifikation wird als prozentuale NO_3^- -N Reduktion beschrieben. Um die Vergleichbarkeit zu anderen Studien zu gewährleisten wird die Denitrifikationsrate in verschiedenen Einheiten angegeben. Zum einen als NO_3^- -N Reduktion in Milligramm NO_3^- -N pro Liter behandeltem Wasser und Stunde ($\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$), des Weiteren in Milligramm NO_3^- -N pro Liter behandeltes Wasser, Stunde und Kubikmeter Aufwuchskörper ($\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1} \text{m}^3$ Aufwuchskörper) und außerdem in Gramm NO_3^- -N pro Tag und Kubikmeter Aufwuchskörper ($\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ Aufwuchskörper). Die Denitrifikationsrate wurde basierend auf der Differenz zwischen der NO_3^- -N Konzentration des Einlass- und des Auslasswassers des SID-Reaktors berechnet. Die Ergebnisse für die Reduktion von Gesamtstickstoff (TN) werden auf dieselbe Weise ausgedrückt. Die TN-Reduktion wurde basierend auf den Konzentrationsunterschieden zwischen Einlass- und Auslasswasser berechnet, wobei nur TAN, NO_2^- -N und NO_3^- -N berücksichtigt wurden. Bei der Diskussion der Ergebnisse wird die Denitrifikationseffizienz in Prozent und die Denitrifikationsrate in $\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ -Aufwuchskörper diskutiert.

6.3.4 Mikrobielle Analysen

6.3.4.1 Bestimmung der Bakteriengemeinschaft

Die Bestimmung der Bakteriengemeinschaft erfolgte durch die vermicon AG (München, Deutschland). Hierzu wurden Proben, bestehend aus Biofilm an Aufwuchskörpern, in 80% Ethanol konserviert und für die Analysen verschickt. Durch die kultivierungsunabhängige VIT® Gensondentechnologie können in der Regel 95-98% der in Abwasserreinigungsanlagen vorkommenden Bakterien in sogenannte Hauptgruppen eingeteilt werden. Die Einteilung in funktionelle Bakteriengruppen (Nitrifikanten, Denitrifikanten und ANAMMOX Bakterien) erfolgte durch spezifische Analysen. Ferner wurden mittels DAPI-Färbung die Gesamtzellzahlen und die Lebendzellzahlen unter Einsatz einer umfassenden Bakterien-spezifischen Gen Sonde ermittelt. Die Quantifizierung der einzelnen Populationen in Relation zur vitalen Gesamtpopulation erfolgte im Rahmen der Fluoreszenzmikroskopie.

6.3.4.2 Bestimmung der Bakterienaktivität

Die Ermittlung der Bakterienaktivität erfolgte durch die Nutzung des BACTIQUANT® WATER Testkits (Mycometer A/S, Horsholm, Dänemark). Das Messprinzip beruht auf der Detektion der enzymatischen Aktivität in Bakterien. Das detektierte Enzym gehört zu den Hydrolasen und ist in allen großen taxonomischen Gruppen, einschließlich gram negativer, gram positiver, aerober und anaerober Bakterien vertreten. Die Analyse ist dabei nicht von Trübung, Leitfähigkeit, Härte oder pH-Wert des Wassers beeinflusst, was eine zuverlässige Messung erlaubt. Somit lässt sich durch die Bakterienaktivität in der Wasserprobe auf die tatsächliche Belastung des Wassers durch lebende Bakterien schließen.

7 Statistische Analysen

Die einzelnen Versuche der vorliegenden Studie wurden in einzigartigen experimentellen Kreislaufanlagen durchgeführt, somit basieren alle Experimente auf dem sogenannten repeated measures design (Daten aus Messwiederholungen). Die in den Tabellen angegebenen Mittelwerte und Standardabweichungen basieren auf wiederholten Messungen während der jeweiligen Versuchsphase innerhalb des gleichen Systems.

Statistische Analysen wurden unter Verwendung von IBM SPSS Statistics Version 20 (IBM Corporation, New York, USA) durchgeführt. Die Daten wurden basierend auf der graphischen Residualanalyse auf Normalverteilung und anschließend auf Varianzhomogenität unter Verwendung des Levene-Tests getestet ($p < 0,05$).

Um die Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen zu bewerten wurde bei normalverteilten varianzhomogenen Daten die ANOVA gefolgt vom posthoc Bonferroni Test ($p < 0,05$) durchgeführt. Bei nicht normal verteilten, varianzheterogenen Daten wurde ein Kruskal-Wallis-Test gefolgt von einem Dunn-Bonferroni-Post-hoc-Test ($p < 0,05$) durchgeführt, um die Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen zu bewerten.

Im Hinblick auf die Denitrifikationsleistung wurden, um Unterschiede in der Denitrifikationsrate (in $\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ Substrat) zwischen den Behandlungsgruppen zu untersuchen, t-Tests ($p < 0,05$) für normalverteilte Daten durchgeführt. Für die Nitratkonzentrationen und für die Denitrifikationseffizienz wurden Regressionslinien und die Breakpoints unter Verwendung von SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., London, United Kindom) nach dem "best fit Prinzip" bestimmt.

Um das optimale C/N-Verhältnis zu ermitteln, wurde eine segmentierte lineare Regression mit einer abhängigen Variablen (Sauerstoffkonzentration, ORP, TAN, NO_2^- -N, NO_3^- -N und TN-Reduktion) und dem unabhängigen C/N-Verhältnis durchgeführt. Statistische Analysen wurden unter Verwendung von SegReg (R.J. Oosterbaan, www.waterlog.info) durchgeführt. Die Segmentierung wurde durch die Darstellung eines Breakpoints durchgeführt, was zu einem broken-line Diagramm führt. Die Berechnung des optimalen "Breakpoints" basierte auf der Maximierung des statistischen Erklärungskoeffizienten und Signifikanztests. Die statistische Signifikanz der segmentierten linearen Regression mit "Breakpoint" wurde durch die Varianzanalyse (ANOVA) und F-Tests ($p < 0,05$) ermittelt.

Die Korrelation von Nitrat zwischen Gesundheits- und Leistungsparametern wurde durch eine bivariate Spearman-Rang-Korrelationsanalyse getestet ($p < 0,05$)

8 Vorhabensdurchführung und -ergebnisse

8.1 Installation des SID-Reaktors und Versuchs Vorbereitungen (AP 1)

Aufbau und Inbetriebnahme des Denitrifikationsreaktors in der Versuchsanlage Büsum (GMA mbH)

Nach der fachgerechten Installation des SID-Reaktors an eines der Kreislaufsysteme im Technikumsmaßstab der GMA (40 m³ Wasservolumen) wurde der Reaktor schrittweise unter der Erfassung von Wasserqualitätsparametern in Betrieb genommen.

Im ersten Schritt wurde der SID-Reaktor für einen Zeitraum von zwei Wochen ohne Aufwuchskörper und ohne Methanol Dosierung betrieben, um die basalen hydraulischen Einstellungen entsprechend der Empfehlung von Müller-Belecke et al. (2013) einzustellen. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Durchfluss auf 750 L h⁻¹ eingestellt, was einer hydraulischen Retentionszeit (HRZ) von einer Stunde entspricht.

Im zweiten Schritt wurden Aufwuchskörper aus dem aeroben MBBR in den SID-Reaktor gegeben. Danach wurde der Reaktor für weitere drei Wochen betrieben, damit sich die Bakterien auf den Aufwuchskörpern an die neuen Umweltbedingungen anpassen konnten. Während dieser Zeit wurde der Durchfluss schrittweise von 750 auf 125 L h⁻¹ reduziert, wodurch die Sauerstofflast in dem SID-Reaktor reduziert wurde.

Im dritten Schritt wurde der Durchfluss bei 125 L h⁻¹ gehalten und dem Reaktor wurde Methanol basierend auf der Nitratkonzentration des zulaufenden Wassers zugegeben. Somit wurde schließlich der Start des Denitrifikationsprozesses eingeleitet und der Reaktor auf anoxische Bedingungen umgestellt.

Abbildung 7 zeigt, dass während der Inbetriebnahme des SID-Reaktors die alleinige Reduktion der hydraulischen Beaufschlagung keine anoxischen Bedingungen zur Folge hat. Erst die Zugabe einer externen Kohlenstoffquelle (Methanol) hatte wenige Tage später eine Sauerstoffsättigung um die 0% und negative ORP Werte zur Folge, beides eine Voraussetzung für die Denitrifikationsprozesse im SID-Reaktor.

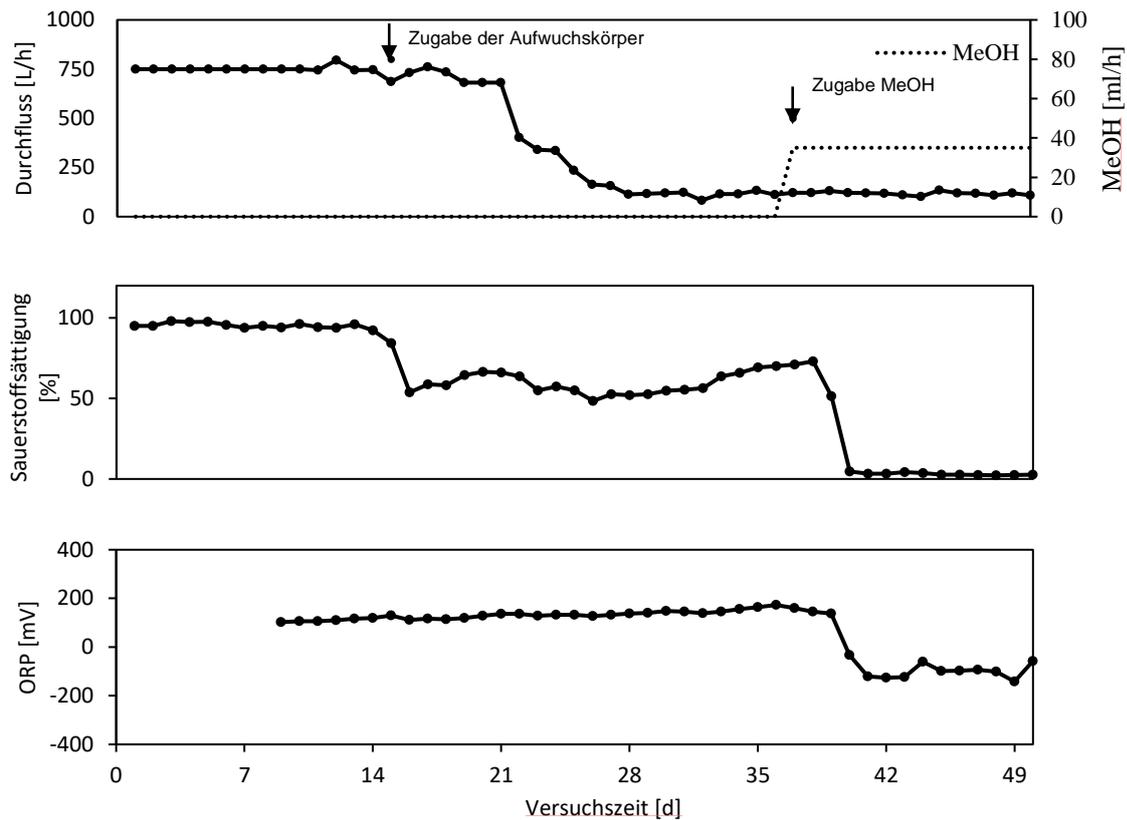


Abbildung 7: Inbetriebnahme des SID-Reaktors. Durchfluss, Sauerstoffsättigung und ORP im SID-Reaktor Ablaufwasser. Zeitpunkte der Zugabe von Aufwuchskörpern und einer Kohlenstoffquelle (MeOH) in den SID-Reaktorraum sind durch vertikale Pfeile gekennzeichnet.

In der aeroben Anfangsphase (ersten 36 Tage), sowie zu Beginn der anoxischen Phase (ab Tag 36) wurden erste systemspezifische Kenngrößen (hydraulische Retentionszeit, hydraulische Beaufschlagung, Menge an zudosiertem Kohlenstoff, etc.) erarbeitet und bewertet. Die anfänglichen Testläufe dienten maßgeblich der Ermittlung der Einstellungen im weiteren Versuchsablauf.

8.2 Verfahrenstechnische Anpassung des SID-Reaktors für die marine Aquakultur (AP 2)

Einfluss der hydraulischen Retentionszeit (HRZ), der Rückspülintervalle (RSI) und des C/N-Verhältnisses auf die Denitrifikationsleistung des SID-Reaktors in marinen RAS

In drei aufeinanderfolgenden Versuchen wurden der Einfluss unterschiedlicher hydraulischer Retentionszeiten (HRZ), Rückspülintervalle (RSI) und des C/N-Verhältnisses auf Wasserqualitätsparameter und die Denitrifikationsleistung (Rate und Effizienz) überwacht. Es wurden HRZs von 2, 4 und 6 Stunden und zusätzlich RSIs von 10, 30, 60 und 90 Minuten bewertet. Die getesteten C/N-Verhältnisse, die unter Verwendung von Methanol (MeOH) als Kohlenstoffquelle realisiert wurden, betragen 1,1, 1,5, 1,9, 2,1, 2,3, 2,7, 3,1 und 3,5 (mg MeOH pro mg NO_3^- -N).

8.2.1 Einleitung

In Denitrifikationssystemen zeigt die Änderung der HRZ einen großen Einfluss auf die Nitratreduktionsrate und den Wirkungsgrad. Während relativ lange HRZs zu einer hohen Denitrifikationseffizienz (Prozent des entfernten NO_3^- -N) und niedrigen Denitrifikationsraten (Gesamtmenge des entfernten NO_3^- -N pro Zeiteinheit) führen, bewirken kurze HRZ den gegenteiligen Effekt (Timmermans & van Haute 1983, Oh et al. 2001, Addy et al. 2016, Lepine et al. 2016, Wang & Chu 2016).

Bei einer Änderung der HRZ sind grundsätzlich zwei entgegengesetzte Szenarien zu erwarten.

- (I) Bei niedrigen HRZ gelangt eine relativ hohe Menge an Sauerstoff (Verringerung der Denitrifikationsleistung) und Nitrat (Förderung der Denitrifikationsleistung) über den Wasserzulauf in den Reaktor.
- (II) Bei erhöhten HRZ gelangt eine relativ geringe Menge Sauerstoff (Förderung der Denitrifikationsleistung) und Nitrat (Verringerung der Denitrifikationsleistung) über den Wasserzulauf in den Reaktor.

Somit ist es notwendig, eine ausgewogene Einstellung zu finden, bei der so viel Nitrat wie möglich entfernt werden kann, ohne die Denitrifikationsprozesse durch erhöhten Sauerstoffeintrag zu stören.

Ein weiteres Problem über das bei biologischen Filtersystemen berichtet wird, ist das Verstopfen des Reaktors bedingt durch mikrobielles Wachstum und partikuläre organische Substanz. Ein Verstopfen des Reaktors führt im Allgemeinen zu einer eingeschränkten

Filterleistung (Paller & Lewis 1982, Alonso et al. 1997, Hozalski & Bouwer 1998, Sastry et al. 1999, Moretti et al. 1999b, Mara et al. 2003, McMillan et al. 2003, Eding et al. 2006, Rakocy et al. 2006, Lepine et al. 2016, Kamstra et al. 2017) Herkömmliche Denitrifikationseinheiten, die auf dem Prinzip des Bewegtbett oder des Festbett basieren, erfordern daher eine Rückspülung der Aufwuchskörper, um ein Verstopfen und eine Unterbrechung der Denitrifikationsleistung zu verhindern. Die Rückspülung der Denitrifikationseinheit bewirkt jedoch häufig eine starke Änderung der Umgebungsbedingungen für die denitrifizierenden Bakterien, was zu einem vorübergehenden Ausfall der Denitrifikationsleistung führt.

Abgesehen davon beruht ein sicherer Denitrifikationsprozess auf einer genauen Dosierung (C/N-Verhältnis) einer externen Kohlenstoffquelle (z.B. Methanol), die für die Denitrifikation zwingend erforderlich ist. Eine exakte Methanol Dosierung führt zu einer Verbesserung der Wasserqualität da das Nitrat im Haltungswasser nahezu vollständig reduziert werden kann und zusätzlich die Alkalinität erhöht wird. Hingegen kann eine Unter-Dosierung die Denitrifikationsrate senken und die Bildung von Zwischenprodukten wie Nitrit (Timmermans & van Haute 1983, Sauthier et al. 1998, Hamlin et al. 2008b, Yang et al. 2012) sowie die Schwefelwasserstoffproduktion fördern (Bregnballe 2015), die beide giftig für in RAS gezüchtete aquatische Organismen sein können. Basierend auf stöchiometrischen Berechnungen werden voraussichtlich 1,9 g Methanol benötigt, um 1,0 g NO_3^- -N zu reduzieren (Cheremisinoff 1995). Da das C/N-Verhältnis von mehreren Faktoren abhängt (z. B. Art der Kohlenstoffquelle und Zellsynthese von Bakterien), ist die Bestimmung einer genauen Dosiermenge für sichere Denitrifikationsprozesse in bestimmten technischen Anlagen zwingend erforderlich.

Eines der Ziele dieses Projektes war somit die Bewertung der Auswirkungen von verschiedenen HRZ, variierenden RSI und unterschiedlichen C/N-Verhältnissen auf die Denitrifikationsleistung und die Wasserqualitätsparameter in einem marinen RAS ausgestattet mit einem SID-Reaktor. Drei aufeinanderfolgende Versuche wurden in dem großskaligen RAS durchgeführt, welches mit Europäischem Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*) besetzt war, um so die Betriebseinstellungen und die sichere Verwendung des SID-Reaktors zu bewerten.

8.2.2 Versuchssystem und -aufbau

Für den Versuch wurde das in Kapitel 6.2.1 beschriebene großskalige 40 m³ System genutzt. Während der gesamten Versuchsdauer wurde für die Nitratentfernung derselbe SID-Reaktor (Kunststoff Spranger GmbH, Plauen, Deutschland) verwendet (beschrieben in Kapitel 6.1).

Rund 1700 Europäische Wolfsbarsche wurden von der neomar GmbH (Völklingen, Deutschland) bezogen und in der Versuchsanlage der GMA mbH (Büsum, Deutschland) an die Bedingungen der experimentellen RAS gewöhnt. Die Wolfsbarsche wurden mit einer durchschnittlichen Besatzdichte von 40 kg pro m³ auf neun der zehn Haltungsbecken verteilt. Die Fische wurden zweimal täglich mit handelsüblichem Futter (Aller Green, Emsland Aller Aqua GmbH, Golßen, Deutschland) bis zur scheinbaren Sättigung manuell gefüttert, was zu einer basalen Stickstoffbelastung in den RAS führte. Die Fütterungsrate wurde regelmäßig auf 1% der gesamten Biomasse pro Tank angepasst.

8.2.3 Versuchsdesign

Nachdem die Wolfsbarsche für 60 Tage an die RAS-Bedingungen adaptiert wurden, wurde der SID-Reaktor wie in Kapitel 8.1 beschrieben in drei aufeinander folgenden Schritten in Betrieb genommen. Anschließend wurden drei aufeinander folgende Versuche durchgeführt. Jeder Versuch wurde immer unter der Voraussetzung gestartet, dass ein stabiler Denitrifikationsprozess vorlag.

Durch die stabile und kontinuierliche Denitrifikationsleistung des SID-Reaktors nahm die Nitratkonzentration im Haltungswasser der Anlage mit der Zeit ab. Um die Ergebnisse zwischen den einzelnen Versuchsteilen besser vergleichen zu können wurde die Nitratkonzentration im RAS trotz Denitrifikation stabil gehalten. Bei Bedarf wurde Stickstoff in Form einer 20%igen Harnstoff- und 80%igen Ammoniaklösung (CH₄N₂O als Pulver, 25% NH₃, Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe Deutschland) dem System hinzugefügt. Durch die Zugabe von Harnstoff (20%) und Ammoniak (80%) wurden die stickstoffhaltigen Ausscheidungsprodukte von Fischen dem natürlichen Mischungsverhältnis nachempfunden. Die Lösung wurde mit Hilfe einer automatischen Dosierpumpe (RAININ, Dynamax®, Modell RP-1, Rainin Instrument, Oakland, CA, USA) direkt in den MBBR gegeben. Die Berechnung der nasschemischen Stickstoff Zugabe beruhte auf der Stickstoffbasis einer äquivalenten Zugabe eines kommerziellen Wolfsbarschfuttermittels.

8.2.3.1 Versuch I: Hydraulische Retentionszeit (HRZ)

In der ersten experimentellen Studie sollten die Auswirkungen unterschiedlicher HRZ auf die Denitrifikationseffizienz und -rate des SID-Reaktors untersucht werden. Es wurden drei verschiedene HRZ von 2, 4 und 6 Stunden (HRZ-2, HRZ-4 und HRZ-6) getestet, die zu hydraulischen Nennlasten von 375, 188 bzw. 125 L h⁻¹ führten. Die Parameter der Wasserqualität wurden während der Versuchszeit überwacht (täglich: Temperatur, Sauerstoffsättigung und -gehalt, ORP und pH-Wert; alle drei Tage: SBV, TAN, NO₂⁻-N und NO₃⁻-N). Basierend auf Empfehlungen von Müller-Belecke et al. (2013) wurde der SID-Reaktor alle 30 Minuten für eine Dauer von 30 Sekunden zurückgespült. Während des ersten Versuchs wurde die Methanol-Dosierung auf ein C/N-Verhältnis von 2,7 eingestellt.

8.2.3.2 Versuch II: Rückspülintervall (RSI)

Der in dieser Studie verwendete SID-Reaktor ermöglichte es, die Zeitintervalle der automatischen Rückspülung bzw. Umwälzen der Aufwuchskörper von permanent auf alle 99 Minuten einzustellen. Es wurden vier verschiedene RSIs getestet und dabei die Denitrifikationsleistung des SID-Reaktors bewertet. Während der Versuchsdauer wurden die Wasserqualitätsparameter überwacht (alle zwei Tage: Temperatur, Sauerstoffsättigung und -gehalt, ORP, pH-Wert und Trübung; alle vier Tage: SBV, TAN, NO₂⁻-N und NO₃⁻-N). Ein Rückspülintervall ist in die folgenden drei Phasen gegliedert:

- Phase I: Einleitung der Umwälzung der Aufwuchskörper. Um die Trägheit der Aufwuchskörper in der Wassersäule zu überwinden, läuft die Seitenkanal-Vakuumpumpe bei Vollast (100 mbar Druck und 120 m³ h⁻¹) automatisch 10 Sekunden lang.
- Phase II: Die Aufwuchskörper werden während eines energiesparenden, reduzierten Betriebsniveaus der Seitenkanal-Vakuumpumpe 30 Sekunden in Bewegung gehalten.
- Phase III: Die Seitenkanal-Vakuumpumpe schaltet sich für eine definierte Zeit automatisch aus.

Bei den vier getesteten RSIs wurden die Phasen I und II nicht verändert. Die Dauer der Phase III wurde geändert, um alle 10, 30, 60 und 90 Minuten ein Rückspülen zu bewirken (Behandlungen RSI-10, RSI-30, RSI-60 und RSI-90). Basierend auf den Ergebnissen aus dem Versuch I wurde eine HRZ von 2 Stunden gewählt. Während des Versuches wurde die Methanol-Dosierung bei einem C/N-Verhältnis von 2,7 beibehalten.

8.2.3.3 Versuch III: C/N-Verhältnis

Für die heterotrophen Denitrifikationsprozesse wurde Methanol (CH_3OH , BÜFA Chemikalien GmbH & Co. KG, Oldenburg) verwendet. In früheren Versuchen wurde beobachtet, dass die Dosierung von reinem Methanol zu Verstopfungen des Einlassventils führte. Daher wurde Methanol mit entionisiertem Wasser in einem Gewichtsverhältnis von 1:1 verdünnt, was zu einer 50%igen Methanol Lösung führte, wodurch das Problem vermieden werden konnte.

Sieben verschiedene C/N-Verhältnisse, beginnend mit einer angenommenen Überdosierung (C/N-Verhältnis von 3,5) bis zu einer Unterdosierung (C/N-Verhältnis von 1,1), wurden in der in Abbildung 8 gezeigten Reihenfolge getestet. Wasserqualitätsparameter (Sauerstoffkonzentration, ORP, TAN, NO_2^- -N, NO_3^- -N und TN-Reduktion) wurden dabei täglich überwacht. Die Methanol Zugabe wurde alle 24 Stunden basierend auf dem tatsächlichen Nitratgehalt in Haltungswasser eingestellt. Alle 48 Stunden wurde das C/N-Verhältnis um 0,4 reduziert, was zu den sieben getesteten C/N-Verhältnissen führte. Die HRZ wurde während der Versuchsreihe bei 2 Stunden (375 L h^{-1}) stabil gehalten und das RSI auf alle 30 Minuten eingestellt.

Am Ende der ersten Testreihe wurde die Denitrifikationsleistung des SID-Reaktors bei einem C/N-Verhältnis von 2,3 wieder stabilisiert. Danach wurde eine zweite Testreihe bei gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt, um die Wiederholbarkeit der Beobachtungen zu verifizieren.

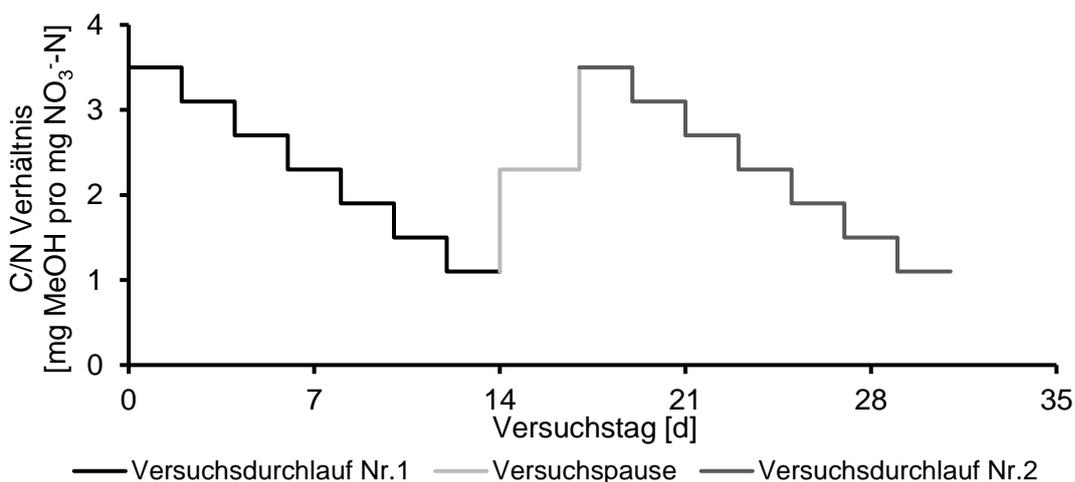


Abbildung 8: Versuchsablauf zur Bestimmung des optimalen Verhältnisses von Kohlenstoff zu Stickstoff (C/N).

8.2.4 Ergebnisse

8.2.4.1 Einfluss der Hydraulischen Retentionszeit (HRZ) auf die Wasserqualität

Wasserparameter im SID-Reaktor Zulaufwasser

Alle gemessenen Wasserqualitätsparameter (Tabelle 1) im Zulaufwasser des SID-Reaktors, das auch das Haltungswasser des RAS darstellt, waren für alle drei HRZ nahezu gleich und zeigten nur geringe Schwankungen. Während des Versuchs führten HRZ-2, HRZ-4 und HRZ-6 zu hydraulischen Beaufschlagungen von durchschnittlich 348, 181 bzw. 116 L h⁻¹ und waren mit den Sollwerten vergleichbar. Die Wassertemperatur bei den drei Einstellungen schwankte zwischen 23 und 25 °C. Die Sauerstoffsättigung im Haltungswasser war im Durchschnitt >100%. Der pH-Wert lag zwischen 7,3 und 7,5, während das SBV zwischen 2,4 und 2,9 mmol HCl L⁻¹ lag. Die durchschnittlichen TAN Konzentrationen variierten je nach HRZ. Die höchste TAN lag bei HRZ-2 (0,7 mg L⁻¹), während niedrigere Werte für die Behandlung mit HRZ-4 und HRZ-6 (0,2 bzw. 0,3 mg L⁻¹) gemessen wurden. Eine ähnliche Tendenz zeigten die Werte für die NO₂⁻-N Konzentration, die bei HRZ-2 (0,4 mg L⁻¹) höher als bei HRZ-4 und HRZ-6 (beide 0,1 mg L⁻¹) war. Die durchschnittlichen NO₃⁻-N Konzentrationen betragen 42, 33 und 49 mg L⁻¹ für HRZ-2, HRZ-4 bzw. HRZ-6.

Wasserparameter im SID-Reaktor Ablaufwasser

Bei allen drei HRZ Einstellungen lag die Sauerstoffsättigung im Ablaufwasser des SID-Reaktors unter 4% (0,3 mg L⁻¹, Tabelle 1). Darüber hinaus waren der pH-Wert (7,6 bis 7,9) und das SBV (4,9 bis 5,6 mmol HCl L⁻¹) im Ablaufwasser des SID-Reaktors bei allen HRZ-Einstellungen höher als im Zulaufwasser. Negative ORP Werte (-125 bis -145 mV) wurden bei allen HRZ im Ablaufwasser gemessen. Die durchschnittlichen TAN Konzentrationen für HRZ-2 (0,2 mg L⁻¹) und HRZ-6 (0,1 mg L⁻¹) waren im Ablaufwasser etwas niedriger als beim Einlass, während für HRZ-4 die TAN Konzentration (0,3 mg L⁻¹) etwas erhöht war. Unterschiede zwischen den HRZ Einstellungen waren bei den durchschnittlichen NO₂⁻-N Werten deutlicher. Bei allen drei HRZ-Einstellungen waren die NO₂⁻-N Werte im Ablaufwasser höher als im Zulaufwasser. Bei HRZ-2 wurde ein durchschnittlicher NO₂⁻-N Wert von 3,9 mg L⁻¹ gemessen, verglichen mit 0,8 und 1,7 mg L⁻¹ für HRZ-4 bzw. HRZ-6. Ein Nachweis für Denitrifikationsprozesse für alle drei getesteten HRZ waren die geringeren durchschnittlichen NO₃⁻-N Konzentrationen im Reaktorablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser. Die niedrigste durchschnittliche NO₃⁻-N Konzentration im Ablaufwasser wurde für HRZ-6 (10 mg L⁻¹) gemessen, gefolgt von HRZ-4 (12 mg L⁻¹). Die HRZ-2 ergab die höchsten durchschnittlichen NO₃⁻-N Konzentrationen (15 mg L⁻¹) im SID-Reaktor Ablaufwasser.

Tabelle 1: Mittelwerte (\pm SD) der Wasserqualitätsparameter für den Zulauf und Ablauf des SID-Reaktors in Abhängigkeit von den hydraulischen Retentionszeiten (HRZ) von 2, 4 und 6 Stunden.

Hydraulische Retentionszeit (HRZ)	[h]	2		4		6	
Soll Durchflussrate	[L h ⁻¹]	375		188		125	
Versuchstage	[d]	29		26		36	
Ist Durchflussrate	[L h ⁻¹]	348 \pm 38	(n=29)	181 \pm 35	(n=26)	116 \pm 10	(n=36)
Temperatur	[°C]	23.5 \pm 1.2	(n=29)	24.7 \pm 0.3	(n=26)	25.2 \pm 0.2	(n=36)
Sauerstoff	[mg L ⁻¹]	8.9 \pm 0.5	(n=29)	8.7 \pm 0.0	(n=26)	8.4 \pm 0.0	(n=36)
Sauerstoff	[%]	109 \pm 7	(n=29)	107 \pm 1	(n=26)	103 \pm 0	(n=36)
ORP	[mV]	-	-	-	-	-	-
Zulauf	pH	7.3 \pm 0.1	(n=29)	7.5 \pm 0.1	(n=26)	7.5 \pm 0.1	(n=36)
	SBV [mmol HCl L ⁻¹]	2.6 \pm 0.3	(n=8)	2.9 \pm 0.3	(n=10)	2.4 \pm 0.5	(n=13)
	TAN [mg L ⁻¹]	0.7 \pm 0.6	(n=9)	0.2 \pm 0.1	(n=10)	0.3 \pm 0.1	(n=12)
	NO ₂ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	0.4 \pm 0.2	(n=9)	0.1 \pm 0.0	(n=10)	0.1 \pm 0.0	(n=12)
	NO ₃ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	42 \pm 8	(n=9)	33 \pm 7	(n=10)	49 \pm 8	(n=11)
	Temperatur [°C]	24.7 \pm 0.8	(n=29)	24.8 \pm 0.3	(n=26)	24.3 \pm 0.3	(n=36)
	Sauerstoff [mg L ⁻¹]	0.3 \pm 0.2	(n=29)	0.2 \pm 0.2	(n=26)	0.2 \pm 0.1	(n=36)
	Sauerstoff [%]	4 \pm 3	(n=29)	3 \pm 2	(n=26)	3 \pm 1	(n=36)
	ORP [mV]	-126 \pm 44	(n=28)	-145 \pm 96	(n=26)	-125 \pm 45	(n=36)
Ablauf	pH	7.9 \pm 0.2	(n=29)	7.6 \pm 0.0	(n=26)	7.9 \pm 0.1	(n=35)
	SBV [mmol HCl L ⁻¹]	4.9 \pm 0.8	(n=8)	5.0 \pm 0.8	(n=10)	5.6 \pm 0.7	(n=13)
	TAN [mg L ⁻¹]	0.2 \pm 0.1	(n=9)	0.3 \pm 0.4	(n=10)	0.1 \pm 0.1	(n=12)
	NO ₂ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	3.9 \pm 2.8	(n=9)	0.8 \pm 0.8	(n=10)	1.7 \pm 1.2	(n=12)
	NO ₃ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	15 \pm 5	(n=9)	12 \pm 6	(n=10)	10 \pm 10	(n=9)

SID-Reaktor, Selbstreinigender-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor; ORP, Oxidations-Reduktionspotential; SBV, Säure-Bindung-Vermögen; TAN, gesamter Ammoniakstickstoff; NO₂⁻-N, Nitrit; NO₃⁻-N, Nitrat; -, keine Daten verfügbar.

8.2.4.2 Einfluss der Hydraulischen Retentionszeit (HRZ) auf die Denitrifikationsleistung

Mit 81% war die Denitrifikationseffizienz (Tabelle 2) bei HRZ-6 am höchsten, während die beiden anderen HRZ Einstellungen eine NO_3^- -N Reduktions-Effizienz von etwa 64% zeigten. Im Hinblick auf die Denitrifikationsrate waren die Werte für HRZ-2 mit $497 \text{ g NO}_3^- \text{-N d}^{-1} \text{ m}^3$ höher im Vergleich zu den Werten für HRZ-4 bzw. HRZ-6 mit 198 und $253 \text{ g NO}_3^- \text{-N d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper.

Damit vergleichbar waren die Ergebnisse zur Effizienz der TN-Reduktion (Tabelle 2) für HRZ-6 mit 78% am höchsten. Die TN-Reduktion für HRZ-4 war mit 61% entsprechend niedriger und HRZ-2 hatte mit 56% die niedrigsten Werte als Resultat. Die TN-Reduktionsrate war mit $443 \text{ g N d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper erneut am höchsten für HRZ-2, während die Reduktionsrate für HRZ-4 und HRZ-6 190 bzw. $245 \text{ g N d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper betrug.

Tabelle 2: Mittelwerte (\pm SD) der Denitrifikationseffizienz und -rate in Abhängigkeit von den hydraulischen Retentionszeiten (HRZ) von 2, 4 und 6 Stunden.

Hydraulische Retentionszeit (HRZ)	[h]	2	4	6
Soll Durchflussrate	[L h^{-1}]	375	188	125
Versuchstage	[d]	29	26	36
	Effizienz [%]	64 ± 13	64 ± 39	81 ± 15
NO_3^- -N Reduktion	[$\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$]	27 ± 9	21 ± 9	41 ± 8
	Rate [$\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper]	59 ± 20	47 ± 19	90 ± 18
	[$\text{g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper]	497 ± 176	198 ± 83	253 ± 56
	Effizienz [%]	56 ± 14	61 ± 18	78 ± 17
TN Reduktion	[$\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$]	24 ± 9	20 ± 8	39 ± 9
	Rate [$\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper]	53 ± 19	45 ± 18	87 ± 21
	[$\text{g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper]	443 ± 178	190 ± 81	245 ± 61

Anzahl der Datenpunkte (n) pro Behandlung: HRZ von 2: n = 9; HRZ von 4: n = 10; HRZ von 6: n = 9.

NO_3^- - N, Nitrat; TN Gesamtstickstoff.

8.2.4.3 Einfluss des Rückspülintervalls (RSI) auf die Wasserqualität

Wasserqualität des SID-Reaktor Zulaufwassers

Für alle Rückspülintervalle (RSI-10, RSI-30, RSI-60 und RSI-90) waren die Wasserqualitätsparameter im Zulaufwasser des SID-Reaktors miteinander vergleichbar (Tabelle 3). Bei der Temperatur (± 25 °C) und der Sauerstoffsättigung (107 bis 111%) konnten keine Unterschiede zwischen den RSI Gruppen beobachtet werden. Darüber hinaus blieben der pH-Wert (7,3) und das SBV (3,0 bis 3,8 mmol HCl L⁻¹) im Verlauf des Versuchs relativ konstant. Die höchsten TAN Werte wurden für RSI-10 (0,5 mg L⁻¹) gemessen, während die TAN Werte für die anderen drei Intervalle etwas niedriger waren (0,3 bis 0,4 mg L⁻¹). Ähnlich war NO₂⁻-N beim RSI-10 (0,5 mg L⁻¹) im Vergleich zu den anderen Intervallen (0,1 bis 0,2 mg L⁻¹) leicht erhöht. Für die NO₃⁻-N Konzentration wurden Durchschnittswerte von 51, 26, 49 und 47 mg L⁻¹ für RSI-10, RSI-30, RSI-60 bzw. RSI-90 gemessen. Die Trübung war bei allen vier Intervallen gering (0,1 bis 1,2 NTU).

Wasserqualität des SID-Reaktor Ablaufwassers

Die Wasserqualitätsparameter im Ablaufwasser des SID-Reaktors (Tabelle 3) zeigten mehrere Unterschiede zwischen den untersuchten RSI. Die Sauerstoffsättigung war für RSI-10 (5%) im Vergleich zu den anderen drei Intervallen (<3%) am höchsten. Jedoch war bei allen vier Intervallen die Sauerstoffsättigung im Ablaufwasser niedriger als im Zulaufwasser (>100%). Das ORP lag zwischen -152 und -217 mV beim RSI-30, RSI-60 und RSI-90, während das ORP für RSI-10 mit -67 mV höher war. Somit war bei allen RSI das Redoxpotential im Ablaufwasser negativ. Bei allen vier Intervallen war der pH-Wert im Ablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser erhöht und zeigte die niedrigsten Werte für RSI-10 (pH 7,5) und die höchsten Werte für RSI-90 (pH 8,2). Das SBV (4,6 bis 7,1 mmol HCl L⁻¹) war für alle RSI im Vergleich zum Zulaufwasser ebenfalls höher. TAN war bei allen RSI niedrig, wobei die niedrigsten Werte für RSI-10 (0,2 mg L⁻¹) und die höchsten Werte für RSI-90 (0,8 mg L⁻¹) ermittelt wurden. Bei allen vier RSI waren die NO₂⁻-N Konzentrationen im Ablaufwasser höher als im Zulaufwasser. Die höchsten durchschnittlichen NO₂⁻-N Werte von 16,4 mg L⁻¹ wurden für RSI-10 gemessen, während für RSI-30, RSI-60 und RSI-90 niedrige NO₂⁻-N Werte von 1,6, 3,1 und 4,3 mg L⁻¹ gemessen wurden. Die Trübung des Ablaufwassers war bei RSI-10 (7,4 NTU) am höchsten, gefolgt von RSI-30 (2,8 NTU), RSI-60 (2,0 NTU) und RSI-90 (1,5 NTU).

Tabelle 3: Mittelwerte (\pm SD) der Wasserqualitätsparameter für den SID-Reaktor Zulauf und Ablauf abhängig vom Rückspülintervall (RSI) alle 10, 30, 60 und 90 Minuten.

Rückspülintervall (RSI)	[alle x Minuten]	10	30	60	90
Hydraulische Retentionszeit (HRZ)	[h]	2	2	2	2
Soll Durchflussrate	[L h ⁻¹]	375	375	375	375
Versuchstage	[d]	6	19	21	21
Ist Durchflussrate	[L h ⁻¹]	347 \pm 26 (n=6)	365 \pm 25 (n=10)	336 \pm 12 (n=9)	343 \pm 20 (n=13)
Temperatur	[°C]	24.9 \pm 0.2 (n=6)	25.0 \pm 0.2 (n=10)	25.3 \pm 0.1 (n=9)	25.2 \pm 0.4 (n=13)
Sauerstoff	[mg L ⁻¹]	8.8 \pm 0.1 (n=6)	9.0 \pm 0.1 (n=10)	8.7 \pm 0.0 (n=9)	8.6 \pm 0.1 (n=13)
Sauerstoff	[%]	108 \pm 1 (n=6)	111 \pm 1 (n=10)	108 \pm 0 (n=9)	107 \pm 1 (n=13)
ORP	[mV]	-	-	-	-
Zulauf					
pH		7.3 \pm 0.15 (n=6)	7.3 \pm 0.1 (n=10)	7.3 \pm 0.0 (n=9)	7.3 \pm 0.1 (n=13)
SBV	[mmol HCl L ⁻¹]	3.7 \pm 0.2 (n=3)	3.0 \pm 0.3 (n=5)	3.8 \pm 0.4 (n=4)	3.1 \pm 0.3 (n=6)
TAN	[mg L ⁻¹]	0.5 \pm 0.1 (n=2)	0.4 \pm 0.2 (n=5)	0.4 \pm 0.1 (n=4)	0.3 \pm 0.1 (n=6)
NO ₂ ⁻ -N	[mg L ⁻¹]	0.5 \pm 0.0 (n=2)	0.2 \pm 0.1 (n=5)	0.2 \pm 0.0 (n=4)	0.1 \pm 0.1 (n=6)
NO ₃ ⁻ -N	[mg L ⁻¹]	51 \pm 6 (n=2)	26 \pm 4 (n=5)	49 \pm 2 (n=4)	47 \pm 3 (n=6)
Trübung	[NTU]	0.6 \pm 0.6 (n=4)	0.1 \pm 0.3 (n=8)	1.2 \pm 0.9 (n=6)	0.5 \pm 0.5 (n=8)
Temperatur	[°C]	25.4 \pm 0.3 (n=6)	25.6 \pm 0.2 (n=10)	25.7 \pm 0.1 (n=9)	25.5 \pm 0.4 (n=13)
Sauerstoff	[mg L ⁻¹]	0.4 \pm 0.1 (n=6)	0.1 \pm 0.0 (n=10)	0.2 \pm 0.0 (n=9)	0.2 \pm 0.0 (n=13)
Sauerstoff	[%]	5 \pm 1 (n=6)	2 \pm 0 (n=10)	2 \pm 0 (n=9)	3 \pm 0 (n=13)
ORP	[mV]	-67 \pm 12 (n=6)	-217 \pm 51 (n=10)	-152 \pm 15 (n=9)	-194 \pm 14 (n=13)
Ablauf					
pH		7.5 \pm 0.1 (n=6)	7.9 \pm 0.2 (n=10)	8.1 \pm 0.1 (n=9)	8.2 \pm 0.1 (n=13)
SBV	[mmol HCl L ⁻¹]	5.8 \pm 0.3 (n=3)	4.6 \pm 0.2 (n=5)	7.1 \pm 0.2 (n=4)	6.3 \pm 0.4 (n=6)
TAN	[mg L ⁻¹]	0.2 \pm 0.1 (n=2)	0.5 \pm 0.7 (n=5)	0.7 \pm 0.2 (n=4)	0.8 \pm 0.3 (n=6)
NO ₂ ⁻ -N	[mg L ⁻¹]	16.4 \pm 0.1 (n=2)	1.6 \pm 0.8 (n=5)	3.1 \pm 1.3 (n=4)	4.3 \pm 2.8 (n=6)
NO ₃ ⁻ -N	[mg L ⁻¹]	36 \pm 6 (n=2)	6 \pm 2 (n=5)	8 \pm 2 (n=4)	12 \pm 5 (n=6)
Trübung	[NTU]	7.4 \pm 5.3 (n=4)	2.8 \pm 1.0 (n=8)	2.0 \pm 0.9 (n=6)	1.5 \pm 1.3 (n=9)

SID-Reaktor, Selbstreinigender-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor; ORP, Oxidations-Reduktionspotential; SBV, Säure-Bindungs-Vermögen; TAN, gesamter Ammoniakstickstoff; NO₂⁻-N, Nitrit; NO₃⁻-N, Nitrat; -, keine Daten verfügbar.

8.2.4.4 Einfluss des Rückspülintervalls (RSI) auf die Denitrifikationsleistung

Die Denitrifikationseffizienz (Tabelle 4) war für RSI-30 und RSI-60 am höchsten (78 bzw. 84%), gefolgt von RSI-90 (75%), während RSI-10 (29%) den niedrigsten ermittelten Wert aufwies. Die Denitrifikationsrate war für RSI-60 und RSI-90 am höchsten (733 bzw. 629 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper). RSI-30 zeigte eine reduzierte NO₃⁻-N Reduktionsrate (390 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper) und RSI-10 hatte insgesamt die niedrigste Reduktionsrate (280 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper) zur Folge. In Hinblick auf die TN-Reduktion zeigte RSI-10 negative Werte für die Denitrifikationseffizienz (-2%) und Denitrifikationsrate (-15 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper), was auf eine Zunahme von TN im Ablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser hinweist. Abgesehen davon erzielten RSI-30 und RSI-60 die höchsten TN Reduktionseffizienzen (71 und 76%), gefolgt von RSI-90 (65%). Die TN-Reduktionsrate war für RSI-60 und RSI-90 am höchsten (676 und 547 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper) und am niedrigsten für RSI-30 (362 g d⁻¹ m³ Aufwuchskörper).

Tabelle 4: Mittelwerte (\pm SD) der Denitrifikationseffizienz und -rate in Abhängigkeit vom Rückspülintervall (RSI) alle 10, 30, 60 und 90 Minuten.

Rückspülintervall (RSI)	[alle x Minuten]	10	30	60	90
Hydraulische Retentionszeit (HRZ)	[h]	2	2	2	2
Soll Durchflussrate	[L h ⁻¹]	375	375	375	375
Versuchstage	[d]	6	19	21	20
<hr/>					
	Effizienz [%]	29 \pm 3	78 \pm 5	84 \pm 5	75 \pm 11
NO ₃ ⁻ -N Reduktion	[mg L ⁻¹ h ⁻¹]	15 \pm 0	21 \pm 3	41 \pm 4	35 \pm 5
	Rate [mg L ⁻¹ h ⁻¹ m ³ Aufwuchskörper]	33 \pm 0	46 \pm 6	91 \pm 8	78 \pm 12
	[g d ⁻¹ m ³ Aufwuchskörper]	280 \pm 32	390 \pm 68	733 \pm 85	629 \pm 117
<hr/>					
	Effizienz [%]	-2 \pm 0	71 \pm 7	76 \pm 8	65 \pm 17
TN Reduktion	[mg L ⁻¹ h ⁻¹]	-1 \pm 0	19 \pm 3	38 \pm 5	30 \pm 8
	Rate [mg L ⁻¹ h ⁻¹ m ³ Aufwuchskörper]	-2 \pm 0	42 \pm 8	84 \pm 11	67 \pm 18
	[g d ⁻¹ m ³ Aufwuchskörper]	-15 \pm 4	362 \pm 64	676 \pm 105	547 \pm 155

Anzahl der Datenpunkte (n) pro Behandlung: RSI von 10: n = 2; RSI von 30: n = 5; RSI von 60: n = 4; RSI von 90: n = 6

NO₃ - N, Nitrat; TN Gesamtstickstoff

8.2.4.5 Einfluss des Rückspülintervalls (RSI) auf die Partikel-Charakteristik im SID-Reaktor Ablaufwasser

Neben dem Einfluss des RSI auf die Wasserqualitätsparameter wurde beobachtet, dass die Partikeleigenschaften im Ablaufwasser des SID-Reaktors vom RSI beeinflusst wurden. Je länger das RSI ist, desto größer und dichter sind die Partikel, die direkt nach der Rückspülung freigesetzt werden Abbildung 9. RSI-30 führte zu Partikeln von wenigen Millimetern und zu einer homogeneren Partikelverteilung im Ablaufwasser. RSI-60 und RSI-90 führten zu größeren Partikeln bei Partikelgrößen im Zentimeterbereich. Zudem kam es bei RSI-90 mehrmals im Laufe des Tages zu Verstopfungen des SID-Reaktor-Drainagerohrs, was zu einem höheren Wartungsaufwand führte (nicht weiter quantifiziert). Partikel für RSI-10 sind nicht gezeigt, da für dieses Intervall keine klare Denitrifikation beobachtet wurde.

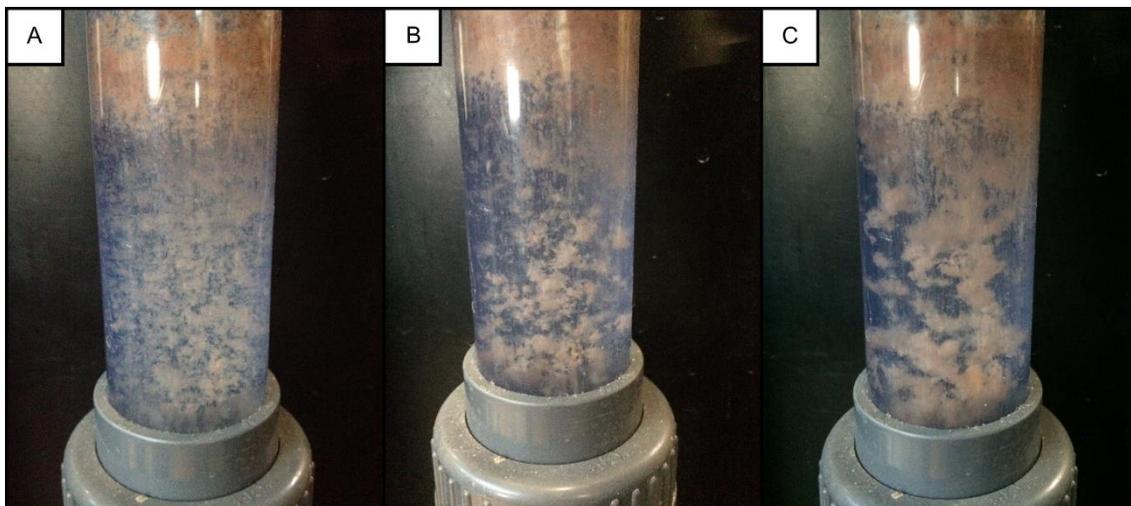


Abbildung 9: Partikelcharakteristik im Ablaufwasser des SID-Reaktors für Rückspülintervalle alle 30 (A), 60 (B) und 90 (C) Minuten.

8.2.4.6 Einfluss des C/N-Verhältnisses auf die Wasserqualität

Die Breakepoints der segmentierten linearen Regressionen sind in Abbildung 10 dargestellt und in Tabelle 5 zusammengefasst. Ein 95%-Konfidenzgürtel und ein 95%-Konfidenzblock für den Breakepoint sind dargestellt. Der Breakpoint für die Sauerstoffsättigung wurde bei einem C/N-Verhältnis von 2,1 (Abbildung 10A) und einer Sauerstoffsättigung von <math><4\%</math> (<math><0,3 \text{ mg L}^{-1}</math>) bestimmt. Die Verringerung des C/N-Verhältnisses führte zur Erhöhung der Sauerstoffsättigungen bis zu 8% ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$). Für das ORP wurde ein Breakpoint bei einem C/N-Verhältnis von 1,7 (Abbildung 10B) berechnet (bei ca. -150 mV). Durch Verringerung des C/N-Verhältnisses wurde das ORP weiter auf -75 mV erhöht, während das ORP bei erhöhtem C/N-Verhältnis bei etwa -150 mV blieb. Bei Betrachtung der TAN- und NO_2^- -N Konzentrationen im Ablaufwasser des SID-Reaktors wurde ein optimaler Breakepoint bei einem C/N-Verhältnis von 2,3 (Abbildung 10C&D) mit Konzentrationen von $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ TAN

und $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ NO_2^- -N bestimmt. Bei einem C/N-Verhältnis unter 2,3 stiegen TAN und NO_2^- -N auf $1,0$ bzw. 14 mg L^{-1} an. Im Gegensatz dazu betrugen die TAN- und NO_2^- -N Konzentrationen im Ablaufwasser bei einem C/N-Verhältnis über 2,3 etwa $0,1$ bzw. $2,5 \text{ mg L}^{-1}$. Der Breakpoint für NO_3^- -N lag bei einem C/N-Verhältnis von 2,1 (Abbildung 10E) und einer Nitratkonzentration von 8 mg L^{-1} im Ablaufwasser des SID-Reaktors. Die Erhöhung des C/N-Verhältnisses führte zu stabilen NO_3^- -N Konzentrationen im Ablaufwasser des SID-Reaktors von 8 mg L^{-1} . Eine Verringerung des C/N-Verhältnisses führte zu erhöhten mittleren NO_3^- -N Konzentrationen von bis zu 35 mg L^{-1} im Ablaufwasser. In Anbetracht der TN-Reduktionseffizienz wurde der Breakpoint bei einem C/N-Verhältnis von 2,2 mit einer durchschnittlichen TN-Reduktion von 75% ermittelt (Abbildung 10F). Die Verringerung des C/N-Verhältnisses führte zu einer verringerten TN-Reduktionseffizienz von bis zu -16% (entsprechend einer Stickstoffzunahme), während eine Erhöhung des C/N-Verhältnisses zu einer stabilen TN-Reduktion von etwa 75% führte.

Tabelle 5: C/N-Verhältnis am Breakpoint für die abhängigen Variablen Sauerstoffsättigung, ORP, TAN, NO_2^- -N, NO_3^- -N bzw. TN-Reduktion.

Abhängige Variable	C/N-Verhältnis am Breakpoint
Sauerstoff [%]	2,1
ORP [mV]	1,7
TAN [mg L^{-1}]	2,3
NO_2^- -N [mg L^{-1}]	2,3
NO_3^- -N [mg L^{-1}]	2,1
TN Reduktion [%]	2,2

C/N-Verhältnis, Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff; ORP, Oxidations-Reduktionspotential; TAN, gesamter Ammoniakstickstoff; NO_2^- -N, Nitrit; NO_3^- -N, Nitrat; TN Gesamtstickstoff.

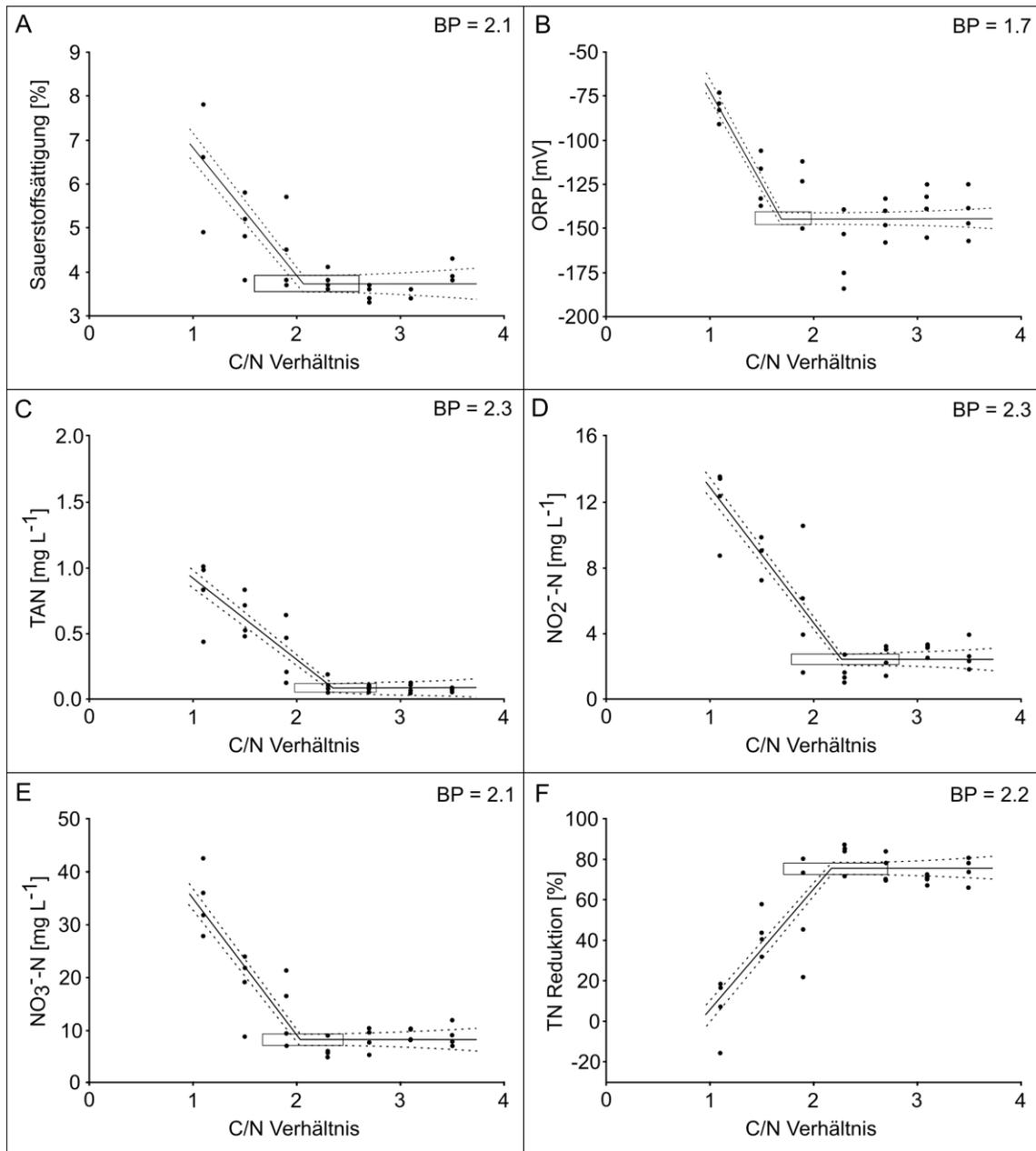


Abbildung 10: Segmentierte lineare Regressionen mit einer abhängigen Variablen und dem unabhängigen C/N-Verhältnis [mg mg^{-1}]. A, Sauerstoffsättigung [%]; B, ORP [mV]; C TAN [mg L^{-1}]; D, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ [mg L^{-1}]; E, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ [mg L^{-1}] und F, Reduktion von TN [%]. Für die getesteten Variablen wird ein 95% -Konfidenzgürtel und ein 95% -Konfidenzblock des Breakpoints (BP) angezeigt. Bei jeder Variablen hat jedes C/N-Verhältnis 4 Datenpunkte.

8.2.5 Diskussion

8.2.5.1 Hydraulische Retentionszeit (HRZ)

Die HRZ ist einer der wichtigsten Betriebsparameter, der sowohl Nitrifikations- (Eding et al. 2006, Summerfelt 2006) als auch Denitrifikationsfiltersysteme beeinflussen kann (Timmermans & van Haute 1983, van Rijn & Rivera 1990, Lampe & Zhang 1996, Oh et al. 2001, Plósz et al. 2003, Chu & Wang 2011a, 2016b, Suhr et al. 2013, Christianson et al. 2015, Healy et al. 2015, Addy et al. 2016, Christianson & Schipper 2016, Lepine et al. 2016, Guo et al. 2017). Mehrere Studien zeigten einen hohen Einfluss der HRZ auf unterschiedliche Parameter von Biofiltersystemen, wie zum Beispiel auf die TAN Reduktionseffizienz (Summerfelt 2006), die Sulfatproduktion (Oh et al. 2001, Christianson et al. 2015), die Alkalinität (Lepine et al. 2016) und den Einfluss des C/N-Verhältnisses auf den Denitrifikationsprozess (Suhr et al. 2013). Somit ist eine Beeinflussung der Denitrifikationsleistung durch die HRZ nicht zu unterschätzen. Eine generelle Empfehlung für eine optimale HRZ kann jedoch nicht gegeben werden, da die HRZ von dem Denitrifikationsprinzip (Autotroph/Heterotroph/Mixotroph), dem Reaktortyp und der Reaktorgröße, der Temperatur und anderen Faktoren abhängig ist. Der Einfluss der HRZ auf den Denitrifikationsprozess muss somit für jeden Denitrifikationsreaktor Typ separat bewertet werden.

Da die meisten denitrifizierenden Organismen fakultativ anaerobe heterotrophe Organismen sind, können sie Nitrat anstelle von Sauerstoff als Elektronenakzeptor verwenden. In Gegenwart eines organischen Elektronendonors und solange Sauerstoff in ausreichenden Mengen verfügbar ist, verwenden Bakterien molekularen Sauerstoff als Elektronenakzeptor anstelle von Nitrat. Unter aeroben Bedingungen wird Sauerstoff von diesen Bakterien gegenüber Nitrat energetisch bevorzugt (Plósz et al. 2003, van Rijn et al. 2006, Hamlin et al. 2008a). Unter anoxischen Bedingungen wird Nitrat metabolisch als Elektronenakzeptor bevorzugt, wodurch jedes Nitration zu einem Nitrition reduziert wird. Somit ist Sauerstoff ein wichtiger kinetischer Inhibitor von Denitrifikationsprozessen und kann zur Bildung von Zwischenprodukten wie NH_4^+ und NO_2^- führen (Oh & Silverstein 1999, Plósz et al. 2003, Hamlin et al. 2008a, Yang et al. 2012, Guo et al. 2017). Um stabile Denitrifikationsprozesse zu gewährleisten, müssen daher anoxische Bedingungen in dem Denitrifikationssystem sichergestellt werden. Der SID-Reaktor ist so konzipiert, dass Sauerstoff nur über das Zulaufwasser in den Reaktor eintreten kann. Verglichen mit einer hohen HRZ wird bei einer niedrigen HRZ mehr Sauerstoff über das Wasser in die Denitrifikationseinheit transportiert. Folglich kann eine niedrige HRZ die Denitrifikation negativ beeinflussen. Der HRZ Versuch zeigte, dass die Sauerstoffkonzentration im Ablaufwasser des SID-Reaktors bei allen drei

getesteten HRZ-Einstellungen Werte von $\leq 0,3 \text{ mg L}^{-1}$ erreichte. Daher kann geschlussfolgert werden, dass das breite Spektrum heterotropher Bakterien im SID-Reaktor in der Lage war, die Fracht von molekularem Sauerstoff im einströmenden Wasser zu reduzieren, wodurch im SID-Reaktor anoxische Bedingungen geschaffen wurden. Im Versuch wurde jedoch auch festgestellt, dass die Denitrifikationseffizienz (in Prozent) bei niedriger HRZ von 2 Stunden im Vergleich zu einer höheren HRZ von 6 Stunden niedriger war. Dies lässt sich als negativer Effekt einer niedrigen HRZ auf die Denitrifikationseffizienz deuten.

Unter anoxischen Bedingungen geht ein negatives Redoxpotential mit einer effizienten Denitrifikation einher. Lee et al. (2000) beobachteten, dass Nitrat in Nitrit umgewandelt wird, wenn das ORP unter 0 mV fällt. Dabei hat sich in deren Studie im Bereich von 0 bis -225 mV Nitrit im Wasser angesammelt. Von -225 bis -400 mV wurde Nitrit in N_2 umgewandelt. Der optimale ORP Wert für die Denitrifikation scheint jedoch von der Kohlenstoffquelle und dem verwendeten Zulaufwasser abhängig zu sein (Drtil et al. 1999, Müller-Belecke et al. 2013). Bei der Verwendung von Ethanol, Methanol und Glycerin setzten Denitrifikationsprozesse bei einem ORP von unter -120 mV ein. Bei Verwendung von Essigsäure setzt der Denitrifikationsprozess bei einem ORP von -70 mV ein (Müller-Belecke et al. 2013). In einer anderen Studie in der ebenfalls Methanol als Kohlenstoffquelle verwendet wurde lag der ORP Wert zwischen -20 und -150 mV für die Denitrifikation (Hamlin et al. 2008a). Für die in dieser Studie getesteten HRZ lagen die ORP Werte im Rahmen der oben genannten Empfehlungen für Denitrifikationsprozesse (zwischen -125 und -145 mV). Die ORP Werte wurden innerhalb der durchgeführten Versuche nicht aktiv reguliert, sondern waren ein Ergebnis der gewählten Betriebsparameter des SID-Reaktors in Kombination mit dem Versuchsdesign.

In Kreislaufanlagen führt die Nitrifikation in aeroben Biofiltern zu einem verringerten pH-Wert und einem Alkalitätsverlust im Haltungswasser. Um dem entgegenzuwirken, werden üblicherweise Alkalinitätszusätze wie Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) verwendet. Im Gegensatz dazu neigen bei Denitrifikationsprozessen pH- und SBV Werte im Haltungswasser anzusteigen. Dies führt zu einem reduzierten Einsatz von Alkalinitätszusätzen (van Rijn et al. 2006). In der vorliegenden Studie wurden keine Unterschiede beim beobachteten pH und SBV-Anstieg zwischen den getesteten HRZ von 2, 4 und 6 Stunden gemessen.

Als eine erste Schlussfolgerung lässt sich sagen, dass alle drei getesteten HRZ zu niedrigen Sauerstoffsättigungen und einem negativen ORP im Ablaufwasser des Reaktors führten, nachdem Methanol als Kohlenstoffquelle hinzugefügt wurde. Das alles in Kombination ermöglichte einen Denitrifikationsprozess. Zudem wurden für alle drei getesteten HRZ

niedrigere NO_3^- -N Werte, ein erhöhter pH-Wert und eine erhöhte Alkalinität im Ablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser nachgewiesen. Somit können alle drei HRZ prinzipiell für Denitrifikationsprozesse in einem SID-Reaktor empfohlen werden. Die HRZ-2 und HRZ-6 zeigten niedrigere TAN und nur geringfügig erhöhte NO_2^- -N Werte im Ablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser. Für HRZ-4 wurden etwas höhere TAN Werte im Ablaufwasser im Vergleich zum Zulaufwasser gemessen. Allerdings konnte bei diesem Befund kein Zusammenhang zur HRZ oder anderen Parametern gefunden werden. Beim Abbau von organischen Material unter anoxischen Bedingungen kann als Nebenprodukt TAN entstehen (Guo et al. 2017). Dieser Prozess könnte während einiger Versuchsabschnitte stattgefunden haben und die erhöhten TAN Werte bei HRZ-4 erklären.

Im Allgemeinen sind erhöhte NO_2^- -N Werte bei Denitrifikationsprozessen üblich. Sie deuten möglicherweise auf eine unzureichende Kohlenstoffdosierung oder auf eine unzureichende HRZ hin. Dies führt zu einer unvollständigen Denitrifikation und einem damit einhergehenden Anstieg des Nitrit Wertes (van Rijn & Rivera 1990, Hamlin et al. 2008a, Guo et al. 2017). Folglich können Denitrifikationseinheiten, die im Bypass in RAS verwendet werden, die Gesamtnitritlast des Haltungswassers beeinflussen. In der vorliegenden Studie hatten erhöhte Nitrit Werte im Ablaufwasser des SID-Reaktors (Tabelle 1) keinen negativen Einfluss auf das Haltungswasser. Eine leicht erhöhte Nitrit Konzentration im SID-Reaktor Ablaufwasser hatte möglicherweise keinen Einfluss auf das Aufzuchtwasser, da das Nitrit im aeroben Nitrifikationsfilter der Anlage leicht und effizient zu Nitrat oxidiert werden konnte. Alle gemessenen Wasserqualitätsparameter erreichten im Haltungswasser während der Betriebszeit des SID-Reaktors zu keinem Zeitpunkt für die Versuchsfische schädliche Konzentrationen. Somit sind alle drei getesteten HRZ für den Betrieb eines SID-Reaktors geeignet.

Da die getesteten HRZ von 2, 4 und 6 Stunden zu überwiegend gleichen Wasserqualitätsparametern führten, wurde eine Empfehlung für eine optimale HRZ basierend auf der Denitrifikationseffizienz und der Denitrifikationsrate ausgearbeitet (Tabelle 2). Eine relativ lange HRZ von 6 Stunden führte zu der höchsten relativen Nitrat-Abnahme in Prozent (Denitrifikationseffizienz). Im Gegensatz dazu führte eine lange HRZ von 6 Stunden zu der niedrigsten absoluten Nitratreduzierung in $\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ Aufwuchskörper (Denitrifikationsrate). Bei einer HRZ von 2 Stunden wurde die gegenteilige Beobachtung gemacht (höchste Denitrifikationsrate und niedrigste Denitrifikationseffizienz). Folglich hängt eine optimale HRZ davon ab, ob man Nitrat möglichst effizient (prozentual) aus dem Zulaufwasser des SID-Reaktors entfernen möchte oder ob man eine hohe

Denitrifikationsrate anstrebt, bei der man pro Zeiteinheit möglichst viel Nitrat entfernt. Daher hängt eine optimale HRZ auch von dem verfolgten Ziel ab.

Als Ergebnis des HRZ-Versuches lässt sich somit schlussfolgern, dass der optimale Betrieb des SID-Reaktors in Bezug auf die HRZ zwei mögliche Optionen bietet. Um möglichst schnell und viel NO_3^- -N aus der Kreislaufanlage zu entfernen sollte eine niedrige HRZ von 2 Stunden (hohe hydraulische Belastung) bevorzugt werden. Möchte man im Ablaufwasser des SID-Reaktors eine möglichst geringe NO_3^- -N Konzentration erzielen sollte eine hohe HRZ von 6 Stunden (geringe hydraulische Belastung) bevorzugt werden.

8.2.5.2 Rückspülintervall

Ein bekanntes Problem bei den meisten biologischen Filtereinheiten ist das Verstopfen der Filter durch Bakterienwachstum oder durch feine Schwebstoffe in der Wassersäule (Kamstra et al. 1998, Eding et al. 2006). Dies kann zu einer Kanalisierung oder zu einer vollständigen Blockade des Wasserstroms führen (Paller & Lewis 1982, Sastry et al. 1999). Im Hinblick auf aerobe Biofiltersysteme kann ein solches Verstopfen des Filters die Nitrifikationskapazität reduzieren (Eding et al. 2006, Michaud et al. 2006). Des Weiteren kann unter anaeroben Bedingungen organische Substanz durch Bakterien zersetzt werden und eine Ammoniakfreisetzung verursachen, wodurch wiederum der Nitrifikationsprozess ebenfalls gestört wird (Rakocy et al. 2006). Bei denitrifizierenden Biofiltern kann ein Verstopfen des Reaktors hingegen die Denitrifikationskapazität verringern. So berichten Sauthier et al. (1998) von einer erhöhten Nitrit Produktion und dadurch bedingt einer erhöhten Nitrit Konzentration im Haltungswasser einer Kreislaufanlage, das im Verhältnis zu der Menge an verstopften Aufwuchskörpern stand. Um eine gleichbleibende und effiziente Denitrifikationsleistung sicherzustellen ist daher das Verhindern des Verstopfens von Aufwuchskörpern bzw. des Reaktorraums entscheidend. Das Design des SID-Reaktors ermöglicht die Einstellung einer automatischen Rückspülung der Aufwuchskörper und verhindert somit ein Blockieren des Wasserflusses. Dies kann letzten Endes zu einer guten Denitrifikationsleistung und einem geringen Wartungsaufwand führen.

Das auffälligste Ergebnis des RSI-Versuchs war, dass das RSI-10 im Vergleich zu den anderen Intervallen (RSI-30, RSI-60 und RSI-90) eine geringere NO_3^- -N und TN Reduktion aufwies. Darüber hinaus war ein enormer Anstieg der NO_2^- -N Konzentration im Ablaufwasser des SID-Reaktors feststellbar. Diese Beobachtungen haben das Beenden der RSI-10 Versuchsreihe nach 6 Versuchstagen notwendig gemacht. Die Beobachtungen, die bei der RSI-10 Einstellung gemacht wurden, sind durch zwei mögliche Prinzipien, die im Folgenden erläutert werden, zu erklären: Einerseits kann der physikalische Stress, der beim häufigen

Rückspülen auftritt, die Stoffwechselaktivität der Bakterien belasten und andererseits kann ein erhöhter Sauerstoffzustrom beim häufigen Umwälzen die anoxischen Bedingungen im SID-Reaktor in aerobe Bedingungen ändern. Der physikalische Stress durch häufiges Rückspülen führt im Allgemeinen dazu, dass Biofilm von den Aufwuchskörpern durch Scherkräfte, direkt durch Abrieb oder durch die Kollision der Aufwuchskörper miteinander entfernt wird (Hozalski & Bouwer 1998, Chaudhary et al. 2003, Camargo et al. 2005). Wenn das RSI in zu kurzen Abständen erfolgt, kann der physikalische Stress zu einer übermäßigen Entfernung von Bakterienmasse führen, die sobald sie das Bakterienwachstum übersteigt zu einer Verringerung der Gesamtbakterienzahl im Reaktor führen. Die erhöhte Trübung im SID-Reaktor Ablaufwasser (Tabelle 3) bei RSI-10 kann ein Indiz für die erhöhte Entfernung der Bakterienmasse sein. Durch die verringerte Bakterienpopulation im SID-Reaktor steigt in der Reaktorkammer die Sauerstoffkonzentration und in Folge auch das ORP an. Dies könnte letzten Endes zu der beobachteten Bildung von Nitrit geführt haben (Oh & Silverstein 1999, Plósz et al. 2003, Yang et al. 2012, Guo et al. 2017). Als Resultat konnte für RSI-10 eine geringere Denitrifikationseffizienz und Denitrifikationsrate beobachtet werden (Tabelle 4). Darüber hinaus kann, wenn die Seitenkanal-Vakuumpumpe im Zuge der Rückspülung läuft, durch den Druckausgleich eine geringe Menge an Sauerstoff in den Reaktor eintreten. Wenn die Rückspülung zu häufig stattfindet, wird das zu behandelnde Wasser in der Denitrifikationseinheit mit Sauerstoff angereichert und bewirkt damit auch ein höheres Redoxpotential. Als Folge kann dies zur Bildung von Denitrifikationszwischenprodukten (z. B. Nitrit) geführt haben und die verringerte Denitrifikationsleistung des SID-Reaktors erklären.

Bei RSI-10 wurde im Vergleich zu den anderen RSI Einstellungen eine niedrige Denitrifikationseffizienz von 29% NO_3^- -N Reduktion (Tabelle 4) und eine vierfach höhere NO_2^- -N Konzentration ($16,4 \text{ mg L}^{-1}$, Tabelle 3) beobachtet. Noch schwerwiegender ist der Anstieg des TN (negative TN-Reduktion, Tabelle 4) zu bewerten, der möglicherweise durch den Abbau organischer Verbindungen erklärt werden kann. Durch die verringerte Denitrifikationsleistung wird auch der positive Effekt der Denitrifikation auf den pH-Wert (van Rijn et al. 2006) beeinträchtigt. Dies konnte auch im Versuch beobachtet werden, da im Vergleich mit den anderen RSI Einstellungen für RSI-10 ein geringerer pH-Wert (Tabelle 3) im Ablaufwasser des SID-Reaktors beobachtet wurde. Es lässt sich somit schlussfolgern, dass das Rückspülen der Aufwuchskörper alle 10 Minuten zu häufig ist und für den SID-Reaktor nicht empfohlen werden kann.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen für RSI-10 führte ein Rückspülintervall alle 30, 60 und 90 Minuten zu akzeptablen niedrigen Sauerstoffgehalten von $\leq 0,2 \text{ mg L}^{-1}$ und niedrigen ORP von $< -150 \text{ mV}$ (Tabelle 3). Darüber hinaus wurde für RSI-30, RSI-60 und RSI-90 nahezu

keine intermediäre Nitrit Produktion beobachtet, was auf stabile Denitrifikationsprozesse hindeutet. Daher wurde für RSI-30, RSI-60 und RSI-90 (Tabelle 4) Denitrifikationseffizienzen von $\geq 75\%$ NO_3^- -N Reduktion und $\geq 65\%$ TN-Reduktion gemessen, die für die drei RSI in einem ähnlichen Bereich lagen. Die Denitrifikationsrate für die RSI-30 Einstellung zeigte eine verringerte NO_3^- -N Reduktionsrate im Vergleich zu RSI-60 und RSI-90 (Tabelle 4) höher ausfielen. Aufgrund einer systembedingten geringeren NO_3^- -N Konzentration im Zulaufwasser bei der RSI-30 Testreihe (Tabelle 3), ist ein direkter Vergleich mit den anderen RSI Einstellungen nicht optimal. Idealerweise wären für alle getesteten RSI Einstellungen gleiche NO_3^- -N Konzentrationen im Zulaufwasser optimal gewesen und hätten womöglich zu homogeneren Denitrifikationsraten geführt. Nichtsdestotrotz ist die Interpretation der Denitrifikationseffizienz in Prozent davon nicht betroffen und zwischen den Behandlungsgruppen vergleichbar (Tabelle 4).

Das Problem des Verstopfens der Reaktorpassage und die Notwendigkeit eines Filterdesigns, das dieses Verstopfen verhindert, wird in zahlreichen Studien beschrieben. Alternativ müsste im Reaktor ein Verfahren zur Entfernen von totem Biofilm berücksichtigt werden, das den Wartungsaufwand reduziert (Paller & Lewis 1982, Alonso et al. 1997, Hozalski & Bouwer 1998, Moretti et al. 1999a, Sastry et al. 1999, McMillan et al. 2003, Eding et al. 2006, Rakocy et al. 2006, Chu & Wang 2011b, Müller-Belecke et al. 2013, Wang & Chu 2016). In den Versuchen dieses Projektes wurde festgestellt, dass durch Erhöhung des RSI größere und dichtere Partikel aus dem SID-Reaktor freigesetzt wurden (Tabelle 4). Größere Partikel führten bei den Versuchen zu einem verstärkten Verstopfen des Auslassrohrs, was den Wartungsaufwand insgesamt erhöhte. So führte ein RSI alle 90 Minuten zum Verstopfen der Aufwuchskörper und des Ablaufrohres des SID-Reaktors. Bei der Beurteilung der Ergebnisse der unterschiedlichen Rückspülintervalle sollte die Änderung der Partikelcharakteristik daher ebenfalls berücksichtigt werden.

Aus den RSI-Versuchen lässt sich schlussfolgern, dass durch regelmäßiges Rückspülen der Aufwuchskörper ein Verstopfen des SID-Reaktors wirksam verhindert werden kann. Eine zu häufige Rückspülung (alle 10 Minuten) führte jedoch zu einem Zusammenbruch der Denitrifikation, möglicherweise durch vermehrt auftretende Scherkräfte und einen erhöhten Sauerstoffgehalt. Im Gegensatz dazu begünstigt eine relativ seltene Rückspülung (alle 90 Minuten) das Verstopfen des Reaktors und erhöht den Wartungsaufwand. Daher kann ein RSI von 30 bis 60 Minuten für den SID-Reaktor empfohlen werden. Beide Intervalle führten insgesamt sowohl zu einer guten Denitrifikationseffizienz, als auch zu guten Denitrifikationsraten. Generell sollte bei der Entwicklung von Biofiltersystemen (aerobe und

anaerobe) ein Design in Betracht gezogen werden, das eine angemessene Rückspültechnik und -häufigkeit ermöglicht.

8.2.5.3 C/N-Verhältnis

Die Leistung von heterotrophen Denitrifikationsreaktoren hängt maßgeblich von organischen Kohlenstoffquellen als Elektronendonator ab. Eine unzureichende Versorgung mit endogenem organischem Kohlenstoff kann die Prozesse der in situ heterotrophen Denitrifikation einschränken. Der Zusatz externer Kohlenstoffquellen ist insbesondere in der RAS-Aquakultur von wesentlicher Bedeutung (Lampe und Zhang, 1996). Folglich ist die Diskussion um unterschiedliche Kohlenstoffquellen bei Denitrifikationsprozessen in der Aquakultur ein wiederkehrendes Thema unterschiedlichster wissenschaftlicher Studien. Die mit am häufigsten verwendeten Kohlenstoffquellen sind Acetat (Essigsäure), Ethanol, Glucose, Glycerin, Methanol und Melasse (Timmermans & van Haute 1983, van Rijn & Rivera 1990, Clifford & Liu 1993, Lampe & Zhang 1996, Sauthier et al. 1998, Oh et al. 2001, Klas et al. 2006, van Rijn et al. 2006, Hamlin et al. 2008a, Yang et al. 2012, Lekang 2013, Müller-Belecke et al. 2013, Bregnballe 2015). Methanol wird jedoch am häufigsten bevorzugt, da es relativ kostengünstig ist und im Vergleich zu anderen Kohlenstoffquellen weniger Schlamm erzeugt (Hamlin et al. 2008a). Methanol wurde daher auch im Großteil der präsentierten Versuche als Kohlenstoffquelle verwendet, obwohl es im Hinblick auf die Toxizität kritisch zu bewerten ist (Kaviraj et al. 2004). So kann bei einer Überdosierung nicht metabolisiertes Methanol das Haltungswasser belasten und möglicherweise die kultivierten Fische schädigen. Zudem würde nicht metabolisiertes Methanol die Betriebskosten eines RAS erhöhen, da es letzten Endes verschwendet wird. Daher ist es äußerst wichtig, eine falsche Methanol-Dosierung beim Betrieb eines Denitrifikationsreaktors zu vermeiden.

Gemäß der Stöchiometrie beträgt der Methanolbedarf für die Denitrifikation 1,9 g Methanol pro 1,0 g Nitrat-N, was einem C/N-Verhältnis von 1,9 entspricht (Cheremisinoff 1995). Da Stickstoff und Kohlenstoff von denitrifizierenden Bakterien auch für die Zellsynthese verwendet werden, berechnen Kadlec & Wallace (2008) einen zusätzlichen Bedarf von 0,57 g Methanol, was sich schließlich auf 2,47 g Methanol pro 1,0 g Nitrat-N aufsummiert. Timmermans & van Haute (1983) berichten in ihren Studien von einem C/N-Verhältnis von 2,55, während Clifford & Liu (1993) ein optimales C/N-Verhältnis von 2,7 angeben um eine Denitrifikationseffizienz von >95% zu erlangen. Ein höherer Bedarf von 2,9 g Methanol für 1,0 g Nitrat-N wurde in der Studie von Theis & Hicks (2012) berichtet.

Aus den Ergebnissen die in den Versuchen dieses Projektes erhoben wurden ist offensichtlich, dass die Ermittlung eines C/N-Verhältnisses auf Basis eines einzigen

Wasserparameters nicht zielführend ist (Tabelle 5). Es ist notwendig, die Wasserparameter (abhängig vom C/N-Verhältnis) nach ihrer Relevanz zu ordnen. Die für Sauerstoffsättigung und ORP durchgeführte segmentierte lineare Regressionsanalyse zeigte ein C/N-Verhältnis von 2,1 bzw. 1,7, um die entsprechend niedrigsten Werte zu erreichen (Abbildung 10A & B). Ein C/N-Verhältnis von 2,1 würde auch mit dem Breakpoint für eine niedrige NO_3^- -N Konzentration im Ablauf des SID-Reaktors übereinstimmen (Abbildung 10E). Ein C/N-Verhältnis von 2,1 oder 1,7 würde jedoch zur Produktion von unerwünschten Zwischenprodukten führen, da das optimale C/N-Verhältnis für TAN und NO_2^- -N höher ist und 2,3 beträgt (Abbildung 10C & D). Unvollständige Denitrifikation geht mit einer Erhöhung der TAN und NO_2^- -N Konzentration als Zwischenprodukte einher (van Rijn & Rivera 1990, Oh & Silverstein 1999, Plósz et al. 2003, Hamlin et al. 2008a, Yang et al. 2012, Guo et al. 2017). Bei zu hohen Konzentrationen im Haltungswasser können beide Zwischenprodukte die Gesundheit der kultivierten Fischarten negativ beeinflussen. Daher sollte das C/N-Verhältnis so gewählt werden, dass alle kritischen Parameter in einem optimalen Bereich liegen.

Zusammenfassend aus den C/N-Versuchen kann festgehalten werden, dass zur Bestimmung eines optimalen C/N-Verhältnisses für Denitrifikationsprozesse alle relevanten und denitrifikationsabhängigen Wasserqualitätsparameter berücksichtigt werden müssen. Die optimale Kohlenstoffdosierung sollte daher nach dem Leitprinzip bestimmt werden: so viel wie nötig, so wenig wie möglich. Bei einem C/N-Verhältnis von 2,3 würden die Sauerstoffsättigung und das Redoxpotential so niedrig wie möglich gehalten, und gleichzeitig würden die TAN, NO_2^- -N und NO_3^- -N Konzentrationen im Ablaufwasser möglichst niedrige Werte aufweisen. Zusätzlich würde ein C/N-Verhältnis von 2,3 eine TN-Reduktion von insgesamt 75% bewirken (Abbildung 10F).

8.2.6 Zusammenfassung

Die Bestimmung grundlegender Betriebsparameter und ein tieferes Verständnis ihrer Auswirkungen auf die Denitrifikation sind erforderlich, um eine stabile und effiziente Nitratentfernung mit einem der neuesten Generation von Denitrifikationsvorrichtungen in RAS zu ermöglichen. Die vorliegenden Ergebnisse tragen zu einem besseren Verständnis der Auswirkungen unterschiedlicher HRZ, RSI und C/N-Verhältnisse auf Denitrifikationsprozesse und die Wasserqualität bei Verwendung eines SID-Reaktors bei. Die Hauptergebnisse der Versuche lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Eine HRZ von 6 Stunden führte zu einer Denitrifikationseffizienz von bis zu 81% Nitratreduktion, jedoch zu einer Gesamtdenitrifikationsrate von $253 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper. Eine HRZ von 2 Stunden führte zu einer Gesamtdenitrifikationsrate von $497 \text{ g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörpern, jedoch bei einer verringerten Denitrifikationseffizienz von 64%.
- Beim Betrieb eines SID-Reaktors wird ein RSI von 30 bis 60 Minuten empfohlen. Ein RSI von 10 Minuten führte zu einer Erhöhung der Sauerstoffkonzentration in der Denitrifikationseinheit und zu einer Hemmung des Denitrifikationsprozesses, was einen kompletten Ausfall der Denitrifikation bedingen könnte. Im Gegensatz dazu begünstigte ein RSI von 90 Minuten das Verstopfen der Aufwuchskörper, was zu einem erhöhten Wartungsaufwand führte.
- Ein C/N-Verhältnis von 2,3 ist zu empfehlen, um die untersuchten Wasserqualitätsparameter in einem für Denitrifikationsprozesse optimalen Bereich zu halten und gleichzeitig eine niedrige Produktion von Zwischenprodukten zu bewirken. Generell sollte eine ganzheitliche Betrachtung der Wasserqualitätsparameter zur Beurteilung eines optimalen C/N-Verhältnisses herangezogen werden, da es sonst zu einer ungünstigen Dosierung der Kohlenstoffquelle (C/N-Verhältnis) kommen kann.

8.3 Mikrobiologisches Monitoring - Bakteriengemeinschaft und -aktivität (AP 2 & AP 3)

8.3.1 Bakteriengemeinschaft

Um Änderungen in der Bakteriengemeinschaft und -aktivität in aeroben und anoxischen Biofiltern einer Kreislaufanlage zu beurteilen wurde innerhalb eines halben Jahres der aerobe MBBR und der anoxische SID-Reaktor einem mikrobiologischen Monitoring unterzogen. Da die Bestückung des SID-Reaktors bei der Installation an das großskalige Versuchsmodul mit Aufwuchskörpern aus dem aerob arbeitenden MBBR erfolgte, wurde eine Probe der genutzten Aufwuchskörper als Startwert für beide Reaktoren, SID-Reaktor und aerober MBBR, verwendet. Im weiteren Betrieb wurden Proben sowohl aus dem aeroben MBBR wie auch dem anaeroben SID-Reaktor einzeln analysiert.

Gesamtzellzahl und Lebendzellzahl

Zu Versuchsstart wurde eine Probe aus dem aeroben MBBR entnommen und hinsichtlich der Gesamtzellzahl und Lebendzellzahl untersucht (Tabelle 6). Die Gesamtzellzahl betrug dabei $2,7 \times 10^7$ Zellen pro Aufwuchskörper und die Lebendzellzahl $1,6 \times 10^7$ Zellen pro Aufwuchskörper. Der prozentuale Anteil an lebenden Zellen betrug somit 60%, wobei die gemessenen Zellzahlen laut Analyseinstitut vermicon AG (München, Deutschland) Mindestwerte darstellen. Grund dafür ist die komplex gestaltete Struktur der Aufwuchskörper, die eine vollständige Erfassung der Mikroorganismen erschwerte.

Nach einem 3 monatigen Betrieb beider Reaktoren wurden weitere Aufwuchskörper analysiert. Hier konnten deutlich erhöhte Gesamtzellzahlen von $7,2 \times 10^8$ für den SID-Reaktor und $4,8 \times 10^8$ Zellen/Aufwuchskörper für den aeroben MBBR ermittelt werden (Tabelle 6). Die Lebendzellzahlen lagen bei $4,7 \times 10^8$ und $3,2 \times 10^8$ Zellen/Aufwuchskörper für den SID-Reaktor und den MBBR. Somit lag der prozentuale Anteil an lebenden Zellen mit Werten von 65% (SID-Reaktor) und 66% (MBBR) etwas höher als zu Versuchsbeginn.

Im weiteren Versuchsverlauf (Probennahme nach 6 Monaten) haben sich die Gesamtzellzahl und Lebendzellzahl weiterhin erhöht, sodass in der Probe des SID-Reaktors Gesamtzellzahlen von $1,0 \times 10^9$ und Lebendzellzahlen von $6,0 \times 10^8$ Zellen/Aufwuchskörper gemessen werden konnten. Wobei der Lebendzellanteil mit 59% etwas reduzierter ausfiel. In der Probe des Biofilters haben sich sowohl die Gesamtzellzahl als auch Lebendzellzahl auf

jeweils $6,9 \times 10^8$ und $4,5 \times 10^8$ Zellen/Aufwuchskörper erhöht. Der prozentuale Anteil an lebenden Zellen betrug somit 65% und war damit vergleichbar mit der Probe nach einem 3 monatigen Betrieb.

Tabelle 6: Gesamtzellzahl und Lebendzellzahl des Biofilms auf den Aufwuchskörpern (AK).

	SID-Reaktor		MBBR	
	Gesamtzellzahl [Zellen/AK]	Lebendzellzahl [Zellen/AK]	Gesamtzellzahl [Zellen/AK]	Lebendzellzahl [Zellen/AK]
Start	$2,7 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$
3 Monate Betrieb	$7,2 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
6 Monate Betrieb	$1,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$

Hauptgruppen

Die Ergebnisse der Gensondenmessungen aus den Hauptgruppen-Analysen sind in Abbildung 11 dargestellt. Schon zu Versuchsbeginn bestand eine wünschenswerte Diversität an verschiedenen Hauptgruppen sowie ein Gleichgewicht ohne vorherrschende Dominanz einzelner Gruppen. Die hohe Diversität der einzelnen Populationen deutete auf eine stabile Gesamtbiozönose hin.

Auch bei der Analyse der Proben aus dem SID-Reaktor und MBBR nach 3 monatigem Betrieb war eine wünschenswerte Diversität an verschiedenen Hauptgruppen sowie eine relative Ausgewogenheit ohne vorherrschende Dominanz einzelner oder nur weniger Gruppen in beiden Proben zu erkennen. Bei der Probe aus dem SID-Reaktor war jedoch das Fehlen der Nitrospirae, die wichtigsten und meist dominanten Nitrit-oxidierenden Bakterien in Wasseraufbereitungsanlagen, auffällig. Dies ist durch den Wechsel zu anaeroben Bedingungen zu erklären, da in der Probe aus dem aeroben MBBR Nitrospirae weiterhin vorzufinden waren.

Nach einem 6 monatigen Betrieb wiesen die Proben des SID-Reaktors und des MBBR eine relative Ausgewogenheit ohne vorherrschende Dominanz einzelner oder nur weniger Gruppen auf. Im Vergleich zur Probe aus dem SID-Reaktor nach 3 monatigem Betrieb fiel nach 6 Monaten besonders das beinahe vollständige Fehlen von Nitrifikanten-typischen Clustern auf. Dies ist als weitergehende Folge der anoxischen Bedingungen zu sehen.

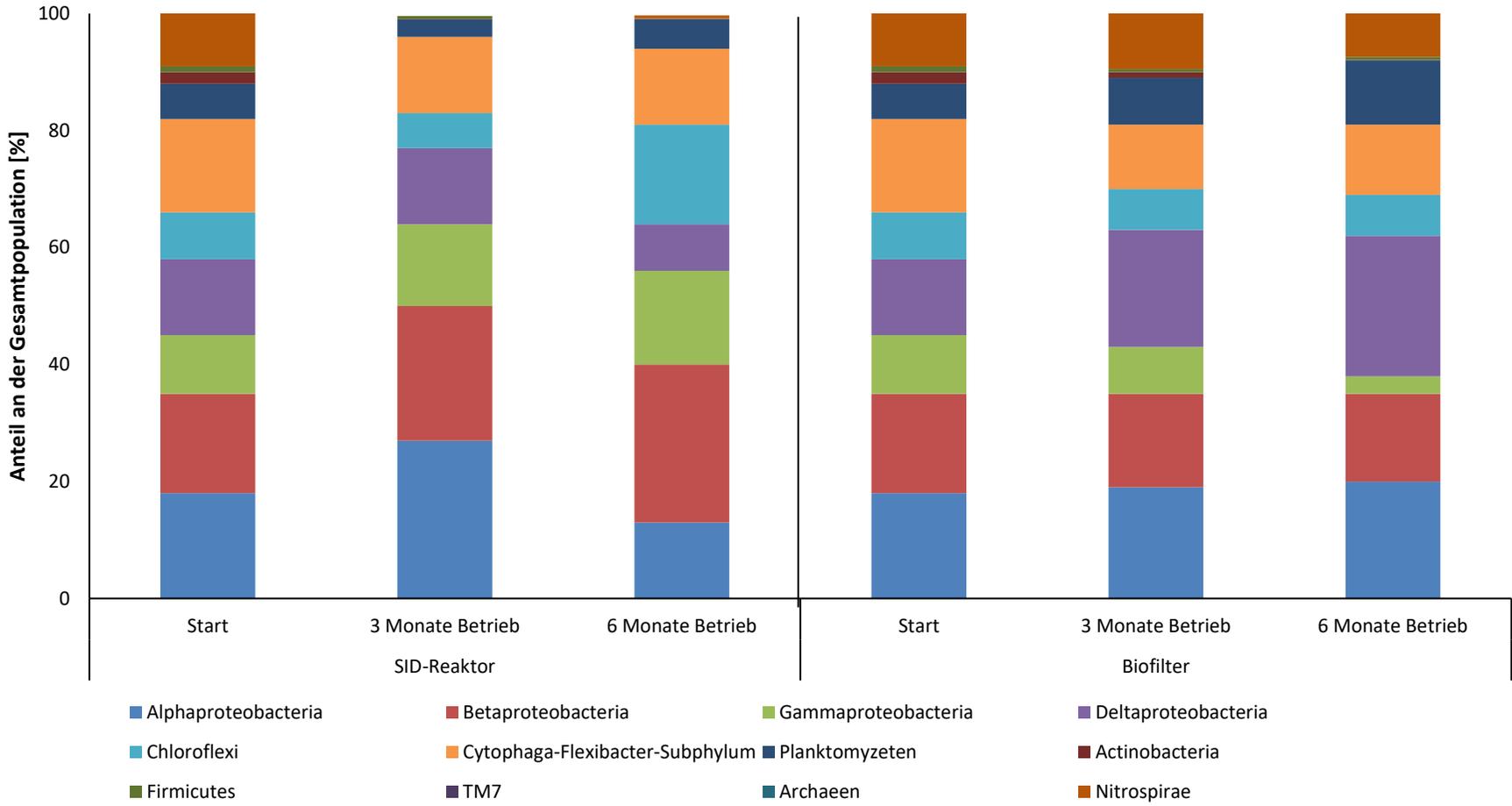


Abbildung 11: Vergleich der prozentualen Anteile der einzelnen Hauptgruppen-Populationen an der Gesamtlebezellzahl der drei Beprobungszeitpunkte.

Nitrifikanten

Insgesamt konnte in der Startprobe eine hohe Diversität an Nitrifikanten festgestellt werden, die fünf Hauptgruppen (Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Nitrospirae & Alphaproteobacteria) zugewiesen wurden. Mit der hier angewandten Nitrifikanten-Analyse konnten die beiden funktionellen Gruppen, Ammoniumoxidierer (AOB) und Nitritoxidierer (NOB), in den Proben nachgewiesen werden. Zu den AOBs gehören vorwiegend Betaproteobacteria und Nitrosococcus (Gammaproteobacteria). Zu den NOBs gehören hingegen Vertreter der Alphaproteobacteria (*Nitrobacter* spp.), der Gammaproteobacteria (*Nitrococcus mobilis*), der Betaproteobacteria (*Nitrotoga* spp.) sowie die Gruppen der Nitrospirae (*Nitrospira* spp.) und Deltaproteobacteria (*Nitrospina gracilis*).

Denitrifikanten

Die Gruppe der Denitrifikanten ist äußerst divers und beinhaltet Mitglieder der Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria und des Cytophaga-Flexibacter-Subphylums.

Bei der Startbeprobung konnten im Rahmen der Denitrifikanten-Analyse Saprospiraceae, die zur Gruppe des Cytophaga-Flexibacter-Subphylums gehören, mit einem Anteil von 16% an der Gesamtlebendzellzahl nachgewiesen werden. Neben Denitrifikanten des Cytophaga-Flexibacter-Subphylums konnten auch Bakterien, die zu den Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria und zum Azoarcus/Thauera-Cluster zugehörig sind, nachgewiesen werden.

Nach einem 3 monatigem Betrieb konnten die gleichen Vertreter an Denitrifikanten in Proben beider Reaktoren nachgewiesen werden. In der SID-Reaktor Probe konnten sich noch keine klaren Denitrifikantenpopulationen (z.B. *Accumulibacter* spp.) herauskristallisieren, die nicht auch unter aeroben Bedingungen in der MBBR Probe vorhanden waren.

Bei der Beprobung nach 6 monatigem Betrieb zeigte sich, dass sich in der Probe aus dem SID-Reaktor seit der letzten Untersuchung eine üblicherweise in Kläranlagen vorhandenen Denitrifikantenpopulationen (*Acidovorax* spp.) vermehrt hatte. Ferner konnten weitere Denitrifikanten, die auch schon in der letzten Beprobung identifiziert worden waren, wieder festgestellt werden.

ANAMMOX (Anaerobe Ammonium-Oxidation)

Die sogenannten ANAMMOX-Bakterien können unter anaeroben Verhältnissen Nitrit zusammen mit Ammonium zu molekularem Stickstoff abbauen. Dieser Prozess kann als zusammenfassende Reaktion aus Nitrifikation und Denitrifikation bezeichnet werden. Unter Verwendung spezifischer Gensonden konnten in den untersuchten Biofilmen jedoch keine ANAMMOX-Bakterien (Mitglieder der Planktomyzeten) nachgewiesen werden. Somit ist davon auszugehen, dass der Ammoniumabbau aus den mehrstufigen Prozessen der Nitrifikation und Denitrifikation besteht.

Fazit

Die Startprobe wies Anteile der Gesamtlebendzellzahl auf den Aufwuchskörpern von 22% für die identifizierbaren Nitrifikanten und 28% für Denitrifikanten auf. Es wird Vermutet das die Verwendung von bereits besiedelten Aufwuchskörpern aus dem MBBR, welche sowohl Nitrifikanten wie auch Denitrifikanten aufweisen, eine Inbetriebnahme des SID-Reaktors und eine Umstellung auf den anoxischen Betrieb dessen begünstigt hat.

Nach einem 3 monatigen Betrieb hat sich, wie in Abbildung 11 deutlich zu sehen ist, die Populationsstruktur der Biofilme auf den Aufwuchskörpern der beiden Reaktoren, offensichtlich in Abhängigkeit der Prozessführung, in gewissem Umfang auseinander entwickelt. Beide Reaktoren haben deutlich um mehr als eine Zehnerpotenz sowohl an Lebend- als auch an Gesamt-Zellzahlen zugenommen. Ferner konnten sich in der SID-Reaktor Probe noch keine klaren Denitrifikantenpopulationen herauskristallisieren, die nicht auch unter aeroben Bedingungen in der MBBR Probe vorhanden waren. In der MBBR Probe konnten sich nach 3 monatigem Betrieb alle mittels spezifischer Gensonde nachweisbaren Nitrifikanten stabilisieren.

Nach einem 6 monatigen Betrieb des SID-Reaktors hat sich die Populationsstruktur der Biofilme auf den Aufwuchskörpern in gewissem Umfang weiterentwickelt und verändert. Erwartungsgemäß ist der größte Teil an Nitrifikanten weiter zurückgegangen und bewegt sich an der Nachweisgrenze, wobei das mikrobielle Denitrifikanten-Gleichgewicht auf den Aufwuchskörpern des SID-Reaktors noch nicht komplett eingestellt scheint.

Generell konnte kein negativer Effekt des SID-Reaktors auf die Bakterienpopulation und -aktivität des aeroben nitrifizierenden MBBR der Anlage festgestellt werden. Zwar sind Änderungen in der Bakteriengemeinschaft zu beobachten, diese lassen sich jedoch auf eine natürliche Fluktuation in der Gemeinschaft zurückführen. Des Weiteren kann durch die

Zunahme der Lebendzellzahl im MBBR ebenfalls kein negativer Einfluss des SID-Reaktors auf die Bakterienvitalität festgestellt werden.

Es ist davon auszugehen, dass die versuchsbedingt immer wiederkehrenden Änderungen im Betrieb des SID-Reaktors zu gewissen Umstellungen der Bakteriengemeinschaft in beiden Filtersystemen führten. Ein stabiler Betrieb des SID-Reaktors mit konstanten Einstellungen könnte letztendlich zu stabileren Bakterienpopulationen führen. Da im Rahmen des Projektes immer wieder Veränderungen am SID-Reaktor vorgenommen wurden um die Fragestellungen zu beantworten, ist davon auszugehen, dass sich im Rahmen dieses Projektes keine finale Bakterienpopulation einstellen würde, was eine Beurteilung erschwert. Generell scheint eine diverse Bakterienpopulation in einem Filtersystem von Vorteil zu sein, da diese auch kurzfristige Umstellungen des Reaktors ermöglicht und zu vernachlässigbar kurzen Unterbrechungen im Denitrifikationsprozess führt.

8.3.2 Bakterienaktivität

In Abbildung 12 ist die Bakterienaktivität, ausgedrückt als Hydrolase Aktivität in AFU, im Wasser der Haltungseinheiten und im Zulauf- und Ablauf-Wasser des SID-Reaktors, dargestellt. Ohne den SID-Reaktor ist die Bakterienaktivität im Haltungswasser der Kreislaufanlage mit ca. 150 000 AFU relativ hoch. Nach der Inbetriebnahme des SID-Reaktors reduziert sich die Bakterienaktivität auf durchschnittliche Werte von 44 000 - 88 000 AFU im Haltungswasser und 35 000 – 58 000 AFU im Zulauf des Reaktors. Zwar sieht man hier eine deutliche Reduktion der Bakterienaktivität im Vergleich zum Betrieb des Moduls ohne SID-Reaktor, jedoch scheint die Retentionszeit keinen deutlichen Einfluss auf die Aktivitätsraten zu haben. Auch wenn die Hydrolase Aktivität der Bakterien im Ablaufwasser des SID-Reaktors mit abnehmender Retentionszeit ebenfalls abnimmt, kann dies unter Umständen auf Verdünnungseffekte zurückzuführen sein, da bei einer geringen Retentionszeit mehr Anlagenwasser durch den Reaktor geführt wird. Nichtsdestotrotz ist in Abbildung 12 zu sehen, dass bei zusätzlicher Stickstoff Zufuhr (+N) und ohne SID-Reaktor (-SID) die Bakterienaktivität im Haltungswasser erhöht ist. Somit kann aus den Ergebnissen gedeutet werden, dass der SID-Reaktor durch die Reduktion der Bakterienaktivität einen positiven Effekt auf die bakterielle Belastung des Haltungswassers hat.

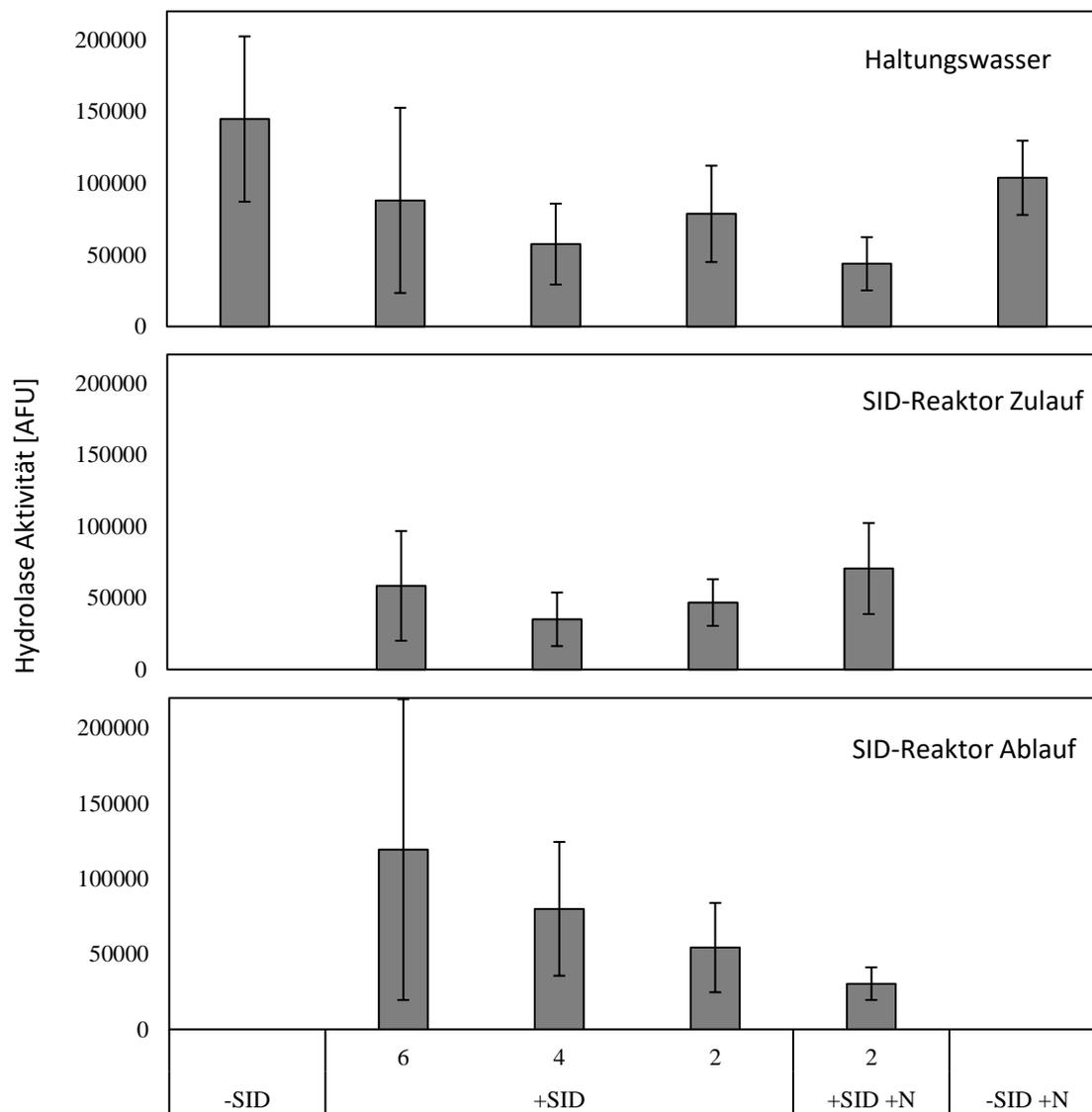


Abbildung 12: Bakterienaktivität im Wasser der Haltungseinheiten und im Zulaufes und Ablauf des SID-Reaktors. Die Zahlen auf der X-Achse kennzeichnen die hydraulische Retentionszeit. -SID: ohne SID-Reaktor; +SID: mit SID-Reaktor; -N: ohne zusätzliche Stickstoffquelle; +N: mit zusätzlicher Stickstoffquelle.

8.4 Gesundheits- und Leistungsparameter - Nitrat Exposition (AP 2 & AP 3)

8.4.1 Einleitung

Nitrat, ein Endprodukt biologischer Nitrifikationsprozesse, reichert sich bei der Wiederverwendung von Wasser in RAS an und führt zu erhöhten Nitrat Konzentrationen, die verschiedene physiologische Parameter von Fischen beeinflussen können. Im Rahmen des Projektes wurden als Süßwasserart Zander (*Sander lucioperca*) und als Salzwasserart Europäischer Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*) als Versuchsfische verwendet. Der Einfluss von Nitrat auf in RAS produzierten Zander wurde bereits untersucht (Schram et al. 2014). Über den Einfluss von Nitrat auf die Leistungsparameter und den Gesundheitszustand von in RAS gezüchteten Wolfsbarschen ist bisher nur wenig bekannt. Europäischer Wolfsbarsch wird normalerweise in Meerwasserteichen, Lagunen und Seekäfigen gezüchtet (Bagni 2005). Jedoch ist Wolfsbarsch neben Steinbutt (*Psetta maxima*) eine marine Fischart, die in RAS intensiv produziert werden kann (Blancheton 2000, Martins et al. 2010). Es ist zu erwarten, dass die Produktionsvolumen von marinen Fischarten in RAS weiter ansteigen werden, was bereits bei Süßwasserarten wie Zander und Salmoniden zu beobachten ist.

So steht die Produktion vom Europäischen Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*), sowie die Verbesserung der Haltungsbedingungen und die Intensivierung der Produktion im Fokus neuerer Studien (Pichavant et al. 2001, Eroldoğan et al. 2004, Conides & Glamuzina 2006, Sammouth et al. 2009, Buscaino et al. 2010, Vectesi et al. 2012, Dülger et al. 2012, Waller et al. 2015). Die erfolgreiche Produktion neuer Aquakultur-Arten in RAS hängt maßgeblich von der Ermittlung der biologischen Anforderungen der jeweiligen spezifischen Spezies ab (Dalsgaard et al. 2013). Weiterhin unbekannt ist, inwiefern Stoffwechselendprodukte wie Nitrat, die sich in RAS anreichern können, Auswirkungen auf neue Spezies in der Aquakultur haben.

Als mögliche Wege der Nitrataufnahme durch Fische werden die passive Diffusion über die Kiemen und oder den Gastrointestinaltrakt nach dem Abschlucken von Wasser diskutiert (Bath & Eddy 1980, Jensen 1995, Stormer et al. 1996, Grosell & Jensen 1999, van Bussel et al. 2012, Schram et al. 2012, Learmonth & Carvalho 2015). Jedoch sind diese Aufnahmewege noch immer nicht vollständig geklärt. Die Auswirkungen von Nitrat auf den Organismus sind hingegen vielfältig und hängen stark von biotischen Faktoren wie Fischart, Fischalter oder Fischgröße ab. Auch abiotische Faktoren wie die Dauer der Exposition, z.B. kurzfristige (akute Toxizität) oder langfristige Exposition (chronische Toxizität), beeinflussen

die Effekte von Nitrat (Scott & Crunkilton 2000, McGurk et al. 2006). Darüber hinaus kann eine Kreuzabhängigkeit von anderen Stressoren (Giftstoffe, wasserchemische Parameter, Gesundheit usw.) negative Auswirkungen verstärken (Wendelaar Bonga 1997). Im Allgemeinen beeinflusst Nitrat sowohl eine Reihe physiologischer Parameter, als auch die Überlebensraten verschiedener Fischarten (Westin 1974, Kincheloe et al. 1979, Pierce et al. 1993, Scott & Crunkilton 2000, Shimura et al. 2002, McGurk et al. 2006, van Bussel et al. 2012). Ein häufig beschriebener physiologischer Effekt ist die Methämoglobinämie, die zu einer verminderten Sauerstoffbindung der Blutzellen führt (Wuertz et al. 2013, Learmonth & Carvalho 2015, Wang & Chu 2016, Good et al. 2017, Pereira et al. 2017). Methämoglobinämie wird durch die endogene Umwandlung von Nitrat zu Nitrit und die anschließende Oxidation von Hämoglobin zu Methämoglobin induziert. Darüber hinaus konnten in Studien endokrine Störungen bei Fischen bedingt durch eine Nitrat-Exposition nachgewiesen werden (Hamlin et al. 2008a, Freitag et al. 2015). Ein weiterer negativer Effekt von Nitrat wurde von van Bussel et al. (2012) nachgewiesen. So zeigte Nitrat einen negativen Einfluss auf Leistungsparameter wie den FCR, den CF und den SSI. Pereira et al. (2017) berichteten von allgemeinen histologischen Schäden, die durch erhöhte Nitratkonzentrationen hervorgerufen wurden, während Shimura et al. (2004) Nitratschäden in Kiemen, Darmampullen, Leber und Nieren spezifizieren, welche Symptome einer Mangelernährung ähneln.

Daher ist es unumgänglich, den Einfluss von Nitrat auf Gesundheit und Produktionsparameter für alle in RAS gezüchteten Fischarten zu bewerten, sowie Grenzwerte für Nitrat festzulegen. Da der Europäische Wolfsbarsch im vorliegenden Projekt als ein Modellorganismus für eine marine Warmwasserspezies verwendet wurde, wurden die Auswirkungen von vier verschiedenen Nitratkonzentrationen auf die Produktionsleistung und den Gesundheitszustand bewertet, um so einen Einfluss des SID-Reaktors als Denitrifikationssystems besser abschätzen zu können.

8.4.2 Versuchssystem und -design

Zu Beginn wurden 408 Wolfsbarsche (34 pro RAS) mit einem anfänglichen Körpergewicht von etwa 108 g zufällig auf zwölf separate experimentelle RAS (Kapitel 6.2.3) verteilt und zehn Tage lang an die experimentellen Bedingungen adaptiert. Die durchschnittliche Start-Biomasse betrug $3,69 \pm 0,02$ kg pro Tank, was einer Besatzdichte von $13,17 \pm 0,07$ kg pro m^3 entsprach. Fische, die während der Adaptionsphase starben, wurden ersetzt. Fische, die während des Versuchs starben, wurden durch Fische mit gleichem Gewicht ersetzt, um die nominale Besatzdichte zu halten. Die neu bestückten Fische wurden nach einer Sedierung

durch eine Markierung am Kiemendeckel gekennzeichnet. Alle markierten Fische wurden bei der End-Beprobung (HSI, SSI, individuelle Länge, individuelles Gewicht und CF) und der Bestimmung der Überlebensrate ausgeschlossen, um sicherzustellen, dass für die Analysen nur Fische berücksichtigt wurden, welche über die gesamte Versuchsdauer der jeweiligen Nitrat Konzentration exponiert waren. Für gruppenbasierte Parameter (SGR, FCR und DFI) wurden markierte Fische in die Berechnungen einbezogen. Die Wolfsbarsche wurden an sechs Tagen in der Woche dreimal täglich mit einem handelsüblichen Futter (Aller Green, Emsland Aller Aqua GmbH, Golßen, Deutschland) manuell bis zur scheinbaren Sättigung gefüttert. Nicht gefressene Pellets wurden aus dem System entfernt und zur Bestimmung der tatsächlichen täglichen Futteraufnahme rausgerechnet.

Basierend auf dem experimentellen Design von van Bussel et al. (2012) wurden die Wolfsbarsche in einem triplikaten experimentellen Versuchsansatz für 10 Wochen vier unterschiedlichen Nitrat-N (NO_3^- -N) Konzentrationen in zwölf kleinskaligen RAS ausgesetzt. In je drei RAS wurden Nitrat-N Konzentrationen von $125 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N (niedrige Nitrat Konzentration, LN), $250 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N (mittlere Nitrat Konzentration, MN) und $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$ -N (hohe Nitrat Konzentration, HN) eingestellt. Zusätzlich enthielten drei RAS eine Kontrollgruppe (Kontrolle, C) mit der niedrigsten möglichen Nitrat Konzentration im Haltungswasser (bedingt durch die Nitratproduktion im System und den Wasseraustausch).

Die Nitratkonzentrationen wurden mit Natriumnitrat (NaNO_3 , Art.-Nr.8601.5, Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe) und Kaliumchlorid (KCl, Art.-Nr. 6781.3, Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) eingestellt. Die Salze wurden in einem Na+/K+ Gewichtsverhältnis von 1:27 gemischt. Dieses Verhältnis entspricht natürlichem Meerwasser und beugt laut van Bussel et al. (2012) und Romano & Zeng (2007, 2009) einem Ungleichgewicht der zellulären Homöostase vor. Um einen Anstieg der Nitratgehalte während des Versuchs zu vermeiden, wurden 210 L Wasser pro RAS zweimal wöchentlich ausgetauscht. Vor jedem Wasseraustausch wurde die Nitrat-N Konzentration im Kreislauf ermittelt. Basierend auf diesem Wert wurde die erforderliche Menge Natriumnitrat und Kaliumchlorid zu den 210 Liter Austauschwasser (sandfiltriert, mit UV-Strahlung behandeltes und belüftetes Nordseewasser aus einem Speichertank) hinzugefügt, um die nominalen Nitratkonzentrationen zu halten. Dem Austauschwasser der Kontrollbehandlung wurden kein Natriumnitrat und Kaliumchlorid zugesetzt.

Die tatsächlich gemessenen Nitrat-N Konzentrationen sind in Abbildung 13 dargestellt und waren zwischen den drei Replikaten jeder Behandlung statistisch gleich ($p > 0,05$), im Gegensatz zu den vier Behandlungsgruppen, die statistisch unterschiedlich waren ($p < 0,05$), was den experimentellen Aufbau bestätigte.

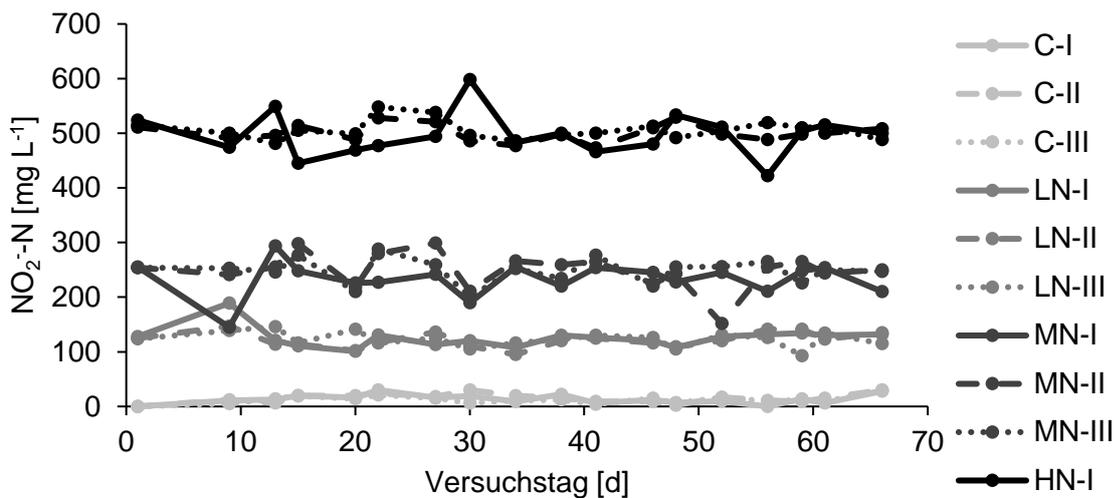


Abbildung 13: Nitrat-N Konzentration der zwölf experimentellen RAS während des zehnwöchigen Versuchs. Jede Behandlung, Kontrolle (C), niedrige Nitratkonzentration (LN), mittlere Nitratkonzentration (MN) und hohe Nitratkonzentration (HN) ist im triplikaten Ansatz (I bis III).

Während des gesamten Versuchszeitraums befanden sich alle Wasserqualitätsparameter (außer Salzgehalt und Nitrat), die in Tabelle 8 gezeigt sind, in einem für Wolfsbarsche gemäß den in Tabelle 7 angegebenen Referenzen gefährlosen Bereich. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen (C, LN, MN und HN) wurden beim Salzgehalt, Nitrit, Nitrat und pH ($p < 0,05$, Tabelle 8, gekennzeichnet durch die Buchstaben a, b, c, d) beobachtet. Alle anderen Wasserqualitätsparameter wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen auf.

Obwohl der Salzgehalt geringfügig unter dem empfohlenen Minimum von 28‰ lag, kann davon ausgegangen werden, dass die vorherrschenden Werte keinen negativen Einfluss auf den Wolfsbarsch als euryhaline Art hatten (Marino et al. 1994, Jensen et al. 1998, Eroldoğan & Kumlu 2002, Algers et al. 2008). Die signifikanten Unterschiede die für den Salzgehalt zwischen den Behandlungsgruppen ermittelt wurden korrelierten mit den Nitratkonzentrationen. Die Nitratkonzentrationen wurden mit einer Natriumnitratlösung eingestellt, die wiederum zur Salinität beiträgt. Die Nitrit Konzentration korreliert ebenfalls positiv mit den Nitratwerten. Die verwendete Messmethode für Nitrit basiert auf der Griess-Reaktion (Griess 1879), bei der die chemische Reaktion durch hohe Nitratwerte beeinflusst wird. In Bezug auf Blancheton (2000) lagen die Nitritwerte aller Behandlungen jedoch immer unter dem kritischen Wert von $< 2 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^{-}\text{-N}$, so dass ein negativer Einfluss auf den Wolfsbarsch ausgeschlossen werden kann.

Insgesamt können die in Tabelle 8 aufgeführten Wasserqualitätsparameter (mit Ausnahme von $\text{NO}_3^{-}\text{-N}$) als Faktoren, die die Produktionsparameter und die Gesundheit von Wolfsbarschen negativ beeinflussen, ausgeschlossen werden.

Tabelle 7: Grenzwerte für Wasserqualitätsparameter für die Zucht von Europäischen Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*).

Parameter	Bereich	Einheit	Quelle
Temperatur	22 - 26	°C	(Blancheton 2000, Person-Le Ruyet et al. 2004, Claireaux et al. 2006, Algers et al. 2008, Dülger et al. 2012)
pH	6,5 - 8,5		(Blancheton 2000, Algers et al. 2008)
Salinität	Euryhalin (>28)	‰	(Conides & Glamuzina 2006, Algers et al. 2008)
Sauerstoffsättigung	>86	%	(Thetmeyer et al. 1999, Blancheton 2000, Algers et al. 2008)
TAN	< 2 - 6 (6 mg L ⁻¹ bei pH 8)	mg L ⁻¹	(Blancheton 2000, Dosdat et al. 2003, Lemarié et al. 2004)
NO ₂ ⁻ -N	< 2	mg L ⁻¹	(Blancheton 2000)

TAN, Gesamt-Ammoniakstickstoff; NO₂ - N, Nitritstickstoff

Tabelle 8: Mittelwerte (\pm SD) der Wasserqualitätsparameter bei unterschiedlichen Nitratkonzentrationen im Haltungswasser, einschließlich n. Werte für die Wasserqualität wurden während eines zehnwöchigen experimentellen Versuchs für jedes RAS jeder Behandlung erhoben.

Behandlungs-Gruppe	NO ₃ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	Temperatur [°C]	pH	DO [mg L ⁻¹]	DO [%]	TAN [mg L ⁻¹]	NO ₂ ⁻ -N [mg L ⁻¹]	Salinität [‰]
C	13.4 ^a \pm 7.8	25.0 \pm 0.4	7.3 ^a \pm 0.2	9.9 \pm 0.9	121.5 \pm 11.1	0.10 \pm 0.09	0.07 ^a \pm 0.03	25 ^a \pm 1
LN	123.4 ^b \pm 15.3	24.9 \pm 0.2	7.3 ^a \pm 0.2	9.9 \pm 0.9	122.5 \pm 11.0	0.11 \pm 0.10	0.11 ^{ab} \pm 0.05	25 ^a \pm 1
MN	243.4 ^c \pm 30.0	24.9 \pm 0.3	7.3 ^a \pm 0.1	9.8 \pm 0.9	120.9 \pm 11.2	0.11 \pm 0.08	0.13 ^{ab} \pm 0.05	26 ^b \pm 1
HN	501.1 ^d \pm 26.2	24.9 \pm 0.3	7.4 ^b \pm 0.2	10.0 \pm 0.9	123.2 \pm 10.5	0.11 \pm 0.08	0.15 ^c \pm 0.07	27 ^c \pm 1
n	54	183	189	159	159	90	90	82

Hochgestellte Buchstaben innerhalb einer Spalte weisen auf signifikante Unterschiede hin. C, Kontrolle; LN, niedrige Nitratkonzentration; MN, mittlere Nitratkonzentration; HN, hohe Nitratkonzentration; DO, gelöster Sauerstoff; TAN, Gesamt-Ammoniakstickstoff; NO₂-N, Nitritstickstoff; NO₃-N, Nitratstickstoff.

Tabelle 9: Mittelwerte (\pm SD) der Produktions- und Gesundheitsparameter des Europäischen Wolfsbarsches bei unterschiedlichen Nitratkonzentrationen im Haltungswasser, einschließlich n.

	n	C 0 mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	LN 125 mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	MN 250 mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	HN 500 mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N
Biomasse Start [kg]	3	3.69 \pm 0.01	3.68 \pm 0.01	3.69 \pm 0.02	3.69 \pm 0.02
Biomasse Ende [kg]	3	5.77 \pm 0.10	5.61 \pm 0.21	5.64 \pm 0.24	5.52 \pm 0.07
Individualgewicht Start [g]	15	108.4 \pm 0.3	108.3 \pm 0.4	108.5 \pm 0.6	108.6 \pm 0.7
Individual Gewicht Ende [g]	15	169.7 \pm 3.0	165.1 \pm 6.3	165.8 \pm 7.1	162.4 \pm 2.2
CF ¹	15	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.1
SGR [% d ⁻¹] ²	3	0.95 \pm 0.03	0.90 \pm 0.08	0.90 \pm 0.10	0.86 \pm 0.04
FCR [g g ⁻¹] ³	3	1.66 \pm 0.04	1.67 \pm 0.12	1.66 \pm 0.14	1.66 \pm 0.02
DFI [% d ⁻¹] ⁴	3	1.58 \pm 0.03	1.48 \pm 0.04	1.49 \pm 0.07	1.42 \pm 0.09
HSI [%] ⁵	15	2.0 ^a \pm 0.4	1.8 ^a \pm 0.2	1.8 ^{a,b} \pm 0.3	1.5 ^b \pm 0.2
SSI [%] ⁶	15	0.06 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01
Mortalität [%]	3	0.98 \pm 1.39	1.96 \pm 2.77	2.94 \pm 4.16	6.86 \pm 3.67

Hochgestellte Buchstaben innerhalb einer Spalte weisen auf signifikante Unterschiede hin. C, Kontrolle; LN, niedrige Nitratkonzentration; MN, mittlere Nitratkonzentration; HN, hohe Nitratkonzentration; CF, Konditionsfaktor; SGR, spezifische Wachstumsrate; FCR, Futtermittelverwertung; DFI, tägliche Futteraufnahme; HSI, Somatischer-Index der Leber; SSI, Somatischer-Index der Milz.

¹ $CF = \text{Individualgewicht [g]} / \text{Individuallänge [cm}^3] * 100$

² $SGR [\% \text{ day}^{-1}] = (\ln(\text{Biomasse Start [kg]}) - \ln(\text{Biomasse Ende [kg]})) / \text{Fütterungstage} * 100$

³ $FCR [kg \text{ kg}^{-1}] = \text{Futteraufnahme gesamt [kg]} / (\text{Biomasse Ende [kg]} - \text{Biomasse Start [kg]})$

⁴ $DFI [\% \text{ d}^{-1}] = SGR * FCR$

⁵ $HSI [\%] = \text{Lebergewicht [g]} / \text{Individualgewicht Ende [g]}$

⁶ $SSI [\%] = \text{Milzgewicht [g]} / \text{Individualgewicht Ende [g]}$

8.4.3 Ergebnisse und Diskussion

Die Daten für das Start- und Endgewicht zeigen, dass die Wolfsbarsche ihr Durchschnittsgewicht innerhalb des zehnwöchigen Versuches um 30 - 40% auf 169,7 g, 165,1 g, 165,8 g und 162,4 g für C, LN, MN und HN erhöhten. Folglich führte das Wachstum zu SGRs von 0,86 bis 0,95% d⁻¹ (Tabelle 9). Generell zeigten die Fische, verglichen mit dem Wachstum von Wolfsbarsch in anderen Studien in einer ähnlichen Größenklasse, keine Wachstumseinbuße. Lemarié & Toften (2002) und Sammouth et al. (2009) berichteten SGRs von 0,71 bis 0,81% d⁻¹ für Wolfsbarsche (100 - 150 g). Auch der DFI von 1,42 bis 1,58% d⁻¹ und der FCR von etwa 1,66 g-1 für C, LN, MN und HN lagen in einem akzeptablen Bereich für Wolfsbarsche (Pichavant et al. 2001, Sammouth et al. 2009).

Am Ende des zehnwöchigen Versuches zeigte der Vergleich der Produktions- und Gesundheitsparameter zwischen den Behandlungsgruppen (C, LN, MN und HN) keine signifikanten Unterschiede für alle in Tabelle 9 aufgeführten Parameter mit Ausnahme vom HSI ($p < 0,05$). Des Weiteren konnte mit Hilfe einer Rangkorrelationsanalyse gezeigt werden, dass HSI ($r_s = -0.486$, $p = 0.000$, $n = 12$) und DFI ($r_s = -0.605$, $p = 0.037$, $n = 12$) mit zunehmender Nitratkonzentration signifikant abnehmen (Abbildung 14). Eine durch Nitrat induzierte Reduktion der Futteraufnahme und des Wachstums von Zandern und Afrikanischem Wels wurde von Schram et al. (2012, 2014) nachgewiesen. Es wurde festgestellt, dass vor allem eine reduzierte Futteraufnahme ein starker und sensibler Indikator für schädigende Nitratkonzentrationen ist. Daher ist es naheliegend, dass Nitrat auch der Grund für die in dem vorliegenden Versuch beobachtete reduzierte Futteraufnahme (DFI) ist. Adams et al. (1992) berichteten über einen Zusammenhang zwischen der Belastung durch unspezifische Giftstoffe und negative physiologische Auswirkungen bei Rotbrust-Sonnenbarschen (*Lepomis auritus*). In der Studie konnten erhöhte Gehalte von Entgiftungsenzymen festgestellt werden, wobei diese mit niedrigen Lipidwerten, histopathologischen Schäden und einem verminderten Wachstum verbunden waren. Es ist nachvollziehbar, dass erste Anzeichen einer Vergiftung durch histopathologische Veränderungen aufgetreten sind, da die Leberfunktionen Entgiftung und Energie verbrauchende Proteinsynthese (z. B. Entgiftungsenzyme) einschließen. Der reduzierte HSI der in diesem Versuch festgestellt wurde, könnte der erste Indikator für eine Reaktion auf die Nitrat-Exposition sein. Die Nitrat Belastung führt zu einer energetisch kostspielig Entgiftungsreaktion, die zu reduzierten Lipidwerten und folglich zu niedrigeren HSI Werten führt (Adams et al. 1992). Es kann somit davon ausgegangen werden, dass eine Intoxikation bei längerer Expositionszeit zu stärkeren Auswirkungen auf die Gesundheit und die

Wachstumsleistung führt. Pereira et al. (2017) dokumentierten allgemeine und differenzierte histologische Schäden von juvenilen Zebrafischen (*Danio rerio*) mit zunehmendem Nitratgehalt.

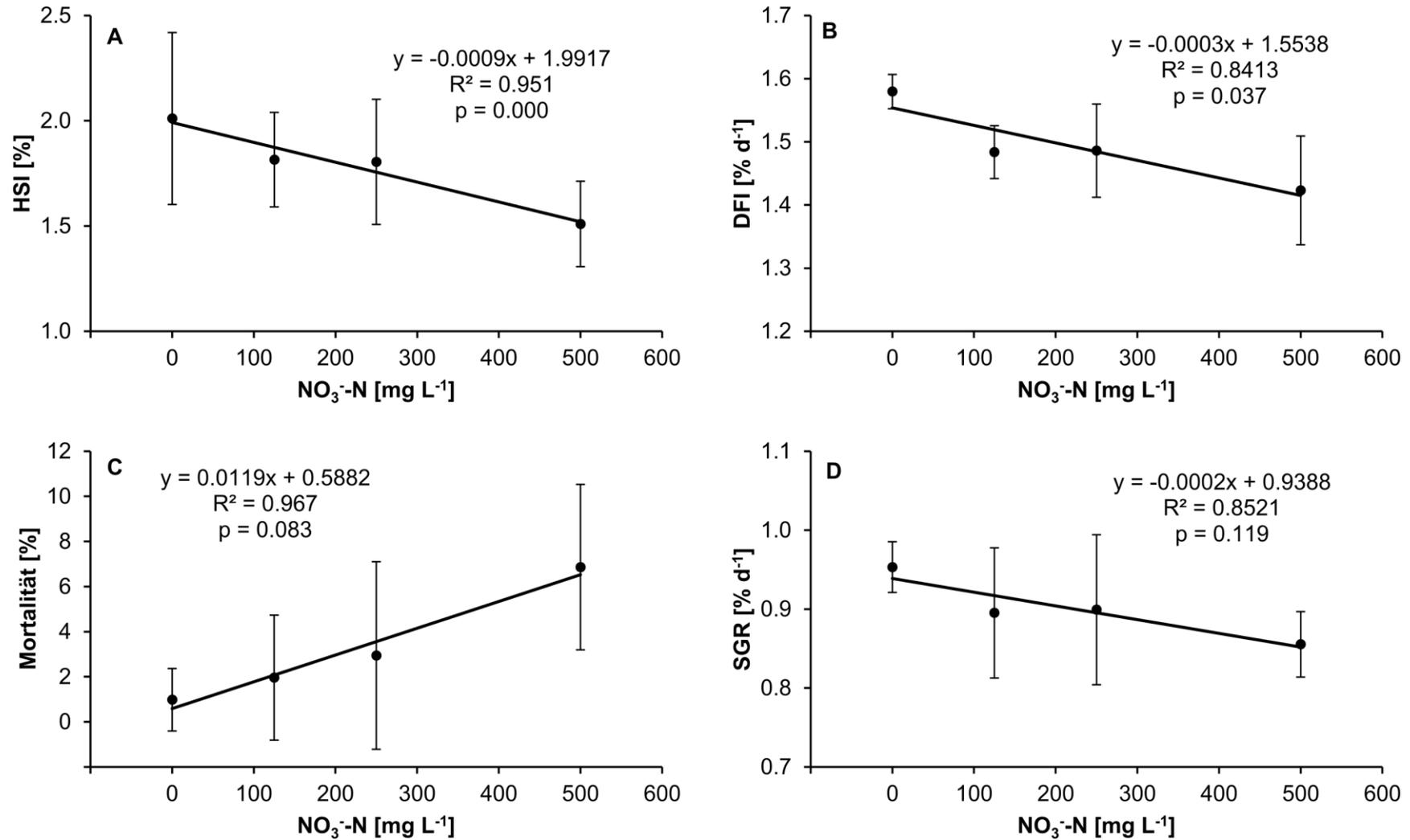


Abbildung 14: (A) Somatischer-Index der Leber (HSI), (B) Tägliche Futteraufnahme (DFI), (C) Spezifische Wachstumsrate (SGR) und (D) Gesamtmortalität bei entsprechenden Nitratwerten ($\text{NO}_3\text{-N}$).

Eine toxische Wirkung von Nitrat wurde ebenfalls bei Medaka-Fischen (*Oryzias latipes*) auf Kiemen, Darmampullen, Leber und Niere beobachtet (Shimura et al. 2004). Eine chronische Nitratbelastung kann insbesondere die Leberfunktion beeinträchtigen und folglich zu Symptomen führen, die denen einer Mangelernährung ähneln (Shimura et al. 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen mit diesen Aussagen überein, da die signifikant negativ korrelierenden HSI und DFI Werte gegenüber höheren Nitratkonzentrationen ($p < 0,05$, Abbildung 14) zu vermindertem Wachstum und Produktionsleistung führen können. Die statistische Auswertung für SGR und die Gesamtmortalität zeigte zwischen den Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$), die möglicherweise durch eine hohe Standardabweichung verursacht wurden. Nichtsdestotrotz zeigte die Rangkorrelationsanalyse, dass SGR Werte ($r_s = -0,475$, $p = 0,119$, $n = 12$) tendenziell mit hohen Nitratwerten negativ korrelieren. Entsprechend zeigt die Mortalität ($r_s = 0,521$, $p = 0,083$, $n = 12$) tendenziell eine positive Korrelation mit höheren Nitratwerten (Abbildung 14). Van Bussel et al. (2012) berichteten für juvenilen Steinbutt (*Psetta maxima*) über einen negativen Effekt von Nitrat auf SGR, Endgewicht, Endlänge und Biomassezuwachs, die ab einer Konzentration von $125 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3\text{-N}$ beobachtet wurden. Zusätzlich zeigten van Bussel et al. (2012), dass Mortalität, FCR, CF und SSI signifikant höher waren, wenn Steinbutte bei erhöhten Nitratkonzentrationen gehalten wurden. Bei dem Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den Ergebnissen von van Bussel et al. (2012) kann angenommen werden, dass Wolfsbarsche gegenüber erhöhten Nitratwerten toleranter sind als juvenile Steinbutte. Ähnliches haben Schram et al. (2014) beobachtet. So wurden bei Nitrat-N Konzentrationen von bis zu 358 mg L^{-1} kein negativer Einfluss von Nitrat auf die Physiologie und das Wachstum von juvenilen Zandern festgestellt, was zu dem Schluss führt, dass Nitrat für Zander vergleichsweise harmlos ist. Generell liegt es nahe, dass der Einfluss von potentiellen Giftstoffen auf die physiologischen Parameter von Fischen durch eine Vielzahl von Umweltfaktoren in Kombination mit den jeweiligen Fischarten verursacht wird. Wie von Kroupova et al. (2005), Levit (2010) und Schram et al. (2014) gezeigt, hängt die Toxizität von Ammoniak, Nitrit und Nitrat unter anderem von der Fischart, dem Lebensstadium und der Fischgröße ab. Darüber hinaus können die Art des Haltungswassers (Süßwasser, Brackwasser oder Meerwasser) und ein möglicher Einfluss des Salzgehaltes auf die Nitrataufnahme die Nitrat-Toxizität beeinflussen. Der Einfluss des Salzgehalts auf die Nitrat-Toxizität wurde jedoch leider noch nicht ausreichend geklärt, wie bereits von Davidson et al. (2017) und van Bussel et al. (2012) angemerkt. Solange die genauen Wege der Nitrataufnahme unklar sind, ist der Einfluss des Salzgehalts auf die Nitrat-Toxizität fraglich. Die Problematik wird bei der Betrachtung der „No Observed Effect Concentrations“ (NOEC) für unterschiedliche Fischarten in Tabelle 10 deutlich. So beeinflusst Nitrat verschiedene

Süßwasser- und Meeresfischarten unterschiedlich stark. So könnte die relativ hohe Toleranz von Wolfsbarschen gegenüber Nitrat eine erhöhte Robustheit im Vergleich zu anderen Fischarten zeigen (interspezifische Unterschiede). Des Weiteren berichten Kroupova et al. (2005) und Levit (2010), dass die Toleranz von Fischen gegenüber Nitrat nicht nur interspezifisch, sondern auch intraspezifisch ist. Im Allgemeinen sind ältere Lebensstadien weniger empfindlich gegen Stressfaktoren, wie z.B. Schadstoffe im Wasser, als frühere Lebensstadien (intraspezifische Unterschiede) (Wendelaar Bonga 1997, Schram et al. 2014). Jedoch sind vergleichende Studien zum intraspezifischen Einfluss von Nitrat auf die Gesundheits- und Leistungsparameter über verschiedene Lebensstadien und Fischgrößen leider noch nicht ausreichend dokumentiert (Camargo et al. 2005, Hickey & Martin 2009). Nichtsdestotrotz waren die Wolfsbarsche in der vorliegenden Studie mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von etwa 108 g älter und oder größer im Vergleich zu Fischen, die in den in Tabelle 10 aufgeführten Toxizitätsstudien verwendet wurden, was einen Hinweis auf intraspezifische Unterschiede sein kann.

Neben biotischen Faktoren beeinflussen auch abiotische Faktoren wie die Nitrat Expositionsdauer die Gesundheits- und Leistungsparameter von Fischen. Mehrere Studien haben gezeigt, dass Fische hohe Nitratkonzentrationen im Bereich von 116 bis >3000 mg L⁻¹ NO₃⁻-N bei kurzer Expositionsdauer tolerieren können (akute Toxizität), während die Grenzwerte bei Langzeitexposition (chronische Toxizität) mit 1,6 bis 358 mg L⁻¹ NO₃⁻-N weitaus geringer waren (Tabelle 10). Für Wolfsbarsche haben Vectesi et al. (2012) keine statistisch signifikanten Veränderungen der immunologischen und hämatologischen Parameter innerhalb einer 48-stündigen Exposition gegenüber 100 und 700 mg L⁻¹ Nitrat (23 und 158 mg L⁻¹ Nitrat-N) beobachtet. In RAS produzierte Fische sind jedoch über Monate und Jahre systembedingten steigenden Nitratkonzentrationen ausgesetzt. Die Verwendung von LC₅₀ Werten (engl. lethal concentration) als Grenzwerte für Nitrat wäre somit für einen RAS-Betreiber nicht korrekt. Die Angabe von Grenzwerten für Fische, die in RAS-Langzeitstudien produziert werden, erfordert daher weiterhin Forschung (Davidson et al. 2014, 2017). Wie von Schram et al. (2014) erwähnt, sollten Grenzwerte, die aus experimentellen Studien abgeleitet werden und sich außerhalb des Größenbereichs der getesteten Fischarten befinden, kritisch betrachtet werden. Weitere Studien sind notwendig um für unterschiedliche Fischarten und deren unterschiedliche Lebensstadien Nitrat Grenzwerte zu bestimmen, die für den gesamten Produktionszyklus in RAS angewendet werden können.

Tabelle 10: Letale Konzentration (LC50) von Nitrat (NO₃⁻-N) und oder „No Observed Effect Concentration“ (NOEC) für verschiedene Fischarten in verschiedenen Lebensstadien..

Fischart	Trivialname	Lebensstadium	LC ₅₀		NOEC		Quelle
			Dauer	mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	Dauer	mg L ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N	
<i>Clarias gariepinus</i>	Afrikanischer Raubwels	Juvenil	-	-	42 d	140	(Schram et al. 2012)
<i>Centropristis striata</i>	Schwarzer Zackenbarsch	Juvenil	4 d	2400	-	-	(Pierce et al. 1993)
<i>Coregonus clupeaformis</i>	Heringsmaräne	Brut	4 d	1903	126 d	25	(McGurk et al. 2006)
<i>Monacanthus hispidus</i>	Brauner Feilenfisch	Juvenil	4 d	573	-	-	(Pierce et al. 1993)
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Silberlachs	Brut	-	-	30 d	> 4.5	(Kincheloe et al. 1979)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regenbogenforelle	Fingerling, Brut	7 d	1061	30 d	2.3	(Westin 1974, Kincheloe et al. 1979)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regenbogenforelle	Brut	-	-	30 d	> 4.5	(Kincheloe et al. 1979)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Regenbogenforelle	Juvenil	-	-	3 m	< 80	(Davidson et al. 2014)
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	Königslachs	Fingerling, Brut	7 d	1084	30 d	4.5	(Westin 1974, Kincheloe et al. 1979)
<i>Oryzias latipes</i>	Medaka	Brut	4 d	116 - 166	160 d	25	(Shimura et al. 2002)
<i>Pimephales promelas</i>	Fettköpfige Elritze	Larve	4 d	1341	-	-	(Scott & Crunkilton 2000)
<i>Pomacentrus leucostriatus</i>	Beaugregory	Juvenil	4 d	> 3000	-	-	(Pierce et al. 1993)
<i>Psetta maxima</i>	Steinbutt	Juvenil	-	-	42 d	< 125	(van Bussel et al. 2012)
<i>Raja eglanteria</i>	Blanknasen-Rochen	Juvenil	4 d	> 960	-	-	(Pierce et al. 1993)
<i>Salmo clarki</i>	Cutthroat-Forelle	Brut	-	-	30 d	7.6	(Kincheloe et al. 1979)
<i>Salmo salar</i>	Atlantischer Lachs	Post-smolt	-	-	8 m	100	(Good et al. 2017, Davidson et al. 2017)
<i>Salvelinus namaycush</i>	Amerikanischer Seesaibling	Brut	4 d	1121	146 d	1.6	(McGurk et al. 2006)
<i>Sander lucioperca</i>	Zander	Juvenil	-	-	42 d	358	(Schram et al. 2014)
<i>Trachinotus carolinus</i>	Florida Pompano	Juvenil	4 d	1000	-	-	(Pierce et al. 1993)

LC₅₀, letale Konzentration, die innerhalb einer bestimmten Zeit den Tod von 50% einer Gruppe von Versuchstieren verursacht; NOEC, „No Observed Effect Concentration“ (Konzentration ohne beobachteten Effekt), die Konzentration eines Schadstoffs, der innerhalb eines bestimmten Zeitraums den exponierten Arten keinen Schaden zufügt; d, Tage; m, Monate; NO₃⁻-N, Nitratstickstoff.

8.4.4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde ein signifikanter Einfluss erhöhter Nitratwerte von bis zu $500 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3\text{-N}$ auf HSI und DFI bei Wolfsbarschen dokumentiert. Die Daten zeigten einen signifikanten Einfluss von Nitrat auf HSI bei Konzentrationen $>250 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3\text{-N}$. Eine insgesamt negative Korrelation von HSI und DFI mit steigenden Nitratwerten war ebenfalls vorhanden. Darüber hinaus deutet ein Trend zu niedrigeren SGR und höherer Mortalität bei höheren Nitratkonzentrationen auf einen potenziell negativen Einfluss von Nitrat auf weitere Gesundheits- und Leistungsparameter hin. Für einen langfristigen Produktionszyklus können daher negative Auswirkungen eines erhöhten Nitratgehalts auf das Wachstum und die Mortalität erwartet werden. Da der SID-Reaktor sich abgesehen von der Nitrat Reduktion auch weitere Faktoren (Einsparung von Alkalinitätssupplementen, Reduktion der Bakterienlast im Haltungswasser, Reduktion von Off-Flavour im Fischfilet) positiv auswirkt kann der Betrieb einer Denitrifikationseinheit auch bei Nitrat toleranten Arten rentabel sein. Daher ist eine langfristige Forschung über einen kompletten Produktionszyklus in RAS erforderlich, um die gesamten Auswirkungen von Nitrat zu bestimmen. Verglichen mit anderen, kürzlich getesteten Aquakulturfischarten scheint die Empfindlichkeit des Wolfsbarsches gegenüber Nitrattoxizität jedoch relativ gering zu sein.

8.5 Einsatz von endogenen Kohlenstoffquellen im SID-Reaktor (AP 3 & AP 4)

8.5.1 Einleitung

In Kreislaufanlagen und in traditionellen Abwasserbehandlungsanlagen wird die heterotrophe Denitrifikation oft unter Verwendung von externen Kohlenstoffquellen (z.B. Kohlenhydraten & organischen Alkoholen) oder endogenen (dem System entstammende) Kohlenstoffquellen aus beispielsweise mechanischen Reinigungsschritten betrieben (van Rijn et al. 2006; Letelier-Gordo et al. 2017). Einerseits können durch die Verwendung von endogenen Kohlenstoffquellen Kosten für externe Kohlenstoffquellen eingespart werden, andererseits können die Kosten für die Entsorgung dieser Abfallstoffe ebenfalls gesenkt werden.

Die Denitrifikation unter Verwendung von endogenen Kohlenstoffquellen wurde bereits in unterschiedlichen Studien untersucht (Aboutboul et al. 1995, Arbiv & van Rijn 1995, Phillips & Love 1998, van Rijn & Barak 1998, Shnel et al. 2002, Gelfand et al. 2003). In diesen Studien wurden Kohlenstoffverbindungen, die aus dem Abbau von endogenem Kohlenstoff freigesetzt wurden, erfolgreich in Denitrifikationsreaktoren eingesetzt. Jedoch muss sichergestellt werden, dass eine unzureichende Versorgung mit endogenem organischen Kohlenstoff die Anwendung der heterotrophen Denitrifikation nicht einschränkt. Bei der Verwendung von endogenem organischen Kohlenstoff aus der Kultureinheit als Kohlenstoffquelle für die Denitrifikation kann sich beispielsweise Nitrit im System ansammeln (van Rijn & Rivera 1990).

Es muss somit zum einen geklärt werden, ob eine endogene Kohlenstoffquelle ausreichend ist um heterotrophe Denitrifikation sicherzustellen und zum anderen muss gewährleistet sein, dass keine unerwünschten Zwischenprodukte, die die kultivierten Fischarten schädigen könnten, gebildet werden.

8.5.2 Versuchssystem und -design

Um zu evaluieren ob endogene Kohlenstoffquellen aus einem RAS potentiell als Kohlenstoffquelle für den SID-Reaktor geeignet sind, wurden zwei unterschiedliche Abwässer aus einem marinen RAS untersucht. Die untersuchten Abwässer stammten dabei aus dem Trommelsiebfilter (60µm Maschenweite) und aus dem Proteinabschäumer. Beide Abwässer, sowie das Haltungswasser wurden sowohl auf deren Kohlenstoffverbindungen, als auch auf den Gesamtstickstoffgehalt untersucht. Das Abwasser des Trommelsiebfilters

wurde durch eine Schlamm-/Wasserfalle, die mit dem Abflusskanals des Trommelfilters verbunden war, gesammelt. Für die Analyse wurden 500 mL Abwasser eines einzelnen Reinigungsvorgangs des Trommelfilters gesammelt. Da der TOC-Analysator (SHIMADZU Corporation, 2011) auf eine Partikelgröße von 0,5 mm beschränkt ist, wurde nur der Überstand jeder Trommelfilterprobe verwendet. Damit sich größere Teilchen absetzen konnten, wurde der Überstand erst 30 Minuten nach vollständiger Homogenisierung der Probe extrahiert. Das Abwasser aus dem Proteinabschäumer wurde als gepoolte Probe (>20 L) gesammelt, aus der eine Stichprobe von 500 mL für die Laboranalyse entnommen wurde. Regelmäßige Spülintervalle (alle 5 Minuten für 5 Sekunden) des Proteinabschäumer wurden mit Leitungswasser durchgeführt. Da der Proteinabschäumer mit Ozon arbeitet wurden zusätzlich Restoxidationsmittel (TRO) der Proteinabschäumer Probe bestimmt.

8.5.3 Ergebnisse und Diskussion

Basierend auf den Ergebnissen der Kohlenstoff- und Stickstoffanalysen des Abwassers aus dem Trommelfilter und dem Proteinabschäumer, sowie des Haltungswasser wurden Methanol-Äquivalente (Tabelle 11) für die Menge an gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) berechnet. Äquivalente basieren auf der Annahme von reinem Methanol, bei dem die Kohlenstoffmenge der Menge an DOC entspricht.

Tabelle 11: Berechnete Methanol-Äquivalente für das Abwasser aus Trommelsiebfilter, Proteinabschäumer und Haltungswasser.

		Methanol C \approx DOC	Haltungswasser DOC	Trommelfilter- Abwasser DOC	Proteinabschäumer- Abwasser DOC
Kohlenstoffgehalt	g L ⁻¹	375	0,01	0,02	0,04
MeOH Äquivalent	in L	1	37879	18029	9665
Durchflussmenge des SID-Reaktors (HRZ von 2 h)	L d ⁻¹	9000	9000	9000	9000
Potentieller Einsatz für die Bypass Denitrifikation	Ja	Nein	Nein	Nein	Nein

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass das Abwasser aus dem Trommelsiebfilter doppelt so viel DOC enthält als das Haltungswasser. Das Abwasser aus dem Proteinabschäumer wiederum enthält doppelt so viel DOC als das Abwasser aus dem Trommelsiebfilter. Somit enthält der Proteinabschäumer die höchste Menge an gelösten organischen Kohlenstoffen der untersuchten Abwässer.

Die Berechnung der Methanol-Äquivalente für die Kohlenstoffkonzentration der Abwässer aus Trommelsiebfilter und Proteinabschäumer, sowie des Haltungswassers hat ergeben, dass der Einsatz dieser als Kohlenstoffquelle nicht möglich ist, da der Kohlenstoffgehalt zu gering ist, um einen Denitrifikationsprozess zu gewährleisten. Des Weiteren übersteigt die benötigte Menge der Abwässer, die einem Liter Methanol entspricht, die tägliche Wasseraufbereitungskapazität des Reaktors (bezogen auf eine HRZ von 2 Stunden).

Eine Vorbehandlung der Abwässer aus einer Aquakulturanlage durch anaerobe Zersetzung, Hydrolyse etc. könnte dazu beitragen die Menge an verfügbarem Kohlenstoff zu steigern wie von Arbiv & van Rijn (1995) und Suhr et al. (2013) beschreiben. Die Aufbereitung von Abwässern durch geeignete Prozesse kann die für denitrifizierende Bakterien nutzbaren Kohlenstoffmengen erhöhen.

Es ist zu beachten, dass die TRO im Abwasser des Proteinabschäumers die empfohlenen Sicherheitsbereiche von $0,06 \text{ mg L}^{-1}$ für z.B. juvenile Steinbutt (*Psetta maxima*) (Reiser et al. 2011) und Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (Schroeder et al. 2010) überschreiten. Insgesamt wurden zwei von acht Messungen mit TRO Werten von $0,7$ und $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ charakterisiert. Es wird daher davon ausgegangen, dass auch denitrifizierende Bakterien im SID-Reaktor möglicherweise durch erhöhte TRO Gehalte negativ beeinflusst werden, auch wenn Ammoniak und Nitrit oxidierende Bakterien in Biofiltern verglichen mit einem TRO Gehalt von $0,00 \text{ mg L}^{-1}$ eine erhöhte Aktivität bei TRO Werten von $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ zeigen (Klatt 2012).

Die oben erwähnte Vorbehandlung des Abwassers des Proteinabschäumers könnte möglicherweise die TRO reduzieren, was wiederum die Anwendung sicherer machen würde.

8.5.4 Zusammenfassung

Basierend auf den berechneten Methanol-Äquivalenten weisen Abwässer aus dem Proteinabschäumer, als auch aus dem Trommelsiebfilter zu geringe Kohlenstoffkonzentrationen auf, um Methanol als externe Kohlenstoffquelle zu ersetzen. Eine weitere Aufbereitung oder Konzentration der Abwässer könnte die verfügbaren Kohlenstoffgehalte erhöhen, was die Denitrifikationsprozesse ermöglichen würden. Eine direkte Anwendung von endogenem Kohlenstoff aus einem RAS zur Induktion der Denitrifikation im SID-Reaktor war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, sodass externe Kohlenstoffquellen weiterhin eingesetzt wurden.

8.6 Einsatz von biologisch abbaubarem Polyhydroxyalkanoat (PHA) Kunststoff im SID-Reaktor (AP 3 & AP 4)

8.6.1 Einleitung

Neuartige Denitrifikationssysteme wie der SID-Reaktor können zu einer einfachen, sicheren und effizienten Denitrifikation in RAS beitragen (Müller-Belecke et al. 2013). Die Leistung von denitrifizierenden Bakterien hängt von der verwendeten organischen Kohlenstoffquelle, die als Elektronendonator fungiert, ab. Jedoch ist noch immer eines der größten Hindernisse für eine effiziente und sichere Denitrifikation die exakte Dosierung der erforderlichen Kohlenstoffquelle. Darüber hinaus sind zahlreiche Kohlenstoffquellen potenziell gefährlich, leicht entflammbar und verursachen Sicherheitsrisiken bei Lagerung, Transport und Betrieb. Um negative Auswirkungen der Denitrifikationsanlage auf die Wasserqualität zu vermeiden, ist eine komplexe Steuerung und Überwachung der Denitrifikationsprozesse und Wasserqualitätsparameter erforderlich. So erhöht sich bei einer Unterdosierung der Kohlenstoffquelle das Risiko der Bildung von intermediären Denitrifikationsprodukten wie Ammonium/Ammoniak und Nitrit. Eine Überdosierung belastet hingegen das Anlagenwasser mit erhöhten Konzentrationen von organischen Kohlenstoffen. Somit können sowohl eine Unter- als auch eine Überdosierung zu einer Verschlechterung der Kreislaufanlagen Wasserqualität und potentiell auch der Fischgesundheit führen.

Die sogenannte Solid-Phase Denitrification wird im Bereich der Aquakultur als potentielle Alternative diskutiert und ist in den letzten Jahren auf großes Interesse gestoßen (Boley et al. 2000, Chu & Wang 2011a, Gutierrez-Wing et al. 2012, Shen et al. 2013b, Li et al. 2016a, Wang & Chu 2016). Im Gegensatz zu herkömmlichen Denitrifikationssystemen ist die Solid-Phase Denitrification durch die Verwendung einer festen wasserunlöslichen Kohlenstoffquelle gekennzeichnet. Das Funktionsprinzip ermöglicht Dosierungsprobleme zu lösen, kann eine stabile Wasserqualität bieten und verringert gleichzeitig die negativen Auswirkungen von Nitrat auf Fische (Boley et al. 2000, Gutierrez-Wing et al. 2012, Wang & Chu 2016). Während der Denitrifikation wird die biologisch abbaubare feste Kohlenstoffquelle, die gleichzeitig als Aufwuchskörper fungiert, ausschließlich durch Bakterien abgebaut. Die Menge an organischem Kohlenstoff, die von den Bakterien zersetzt wird, korreliert mit den Nitratkonzentrationen in der Wassersäule (Wang & Chu 2016). Folglich ist die Steuerung des Prozesses vergleichsweise einfach und das Risiko einer Fehldosierung ist vernachlässigbar (Boley et al. 2000, Chu & Wang 2011a). Feste wasserunlösliche biologisch abbaubare Substrate können aus natürlichen pflanzlichen Materialien oder synthetischen Polymeren hergestellt werden. Es ist bekannt, dass

Polyhydroxyalkanoate (PHAs), mikrobielle Kohlenstoff- und Energiespeichermaterialien, unter anoxischen Bedingungen leicht von einer Vielzahl von Mikroorganismen metabolisiert werden können. Daher wird PHA als ein äußerst vielversprechendes Kohlenstoffsubstrat für die Denitrifikation bei der Wasseraufbereitung diskutiert (Hiraishi & Khan 2003, Gutierrez-Wing et al. 2012).

Ziel des Versuches war es, den Ersatz von Methanol durch biologisch abbaubare PHA-Kunststoffe im SID-Reaktor zu bewerten. Die Auswirkungen auf die Wasserqualität und die Denitrifikationsleistung wurden zwischen zwei SID-Reaktoren verglichen, die mit PHA bzw. Methanol betrieben wurden. Der Ersatz von Methanol als potentiell gefährliche Kohlenstoffquelle durch eine nicht gefährliche Kohlenstoffquelle würde die Sicherheit nicht nur für Fische, sondern auch für RAS-Personal erhöhen. Darüber hinaus würde der erfolgreiche Einsatz demonstrieren, dass das Funktionsprinzip des SID-Reaktors äußerst vielseitig ist und der Reaktor sowohl mit einer flüssigen als auch einer festen Kohlenstoffquelle betrieben werden könnte.

8.6.2 Versuchssystem und -aufbau

Für das Experiment wurden drei experimentelle RAS (Kapitel 6.2.2) mit identischem Aufbau verwendet. Das erste RAS (RAS-C) fungierte als Kontrolle und war nicht mit einer Denitrifikationseinheit ausgestattet. Das zweite RAS (RAS-M) war mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor ausgestattet. Das dritte RAS (RAS-P) wurde mit einem mit PHA-Granulat betriebenen SID-Reaktor ausgestattet.

Das PHA Granulat (Abbildung 15, VVK Vertrieb Veredelter Kunststoffe GmbH, Siegburg, Deutschland) ist ein Biokunststoff, der aus jährlich nachwachsenden pflanzlichen Ressourcen (gemäß ASTM D6866-Standard) hergestellt wird. Diese Sorte entspricht der Norm für kompostierbare und biologische Abbaubarkeit ASTM D6400. Das PHA Granulat eignet sich für den Einsatz in Lebensmittelkontaktanwendungen und ist in der Europäischen Union als Rohstoff mit 1935/2004/EEC und der Kunststoffverordnung 10/2011 gekennzeichnet. Das Granulat wird aus Stoffen hergestellt, die in Tabelle 1 von Anhang 1 der Kunststoffverordnung 10/2011 aufgeführt sind. Für diese aufgeführten Bestandteile sind in dieser Tabelle keine spezifischen Migrationsgrenzwerte (SML) aufgeführt.

Der SID-Reaktor von RAS-M war mit 11 Liter schwimmenden Aufwuchskörpern gefüllt (Abbildung 15, HEL-X®, Details siehe vorherige Kapitel). Der SID-Reaktor für RAS-P wurde mit 11 Litern (7,5 kg) biologisch abbaubarem PHA-Granulat gefüllt. Dieses wurde zuvor in einem separaten Wassertank, der mit temperiertem (25 °C) Leitungswasser gefüllt wurde,

gewässert. Die Aufwuchskörper boten Bakterien zur Besiedlung eine spezifische Oberfläche von 9,5 m², das PHA-Granulat 13,8 m².

Die HRZ für beide SID-Reaktoren wurde auf 2 Stunden und das RSI auf 30 Minuten eingestellt. Der mit Methanol betriebene SID-Reaktor (RAS-M) war mit einem Behälter (20 L) für Methanol und einer peristaltischen Dosierpumpe (Dynamik-Serie, Seko Deutschland GmbH, Mainz-Kastel, Deutschland) ausgestattet, welche dem einströmenden Wasser ständig Methanol zufügte. Der Wasserdurchfluss beider SID-Reaktoren wurde durch ein Membranventil eingestellt und mit einem Durchflussmesser (Georg Fischer AG, Schaffhausen, Schweiz) kontrolliert.

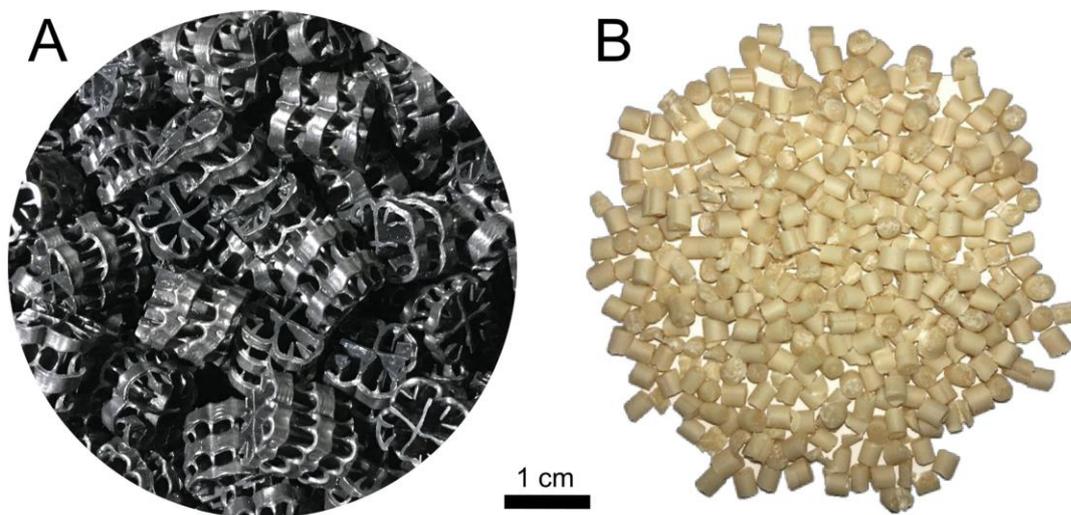


Abbildung 15: A, HEL-X® Aufwuchskörper; B, PHA Granulat.

8.6.3 Versuchsdesign

Für den Versuch wurden Zander (*Sander lucioperca*) von Aqua Pri (Vejen, Dänemark) bezogen und vor den Experimenten in der Versuchsanlage der GMA mbH (Büsum, Deutschland) in einem großskaligen RAS (40 m³) gehalten. Insgesamt wurden 385 Zander mit einem anfänglichen Körpergewicht von etwa 190 g zufällig auf die drei RAS verteilt, was zu einer durchschnittlichen Start-Biomasse von 24,3 kg pro RAS führte. Die Zander hatten eine Akklimatisierungsphase in den RAS von zwei Wochen. Das Lichtregime wurde auf 14 Stunden Licht und 10 Stunden Dunkelheit eingestellt. Ab dem zweiten Tag nach Besatz wurden die Zander täglich mit 243 g eines handelsüblichen Futtermittels (Aller Metabolica, Emsland Aller Aqua GmbH, Golßen, Deutschland) über Bandfutterautomaten gefüttert. Die Futtermenge wurde zu Beginn des experimentellen Versuchs auf 1% der gesamten Biomasse pro Tank eingestellt. Der Versuch dauerte 110 Tage (ohne Akklimatisierung) und

wurde in drei aufeinanderfolgende Phasen unterteilt. Im ersten Schritt (Anlaufphase) wurden alle drei RAS für 53 Tage ohne Denitrifikationseinheit betrieben, um in den Systemen eine Anreicherung von Nitrat zu ermöglichen. In der Anlaufphase wurden die Wasserqualitätsparameter überwacht um auf Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen zu reagieren und identische Startbedingungen für die nächsten Phasen zu gewährleisten (Tabelle 12). Eine höhere Nitritkonzentration in RAS-M wurde aufgrund einer Fehlfunktion der Wasserpumpe und einen geringeren Wasserdurchfluss durch den MBBR zurückgeführt. Durch ein Austauschen der Wasserpumpe konnte dieser Fehler behoben werden. Nachdem für die drei experimentellen RAS dieselben Startbedingungen sichergestellt waren, wurde im zweiten Schritt die Versuchsphase I eingeleitet. In der Versuchsphase I (Dauer 10 Tage) wurden die SID-Reaktoren an RAS-M bzw. RAS-P installiert und die Grundeinstellungen angepasst. Als dritter Schritt wurde die Versuchsphase II (47 Tage) gestartet, was als Zugabe von Methanol zu dem Einlasswasser des SID-Reaktors von RAS-M definiert wurde. In beiden Versuchsphasen wurden die Wasserqualitätsparameter (Tabelle 13 und Tabelle 14) und die Denitrifikationsleistung (Tabelle 15) überwacht.

Tabelle 12: Mittelwerte (\pm SD) der Wasserqualitätsparameter des RAS-Haltungswassers bei unterschiedlichen Kohlenstoffquellen, einschließlich der Anzahl der Datenpunkte (=n). Werte für die Wasserqualität wurden während der Anlaufphase von 53 Tagen (Versuchstage 1 bis 53) für jedes RAS erhalten.

		RAS-C	RAS-M	RAS-P	n
Temperatur	°C	24.9 \pm 0.3	24.9 \pm 0.4	25.0 \pm 0.6	39
ORP	mV	186.5 \pm 17.3	189.0 \pm 17.5	186.9 \pm 17.2	28
Sauerstoff	%	110.5 \pm 7.2	112.9 \pm 8.1	113.5 \pm 7.4	41
Sauerstoff	mg L ⁻¹	9.0 \pm 0.5	9.2 \pm 0.7	9.3 \pm 0.6	39
pH		7.5 \pm 0.1	7.5 \pm 0.1	7.4 \pm 0.1	40
Trübung	NTU	0.6 \pm 0.7	0.5 \pm 0.6	0.8 \pm 1.0	50
TAN	mg L ⁻¹	0.2 \pm 0.1	0.3 \pm 0.4	0.8 \pm 0.1	51
NO ₂ ⁻ -N	mg L ⁻¹	1.5 ^a \pm 1.8	2.9 ^b \pm 2.8	1.5 ^a \pm 1.8	51
TOC	mg L ⁻¹	7.1 \pm 2.2	7.4 \pm 2.9	7.0 \pm 1.8	28

Hochgestellte Buchstaben in einer Reihe zeigen signifikante Unterschiede zwischen den RAS. ORP, Oxidations-Reduktionspotential; TAN, Gesamt-Ammoniakstickstoff; NO₂⁻-N, Nitrit-Stickstoff; TOC, Gesamt-Organischer-Kohlenstoff; RAS-C, Kontroll-RAS ohne Denitrifikationseinheit; RAS-M, RAS mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor; RAS-P, RAS mit einem mit Polyhydroxyalkanoat betriebenen SID-Reaktor.

8.6.4 Ergebnisse

8.6.4.1 Wasserqualitätsparameter der experimentellen RAS

Versuchsphase I

Während der Versuchsphase I zeigten alle überwachten Wasserqualitätsparameter des Aufzuchtwassers (Tabelle 13) keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei getesteten RAS. Die Durchschnittstemperatur für alle drei RAS betrug 25 °C und die Sauerstoffsättigung betrug >100% (>8,5 mg L⁻¹). Das durchschnittliche Redoxpotential lag zwischen 152 und 155 mV, der durchschnittliche pH-Wert zwischen 7,4 und 7,5 und der SBV zwischen 2,5 und 3,4 mmol HCl L⁻¹ für alle drei RAS. Die Trübung war während der Versuchsphase I für alle drei RAS gering (0,4 bis 0,9 NTU). Außerdem wurden niedrige TAN Werte (0,2 mg L⁻¹) und NO₂-N (0,5 mg L⁻¹) gemessen. Die TOC Konzentration in den getesteten RAS lag zwischen 8,7 und 9,7 mgL⁻¹.

Tabelle 13: Mittelwerte (± SD) der Wasserqualitätsparameter des RAS-Haltungswassers bei unterschiedlichen Kohlenstoffquellen, einschließlich der Anzahl der Datenpunkte (=n). Werte für die Wasserqualität wurden während der Versuchsphase I von 10 Tagen (Versuchstage 54 bis 63) für jedes RAS dokumentiert.

		RAS-C	RAS-M	RAS-P	n
Temperatur	°C	24.8 ± 0.1	25.1 ± 0.4	25.0 ± 0.3	9
ORP	mV	155 ± 24	154 ± 26	152 ± 28	9
Sauerstoff	%	106 ± 14	104 ± 14	104 ± 13	9
Sauerstoff	mg L ⁻¹	8.6 ± 1.2	8.5 ± 1.1	8.5 ± 1.1	9
pH		7.4 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.5 ± 0.1	9
SBV	mmol HCl L ⁻¹	2.5 ± 0.3	3.0 ± 0.1	3.4 ± 0.8	4
Trübung	NTU	0.5 ± 0.7	0.4 ± 0.5	0.9 ± 0.9	10
TAN	mg L ⁻¹	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	6
NO ₂ -N	mg L ⁻¹	0.5 ± 0.6	0.5 ± 0.6	0.5 ± 0.6	6
TOC	mg L ⁻¹	8.7 ± 1.3	9.7 ± 1.6	9.7 ± 0.8	5

Hochgestellte Buchstaben in einer Reihe zeigen signifikante Unterschiede zwischen den RAS. ORP, Oxidations-Reduktionspotential; TAN, Gesamt-Ammoniakstickstoff; NO₂-N, Nitrit-Stickstoff; TOC, Gesamt-Organischer-Kohlenstoff; RAS-C, Kontroll-RAS ohne Denitrifikationseinheit; RAS-M, RAS mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor; RAS-P, RAS mit einem mit Polyhydroxyalkanoat betriebenen SID-Reaktor.

Versuchsphase II

Während der Versuchsphase II (Tabelle 14) wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten für Temperatur, ORP, Sauerstoffsättigung und -konzentration im Aufzuchtwasser der drei RAS beobachtet. Signifikante Unterschiede (p <0,05) wurden zwischen den gemessenen Werten für pH, SBV und Trübung der SID-Reaktor Zulaufwässer beobachtet. Der signifikant höchste pH-Wert von 7,7 wurde in RAS-M gemessen. Im

Gegensatz dazu wurde der niedrigste durchschnittliche pH-Wert von 7,4 in RAS-C gemessen, der sich jedoch nicht signifikant von dem für RAS-P gemessenen durchschnittlichen pH-Wert von 7,5 unterschied. In ähnlicher Weise war das durchschnittliche SBV von 3,0 mmol HCl L⁻¹ für RAS-C im Vergleich zu einem durchschnittlichen SBV von 7,1 mmol HCl L⁻¹ für RAS-M signifikant niedriger. Das SBV für RAS-P war 4,1 mmol HCl L⁻¹ und unterschied sich nicht signifikant von den beiden anderen RAS. Die durchschnittliche Trübung von 2,6 NTU war bei RAS-M signifikant höher als 0,8 NTU bei RAS-C. In RAS-P betrug die Trübung 1,8 NTU und unterschied sich nicht signifikant von den beiden anderen RAS. In Bezug auf die durchschnittliche TAN, NO₂⁻-N und TOC Werte wurden, möglicherweise aufgrund der hohen Standardabweichungen, keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei experimentellen RAS beobachtet. Neben den durchschnittlichen Wasserqualitätsparametern im Aufzuchtwasser der drei RAS zeigt Abbildung 16 die gemessene TAN, NO₂⁻-N und TOC Konzentration im Ablaufwasser der beiden SID-Reaktoren über die Dauer der Versuchsphase I und II. Es wurden mehrere Messpeaks für TAN, NO₂⁻-N und TOC im Ablaufwasser des SID-Reaktors von RAS-M beobachtet. Im Auslaufwasser des SID-Reaktors von RAS-P wurden dagegen keine Peaks beobachtet.

Tabelle 14: Mittelwerte (± SD) der Wasserqualitätsparameter des RAS-Haltungswassers bei unterschiedlichen Kohlenstoffquellen, einschließlich der Anzahl der Datenpunkte (=n). Werte für die Wasserqualität wurden während der experimentellen Phase II von 47 Tagen (Versuchstage 64 bis 110) für jedes RAS dokumentiert.

		RAS-C	RAS-M	RAS-P	n
Temperatur	°C	24.6 ± 0.5	24.7 ± 0.5	24.8 ± 0.5	38
ORP	mV	126 ± 18	112 ± 21	121 ± 18	34
Sauerstoff	%	113 ± 11	113 ± 19	114 ± 12	38
Sauerstoff	mg L ⁻¹	9.4 ± 1.0	9.3 ± 1.6	9.3 ± 1.0	38
pH		7.4 ^a ± 1.0	7.7 ^b ± 0.2	7.5 ^a ± 0.1	38
SBV	mmol HCl L ⁻¹	3.0 ^a ± 0.4	7.1 ^b ± 2.6	4.1 ^{ab} ± 0.6	19
Trübung	NTU	0.8 ^a ± 1.0	2.6 ^b ± 2.2	1.8 ^{ab} ± 1.7	31
TAN	mg L ⁻¹	0.4 ± 0.1	1.1 ± 2.0	0.4 ± 0.1	19
NO ₂ ⁻ -N	mg L ⁻¹	0.8 ± 0.5	0.8 ± 0.6	0.5 ± 0.3	19
TOC	mg L ⁻¹	17.5 ± 6.1	24.4 ± 10.4	19.2 ± 5.1	18

Hochgestellte Buchstaben in einer Reihe zeigen signifikante Unterschiede zwischen den RAS. ORP, Oxidations-Reduktionspotential; TAN, Gesamt-Ammoniakstickstoff; NO₂⁻-N, Nitrit-Stickstoff; TOC, Gesamt-Organischer-Kohlenstoff; RAS-C, Kontroll-RAS ohne Denitrifikationseinheit; RAS-M, RAS mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor; RAS-P, RAS mit einem mit Polyhydroxyalkanoat betriebenen SID-Reaktor.

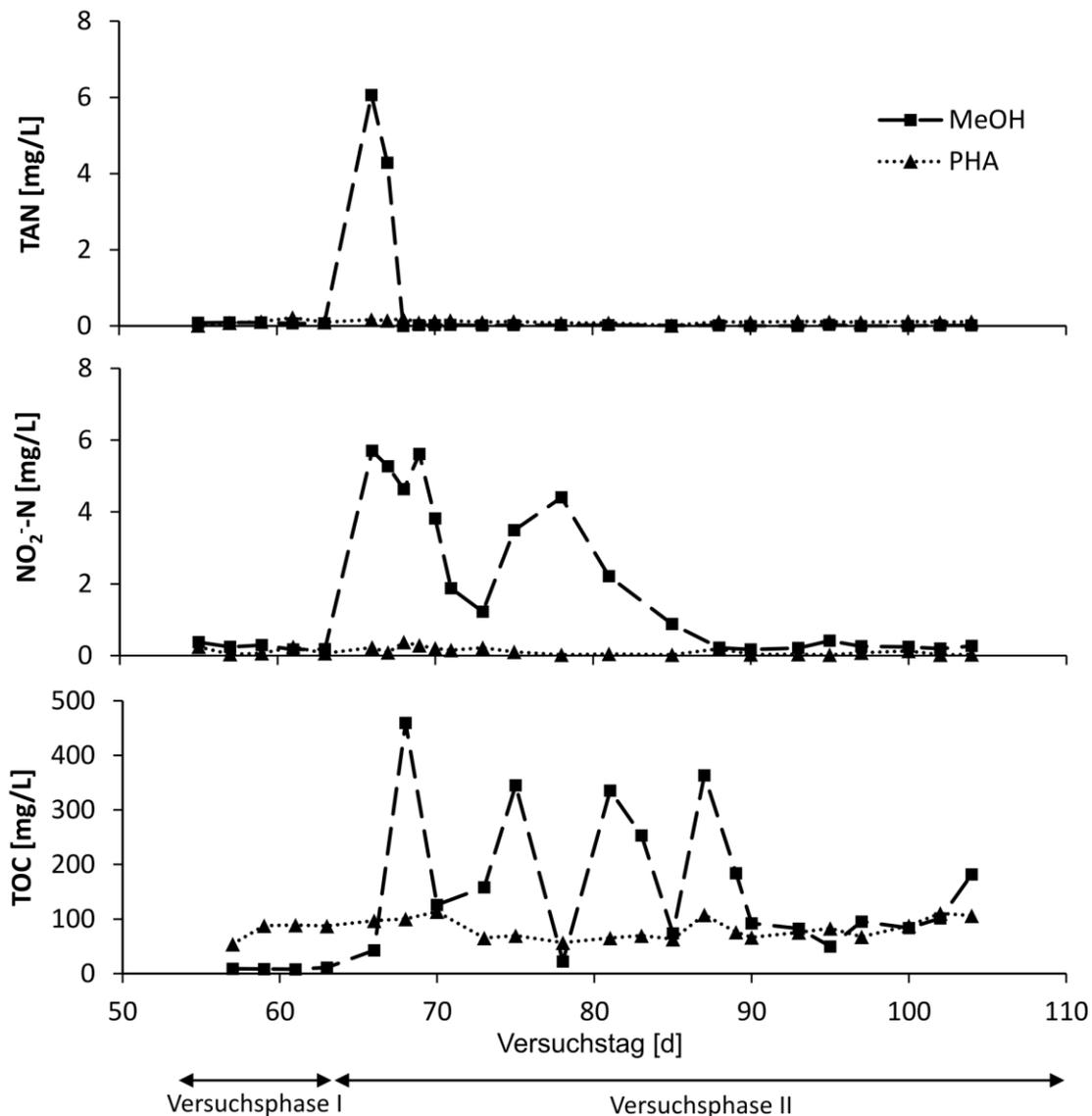


Abbildung 16: Verlauf des Gesamt-Ammoniumstickstoffs (TAN), Nitrits ($\text{NO}_2\text{-N}$) und des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) im Ablauf der mit MeOH und PHA betriebenen SID-Reaktoren.

8.6.4.2 $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration und Reduktion in den experimentellen RAS

Während der Versuchsphasen I und II wurde der Verlauf der $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration im Aufzuchtwasser der drei experimentellen RAS überwacht (Abbildung 17). Zu Beginn der Versuchsphase I wurde für alle drei RAS eine anfängliche $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration von etwa 130 mg L^{-1} gemessen. Am Ende der experimentellen Phase II betragen die $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentrationen für RAS-C, RAS-M und RAS-P 450 , 50 bzw. 160 mg L^{-1} . Für RAS-C wurde während der experimentellen Phasen I und II (Versuchstag 54 bis 110) ein konstanter Anstieg der $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration mit einigen Schwankungen im Verlauf beobachtet. Die Regressionsanalyse ergab eine positive lineare Korrelation der $\text{NO}_3\text{-N}$ Konzentration mit dem Versuchstag. Während der gesamten Versuchsphase wurde in RAS-C keine

Plateauphase für Nitrat beobachtet. Für RAS-M wurde während der Phase I (Versuchstag 54 bis 63), in der dem SID-Reaktor kein Methanol zudosiert wurde, ein Anstieg der NO_3^- -N Konzentration beobachtet. Zu Beginn der experimentellen Phase II (Versuchstag 64) wurde die Methanoldosierung eingeleitet. Die NO_3^- -N Konzentration in RAS-M stieg jedoch bis zum ersten Wendepunkt (T1) am Tag 67 weiter auf etwa 190 mg L^{-1} an (Abbildung 17). Im weiteren Verlauf des Experiments sank die NO_3^- -N Konzentration bis zum Tag 91 auf etwa 50 mg L^{-1} , dem zweiten Wendepunkt (T2) im Nitratverlauf. Vom Versuchstag 92 bis zum Tag 110, dem Ende der experimentellen Phase II, blieb die NO_3^- -N Konzentration bei etwa 50 mg L^{-1} auf einem Plateau. Die Regressionsanalyse ergab eine dreigliedrige, schrittweise lineare Korrelation der NO_3^- -N Konzentration mit dem Versuchstag. In RAS-P wurde während der experimentellen Phase I und II (Versuchstag 54 bis 110) ein konstanter Anstieg der Nitratkonzentration auf bis zu 160 mg L^{-1} beobachtet. Die Regressionsanalyse ergab eine positive lineare Korrelation von NO_3^- -N Konzentration mit dem Versuchstag. Während der gesamten Versuchsphase wurde keine Plateauphase erreicht, jedoch war die Steigung des NO_3^- -N-Anstiegs im Vergleich zu RAS-C offensichtlich geringer.

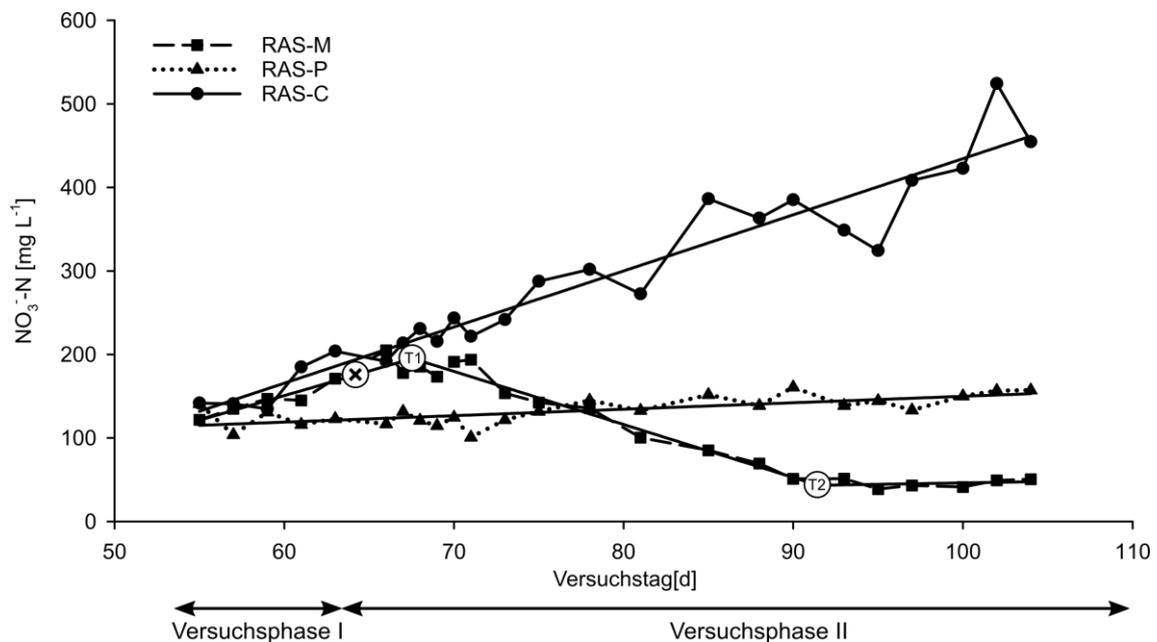


Abbildung 17: Verlauf der Nitratkonzentration (NO_3^- -N) im Aufzuchtwasser von RAS-C, RAS-M und RAS-P. RAS-C, Kontroll-RAS ohne Denitrifikationseinheit; RAS-M, RAS mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor; RAS-P, RAS mit einem mit Polyhydroxyalkanoat betriebenen SID-Reaktor. Das x markiert den Beginn der Methanol-Dosierung in den SID-Reaktor von RAS-M. T1 und T2 kennzeichnen Wendepunkte für die Nitratkonzentration in RAS-M. Regressionslinien und Wendepunkte wurden nach dem best-fit Prinzip unter Verwendung von SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., London, United Kingdom) bestimmt.

In Bezug auf die Denitrifikationseffizienz (in Prozent) wurden mehrere Unterschiede zwischen den mit Methanol und PHA betriebenen SID-Reaktoren beobachtet (Abbildung 18).

Während der Versuchsphase I wurde keine Denitrifikation im mit Methanol betriebenen SID-Reaktor nachgewiesen. Zu Beginn der Versuchsphase II wurde eine Denitrifikationseffizienz von etwa 6% beobachtet. Die Denitrifikationseffizienz stieg am Versuchstag 85 auf ca. 98%, einem Wendepunkt (T_M) im Denitrifikationsverlauf. Von Versuchstag 85 bis 110 verblieb die Denitrifikationseffizienz mit etwa 98% auf einem Plateau. Somit waren 21 Tage vom Beginn des Denitrifikationsprozesses (Dosierung von Methanol) vergangen, bis eine Denitrifikationswirksamkeit von 98% erreicht wurde. Die Regressionsanalyse ergab eine zweiteilige, stückweise lineare Korrelation von der Denitrifikationseffizienz mit dem Versuchstag. Im Gegensatz zu dem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor zeigte der PHA-betriebene SID-Reaktor nach dem Anschließen an das RAS bereits zu Beginn der Versuchsphase I eine Denitrifikationseffizienz von etwa 6%. Am Versuchstag 60, 6 Tage nach dem Anschließen des SID-Reaktors, stieg im Vergleich dazu in RAS-P die Denitrifikationseffizienz auf etwa 40%, einen Wendepunkt (T_P) im Denitrifikationsverlauf (Abbildung 18). Im weiteren Verlauf des Versuchs blieb die Denitrifikationseffizienz mit einigen Schwankungen bei etwa 40%. Für den mit PHA betriebenen SID-Reaktor war keine deutliche Erhöhung oder Verringerung der Denitrifikationseffizienz ersichtlich. Die Regressionsanalyse ergab eine zweiteilige, stückweise lineare Korrelation von der Denitrifikationseffizienz mit dem Versuchstag.

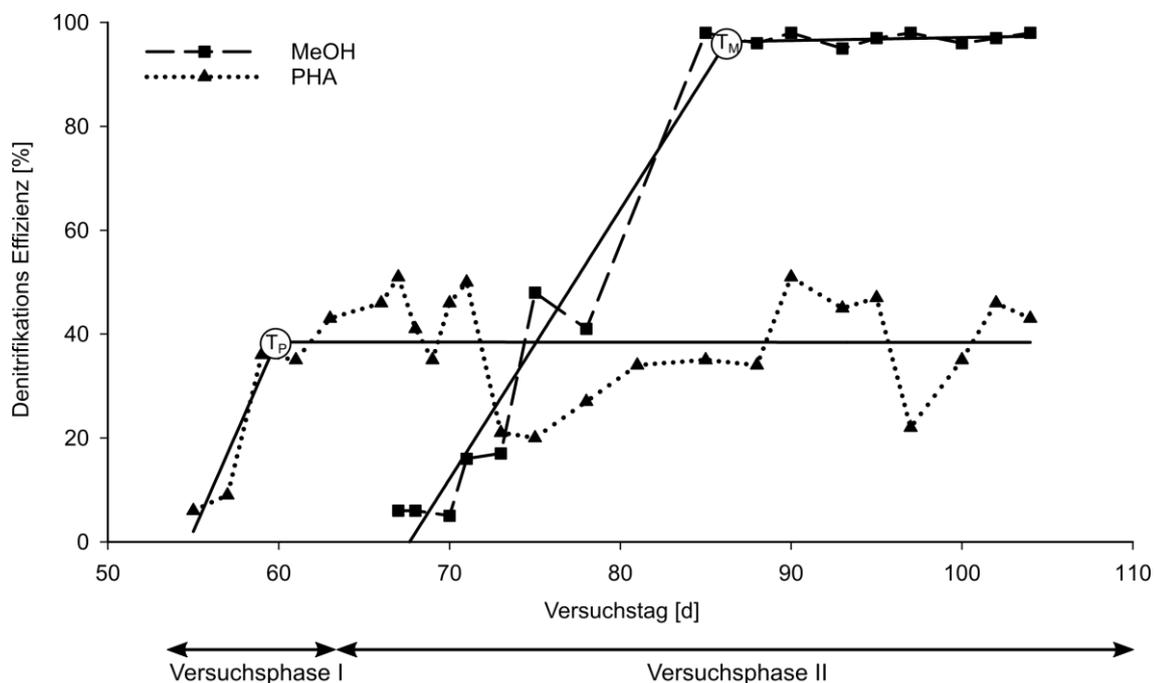


Abbildung 18: Verlauf der Denitrifikationseffizienz für den mit Methanol (MeOH) und Polyhydroxyalkanoat (PHA) betriebenen SID-Reaktor während der Versuchsphase II. T_M , Wendepunkt für die Denitrifikationseffizienz des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors; T_P , Wendepunkt für die Denitrifikationseffizienz des mit PHA betriebenen SID-Reaktors. Regressionslinien und Wendepunkte wurden nach dem best-fit Prinzip unter Verwendung von SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., London, United Kindom) bestimmt.

In Bezug auf die Denitrifikationsrate (in $\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ Substrat) des SID-Reaktors von RAS-M und RAS-P (Tabelle 15) wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Die Denitrifikationsrate betrug $1042 \text{ g d}^{-1} \text{m}^3$ Substrat und $1245 \text{ g d}^{-1} \text{m}^3$ Substrat für den Methanol bzw. den mit PHA betriebenen SID-Reaktor.

Tabelle 15: Mittelwerte (\pm SD) der Denitrifikationsrate für die SID-Reaktoren von RAS-M und RAS-P während der Versuchsphase II.

		Versuchsphase II	
		RAS-M	RAS-P
Versuchstage	[d]	47	47
Datenpunkte	[n]	17	19
	[$\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$]	43 ± 20	52 ± 15
NO ₃ ⁻ -N Reduktion rate	[$\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1} \text{m}^3$ Substrat]	3.95 ± 1.85	4.60 ± 1.34
	[$\text{g d}^{-1} \text{m}^3$ Substrat]	1042 ± 489	1245 ± 339

Anzahl der Datenpunkte (n) pro Behandlung: RAS-M: n = 17; RAS-P: n = 19. NO₃⁻-N, Nitrat; TN Gesamtstickstoff; RAS-M, RAS mit einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor; RAS-P, RAS mit einem mit Polyhydroxyalkanoat betriebenen SID-Reaktor.

Vergleicht man die Kosten für die Denitrifikation (Tabelle 16) unter den angegebenen Versuchsbedingungen, ist es offensichtlich, dass die Reduktion von 1 kg NO₃⁻-N mit Methanol 3,4-mal weniger kostet als mit PHA-Granulat. Um 1 kg NO₃⁻-N zu reduzieren, waren unter den gegebenen Versuchsbedingungen 6,86 kg Methanol und 3,36 kg PHA erforderlich. Der Preis für ein kg MeOH betrug 1,77 € und für ein kg PHA-Granulat 12,30 €. Die Reduktion um 1 kg NO₃⁻-N kostete somit mit Methanol 12,10 € und mit PHA 41,30 €.

Tabelle 16: Substratverbrauch und -kosten für Methanol (MeOH) und Polyhydroxyalkanoat (PHA).

		MeOH	PHA
Substrat Preis (SP)	[€ kg ⁻¹]	1.77	12.30
Substratverbrauch gesamt (SV)	[kg]	2.77	1
NO ₃ ⁻ -N Reduktion gesamt (NR)	[kg NO ₃ ⁻ -N]	0.404	0.298
Relativer Substrat Verbrauch (RSV) ¹	[kg kg ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N]	6.86	3.36
Denitrifikation Kosten (DK) ²	[€ kg ⁻¹ NO ₃ ⁻ -N]	12.10	41.30

1 RSV = SV / NR

2 DK = RSV * SP

8.6.5 Diskussion

In Bezug auf die Wasserqualitätsparameter während der Versuchsphase I (Versuchstag 54 bis 63) wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei getesteten RAS beobachtet. Es ist davon auszugehen, dass der Anschluss und die Inbetriebnahme der SID-Reaktoren keinen negativen Einfluss auf die Wasserqualität und die Funktionalität von RAS-Komponenten wie dem nitrifizierenden MBBR hatten. Während der experimentellen Phase II (Versuchstag 64 bis 110) wurde ein signifikanter Einfluss beider Denitrifikationssysteme auf den pH-Wert und das SBV beobachtet. In den RAS führte die Nitrifikation in den aeroben Biofiltern zu einem verringerten pH-Wert und einem Alkalinitätsverlust im Haltungswasser. Um dem entgegenzuwirken, werden üblicherweise Alkalinitätszusätze wie Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) verwendet. Im Gegensatz dazu neigen die pH- und SBV Werte während der Denitrifikationsprozesse dazu anzusteigen. Dies führt zu einem reduzierten Einsatz von Alkalinitätszusätzen (van Rijn et al. 2006). Laut Stöchiometrie nimmt die Alkalinität während der Nitrifikation um $7,14 \text{ mg CaCO}_3$ pro $\text{mg NH}_4^+\text{-N}$ ab. Während der heterotrophen Denitrifikation steigt die Alkalinität um $3,57 \text{ mg CaCO}_3$ pro $\text{mg NH}_4^+\text{-N}$ (van Rijn et al. 2006). Aufgrund der stöchiometrischen Berechnung kann eine Einsparung von Alkalinitätszusätzen von 50% erwartet werden. Um den pH-Wert in RAS-C bei 7,4 stabil zu halten, mussten dem System insgesamt $3,95 \text{ kg NaHCO}_3$ zugesetzt werden. Fast doppelt so viel wie die NaHCO_3 Zugabe von $2,0 \text{ kg}$ für RAS-M und $2,2 \text{ kg}$ für RAS-P. Daher wurde für beide mit einem SID-Reaktor ausgerüsteten RAS eine Einsparung von etwa 50% bei Alkalinitätszusätzen dokumentiert. Zusammen mit dem pH-Wert waren die SBV Werte in RAS-M im Vergleich zur Kontrolle signifikant höher, was wiederum den positiven Einfluss der Denitrifikation der SID-Reaktoren auf pH und Alkalinität zeigt. Daher zeigten beide SID-Reaktoren einen positiven Einfluss auf den pH-Wert und die Stabilität der Alkalinität.

Ein möglicher negativer Effekt des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors auf die Wasserqualität wurde für die Werte der Wassertrübung im RAS beobachtet. Im Vergleich zu RAS-C war die Trübung in RAS-M signifikant höher. Mit Hilfe von Trübungsmessungen kann die Belastung von Wasser durch Bakterien eingeschätzt werden (Métris et al. 2003). Daher könnte der Anstieg der Trübung in RAS-M ein Ergebnis eines erhöhten Bakterienwachstums sein, das wiederum durch eine Überdosierung von Methanol und damit verbunden einer erhöhten organischen Kohlenstoffbelastung enhergeht. Ein Indikator für eine ungenaue Methanol-Dosierung ist der Gesamtgehalt an organischem Kohlenstoff (TOC) im SID-Reaktor-Ablaufwasser von RAS-M. Während der experimentellen Phase II wurden mehrere Peaks in der TOC Konzentration im SID-Reaktor Ablaufwasser gemessen. Wenn Methanol, das nicht vollständig von denitrifizierenden Bakterien verbraucht wurde, aus dem SID-

Reaktor gespült wird, kann es das Bakterienwachstum im RAS-Haltungswasser fördern. Verbunden mit bakteriellem Wachstum kann auch die Trübung zunehmen. Da Bakterien biologisch abbaubare feste Kohlenstoffquellen nur durch enzymatische Abbau nutzen können, werden die Risiken einer ungenauen Dosierung vermieden (Chu & Wang 2011a, Gutierrez-Wing et al. 2012, Shen et al. 2013a). Die Bakterien verwenden nur die erforderliche Menge an organischem Kohlenstoff, um die ihnen verfügbare Nitratmenge zu reduzieren (Wang & Chu 2016).

Erhöhte Ammonium und Nitrit Werte in Denitrifikationseinheiten können das Ergebnis einer unvollständigen Denitrifikation sein, die beispielsweise durch eine ungenaue Dosierung der Kohlenstoffquelle verursacht wird (van Rijn & Rivera 1990, Oh & Silverstein 1999, Plósz et al. 2003, Hamlin et al. 2008a, Yang et al. 2012, Guo et al. 2017). Bei hohen Konzentrationen können beide genannten Zwischenprodukte die kultivierten Fischarten schädigen. Obwohl sich die höheren TAN- und NO_2^- -N Werte im Aufzuchtswasser von RAS-M im Vergleich zu den beiden anderen RAS nicht signifikant unterschieden, war der Einfluss des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors auf TAN und NO_2^- -N offensichtlich. Zusammengenommen zeigten beobachtete Peaks für TAN, NO_2^- -N und TOC im Ablaufwasser des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors den negativen Einfluss einer ungenauen Kohlenstoffdosierung. Wenn die Dosierung nicht exakt genug ist, kann eine Verschlechterung der Wasserqualität in einem RAS die Folge sein. Bei RAS-P mit dem mit PHA betriebenen SID-Reaktor wurden keine dieser zuvor genannten negativen Auswirkungen beobachtet. Dies zeigt, dass biologisch abbaubare Granulate auf PHA-Basis kein potenzielles Risiko einer unkontrollierten Freisetzung von organischen Kohlenstoffen aufweisen und das Haltungswasser eines RAS nicht belasten (Hiraishi & Khan 2003).

Im Hinblick auf die NO_3^- -N Konzentration im Haltungswasser der RAS wurden während des Versuchs unterschiedliche Konzentrationsprofile in den drei RAS beobachtet. In einem geschlossenen RAS ohne Denitrifikationseinheit sammelt sich Nitrat im Laufe der Zeit aufgrund der Stickstoffbelastung aus dem Fischfutter an, was für RAS-C beobachtet werden konnte. In einem RAS, das mit einer Denitrifikationseinheit ausgestattet ist, deren Netto-Nitratentfernung niedriger ist als die Netto-Nitratproduktion, sammelt sich im Laufe der Zeit auch Nitrat an, jedoch mit einer vergleichbar niedrigeren Rate. Dies wurde für RAS-P beobachtet. In einem RAS mit einer Denitrifikationseinheit mit einer höheren Nitratentfernung als der Netto-Nitratproduktion nimmt die Nitratkonzentration mit der Zeit ab. Wenn die Netto-Nitratentfernung gleich der Netto-Nitratproduktion ist, wird eine Plateauphase erreicht. In RAS-M wurden die letzten beiden Szenarien beobachtet. Zu Beginn der experimentellen Phase II war die Netto-Nitratentfernung in RAS-M höher als die Netto-Nitratproduktion, was

zu sinkenden Nitratkonzentrationen im RAS-Wasser führte. Am Ende der experimentellen Phase II wurde ein Plateau der Nitratkonzentration in RAS-M beobachtet. Am Ende der experimentellen Phase II in RAS-M war die Netto-Nitratentfernung gleich der Netto-Nitratproduktion. In allen drei experimentellen RAS war das Fütterungsregime gleich, was zu gleichen Netto-Nitratproduktionen in den Systemen führte. Aufgrund des identischen Durchflusses wurde zusätzlich die gleiche Wassermenge in beiden SID-Reaktoren behandelt. Darüber hinaus wurden keine statistischen Unterschiede für die Denitrifikationsraten beider SID-Reaktoren beobachtet. Daher sind die unterschiedlichen Nitratkonzentrationen in den RAS am Ende des Experiments auf unterschiedliche Denitrifikationseffizienzen beider SID-Reaktoren zurückzuführen.

In RAS-P stieg die Nitratkonzentration von ca. 130 mg L^{-1} auf 160 mg L^{-1} am Ende des Versuches an. Der mit PHA betriebene SID-Reaktor erreichte nach 6 Versuchstagen relativ schnell eine Denitrifikationseffizienz von 40%. Daher entfernte der mit PHA betriebene SID-Reaktor während des Versuchs ungefähr 52 bis 64 mg Nitrat pro behandeltem Liter Haltungswasser. In RAS-M begann die Denitrifikation am Tag 67 bei einer Konzentration von 190 mg L^{-1} bei einer geringen Denitrifikationswirksamkeit von etwa 6%. Somit entfernte der mit Methanol betriebene SID-Reaktor zu Beginn ungefähr 11 mg Nitrat pro behandeltem Aufzuchtswasser. Im Verlauf des Versuchs stieg die Denitrifikationseffizienz am Versuchstag 85 auf 98%. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Nitratkonzentration in RAS-M 85 mg L^{-1} , was zu einer Nitratentfernung von 83 mg pro behandeltem Liter Aufzuchtswasser führte. Gegen Ende des Versuchs nahm die Nitratkonzentration in RAS-M auf etwa 50 mg L^{-1} ab, was zu einer Nitratentfernung von 49 mg pro behandeltem Liter Aufzuchtswasser führte. Auf dieser Grundlage führt die Bestimmung der durchschnittlichen Denitrifikationsraten für beide SID-Reaktoren zu einer ähnlichen Nitratentfernung in $\text{g d}^{-1} \text{ m}^3$ Aufwuchskörper.

Die gleichzeitige Verwendung von PHA-Granulat als Aufwuchskörper und Kohlenstoffquelle führte zu einer sofortigen, wenn auch geringen Denitrifikationseffizienz von 6%, nachdem der mit PHA betriebene SID-Reaktor an RAS-P angeschlossen wurde. Während der Installation der SID-Reaktoren an das jeweilige RAS (Versuchsphase I) wurde der SID-Reaktor von RAS-M nicht mit einer Kohlenstoffquelle betrieben. Wenn die endogene Menge an organischem Kohlenstoff nicht ausreicht, um stabile Denitrifikationsprozesse in einer Denitrifikationsanlage zu erreichen, ist eine externe Kohlenstoffquelle obligatorisch (van Rijn et al., 2006). Basierend auf stöchiometrischen Berechnungen werden voraussichtlich 1,9 g Methanol benötigt, um 1,0 von NO_3^- -N zu reduzieren (Cheremisinoff 1995). Da Stickstoff und Kohlenstoff auch von denitrifizierenden Bakterien für Zellsynthesen verwendet werden, liegt der Methanolbedarf über dem C/N-Verhältnis von 1,9 (Kadlec & Wallace 2008). Wie

berichtet, ist ein C/N-Verhältnis von 2,3 für eine stabile und effiziente Denitrifikationsleistung eines SID-Reaktors optimal. Eine TOC Konzentration von ca. 10 mg L⁻¹ stellt die endogen verfügbare Menge an organischem Kohlenstoff in RAS-M dar. Diese Kohlenstoffmenge erfüllt nicht das erforderliche C/N-Verhältnis und ist somit nicht für die Denitrifikation von 130 mg L⁻¹ NO₃-N ausreichend. Daher war die vorliegende endogene organische Kohlenstoffkonzentration des Systems nicht ausreichend, um Denitrifikationsprozesse im SID-Reaktor in RAS-M zu initiieren. Als Konsequenz stieg die Nitratkonzentration in RAS-M in der Versuchsphase I vergleichbar zu RAS-C an. Drei Tage nach Beginn der experimentellen Phase II wurde eine messbare Abnahme der Nitratkonzentration in RAS-M beobachtet. Für den mit Methanol betriebenen SID-Reaktor wurde erst 21 Tage nach Beginn der Methanol-Dosierung die maximale Denitrifikationseffizienz erreicht.

In dem Versuch wurde beobachtet, dass in Abhängigkeit zur Kohlenstoffquelle eine gewisse Zeit vergeht bis eine finale Denitrifikationseffizienz eintritt. Es ist offensichtlich, dass eine Besiedlung des Substrats durch Bakterien und die Anpassung der Bakteriengemeinschaft an die Umweltbedingungen Zeit braucht. Im Vergleich zu der gemessenen Denitrifikationseffizienz von 98% des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors und im Vergleich zu anderen Studien schien die Denitrifikationseffizienz des PHA-SID-Reaktors von etwa 40% jedoch niedrig zu sein.

Wie von Wang & Chu (2016) zusammengefasst, beträgt die Denitrifikationseffizienz bei der Verwendung von verschiedenen biologisch abbaubaren Polymeren als Kohlenstoffquelle üblicherweise >90%. Jedoch kann ein Verstopfen eines Denitrifikationsreaktors aufgrund von übermäßiger Biomasseproduktion zu einer Verringerung der Denitrifikationseffizienz führen (Boley et al. 2000, Li et al. 2016a). Dies konnte jedoch in dem Versuch ausgeschlossen werden, da aufgrund der Selbstreinigungseigenschaften des SID-Reaktors ein Verstopfen des Reaktors verhindert wurde (Müller-Belecke et al. 2013). Mit dem SID-Reaktor als Denitrifikationseinheit wurde während des experimentellen Versuchs für beide Kohlenstoffquellen kein Verstopfen der Reaktoren beobachtet, was eine korrekte Beurteilung der Denitrifikationsleistung ermöglicht.

Obwohl es bereits einige Daten zur Denitrifikationsleistung aus anderen Studien gibt, ist ein direkter Vergleich der Daten aufgrund fehlender Informationen zu Umweltsituationen und der genauen verwendeten chemischen Verbindungen teilweise ungenau. Generell gibt es eine Vielzahl von verschiedenen PHA-Typen (Steinbüchel 1992, Kessler et al. 2001, Zhang et al. 2006, Raza et al. 2018). Es ist davon auszugehen, dass sie sich aufgrund von strukturellen Variationen in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften unterscheiden (Raza et al. 2018). Darüber hinaus werden bei der Biosynthese von PHAs keine reinen PHAs eines

einzigsten Typs erzeugt, sondern Mischungen von mehr als einem Monomer (Raza et al. 2018). Es ist daher vorstellbar, dass das in dieser Studie verfügbare PHA eine Zusammensetzung hatte, die zu einer vergleichsweise geringen Denitrifikationseffizienz führte. Diese Unterschiede der verschiedenen Substratgruppen können jedoch auch durch Compoundierung ausgenutzt werden. Compoundierung kann zu verbesserten biologischen, physikalischen und chemischen Eigenschaften führen und Kosten senken (Hiraishi & Khan 2003, Shen & Wang 2011, Wu et al. 2012, Shen et al. 2013b). Neben der Verbesserung des Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen könnte die Gesamtleistung der Denitrifikation verbessert werden (Hiraishi & Khan 2003, Chu & Wang 2011b, Gutierrez-Wing et al. 2012). Eine Erhöhung des Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen könnte einen großen Einfluss auf die Denitrifikationsleistung des Substrats haben. Durch die Besiedlung des Substrats durch eine größere Bakterienmenge kann die Denitrifikation effizienter werden.

Die Verwendung von Kunststoffen in der Aquakultur kann aber auch Bedenken aufkommen lassen. So gibt es Bedenken, dass die Aufnahme von Mikroplastik durch Fische eine mögliche Kontaminierung der menschlichen Nahrungsversorgung zur Folge haben könnte (Lusher et al. 2017). Die Aufnahme von Mikroplastik durch Organismen wurde in einer Vielzahl von Lebensräumen beobachtet, einschließlich der Meeresoberfläche, der Wassersäule, des Benthos, der Flussmündungen, der Strände, der Aquakultur und der Tiefsee (Bergmann et al. 2015, GESAMP 2015, Taylor et al. 2016, Lusher et al. 2017). Wie von Lusher et al. (2017) berichtet, wurden Aufnahme, Bewegung und negative Auswirkungen von Mikroplastikpartikeln in ganzen Organismen und Geweben wie Kiemen, Intestinaltrakt und Leber beobachtet.

Für PHA wurde das Gefahrenpotential in mehreren Studien in verschiedenen Forschungsgebieten untersucht. Diese Studien haben gezeigt, dass sich PHA und seine Abbauprodukte als nicht toxisch erwiesen haben und keine Hinweise auf karzinogene Wirkungen enthalten (Peng et al. 2011, Ali & Jamil 2016, Li et al. 2016b). Darüber hinaus wurden PHAs bereits im humanmedizinischen Bereich für Nähte, Herz-Kreislaufpflaster, orthopädische Pins, Adhäsionsbarrieren, Stents, Nervenführungen, Knochenmarkgerüste, Wundverbände, Unterstützung des Zellwachstums und weitere Anwendungen eingesetzt (Chen & Wu 2005, Ali & Jamil 2016). Das PHA zeigt somit beste Voraussetzungen für die Anwendung in der Aquakulturfischproduktion. Zudem wurde in der vorliegenden Studie das Abwasser aus dem SID-Reaktor in einem Biofiltersystem aufbereitet, um auszuschließen, dass PHA-Partikel zu den Fischen gelangen können. Durch diese Vorgehensweise konnte das Risiko der Aufnahme von PHA-Partikeln durch Fische weiter minimiert werden. In künftigen Forschungsprojekten sollte jedoch geklärt werden, ob PHA ein Risiko für Fische

darstellt und ob die Freisetzung und Akkumulation von Substanzen, die aus PHA stammen, langfristige negative Auswirkungen auf Fische haben.

Im Hinblick auf die ökonomischen Kosten wurden in diesem Versuchsteil nur die Kosten für die Substrate berücksichtigt. Zudem war der Preis von 1,77 € für Methanol und 12,30 € für PHA aufgrund des Kaufs von Mindestmengen nicht repräsentativ für wirtschaftlich arbeitende RAS-Produktionssysteme. Bei größeren Abnahmemengen sind niedrigere Preise zu erwarten. Wie in anderen Studien berichtet, kann der Preis für biologisch abbaubare Kunststoffe bereits bei wenigen Euro liegen (Boley et al. 2000, Wang & Chu 2016).

Darüber hinaus war die Dosierung des Methanols im Hinblick auf schwankende TOC Werte im Auslasswasser des mit Methanol betriebenen SID-Reaktors wahrscheinlich nicht immer genau. Daher ist es schwierig, den Verbrauch von Methanol und die Substratkosten zu vergleichen. Am Ende des experimentellen Versuchs wurde ein Substratverbrauch von 3,36 kg PHA pro reduziertem kg NO_3^- -N berechnet. In dieser Studie ist der Verbrauch an Substrat im Vergleich zu anderen Studien höher, aber immer noch in einem ähnlichen Bereich. Der für PHB (Polyhydroxybutyrat) berichtete Substratverbrauch betrug 2,9 kg kg^{-1} NO_3^- -N (Gutierrez-Wing et al. 2012), für PHBV (Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)) 1,49 bis 1,65 kg kg^{-1} NO_3^- -N (Chu & Wang 2016a) und für PCL (Polycaprolacton) im Bereich von 1,27 bis 3,7 kg kg^{-1} NO_3^- -N (Boley et al. 2000, Chu & Wang 2011b, 2013). Diese Unterschiede könnten zunächst auf unterschiedliche Substanzgruppen, aber auch auf Unterschiede in den physikalischen Eigenschaften (z. B. Dichte, Oberflächenqualität usw.) und der chemischen Zusammensetzung innerhalb einer Substanzgruppe zurückzuführen sein. Nichtsdestotrotz sind die Substratkosten für Denitrifikationsprozesse mit biologisch abbaubaren Polymeren im Vergleich zu herkömmlichen flüssigen Kohlenstoffquellen teurer (Wang & Chu 2016). Die zukünftige Senkung der Produktionskosten und die Aufbereitung biologisch abbaubarer Kunststoffe mit billigen organischen Substanzen werden die Solid-Phase Denitrifikation wirtschaftlicher machen (Wang & Chu 2016).

8.6.6 Zusammenfassung

Die Ergebnisse des Versuches zeigen ein großes Potenzial bei der Verwendung eines SID-Reaktors in Kombination mit biologisch abbaubaren Polymeren als feste Kohlenstoffquelle mit dem Ziel der Nitrateliminierung in RAS. Im Gegensatz zu herkömmlichen Denitrifikationssystemen ist das Funktionsprinzip des SID-Reaktors nicht auf die Verwendung einer flüssigen Kohlenstoffquelle oder einer festen Kohlenstoffquelle beschränkt. Die Verwendung von PHA in Kombination mit einem SID-Reaktor zeigte mehrere Vorteile im Vergleich zu einem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor. Unter den angegebenen experimentellen Bedingungen zeigte der Beginn der Denitrifikationsleistung des mit PHA betriebenen SID-Reaktors im Vergleich zu dem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor eine kürzere Verzögerungszeit beim Start des Denitrifikationsprozesses. Die Denitrifikationseffizienz war jedoch im Vergleich zu dem mit Methanol betriebenen SID-Reaktor niedriger. Darüber hinaus waren bei der Verwendung von PHA die Trübungs, TAN, NO_2^- -N und TOC Werte im Haltungswasser ohne Extremwerte und niedriger als bei der Verwendung von Methanol. Zukünftige Forschung sollte sich auf die weitere Senkung der Produktionskosten biologisch abbaubarer Kunststoffe, die Zusammenstellung verschiedener Stoffgruppen, die neue Substrate mit fortgeschrittenen biologischen, physikalischen und chemischen Eigenschaften schaffen, und die Bewertung dieser neuen Substrate hinsichtlich ihres Potenzials in RAS-Anwendungen konzentrieren.

8.7 Einfluss des SID-Reaktors auf Filet Geruch und Geschmack (Off-Flavour) (AP 3)

8.7.1 Einleitung

Der Geschmack und Geruch eines Produktes ist eines der wichtigsten Charakteristika von Lebensmitteln und entscheidet darüber ob ein Produkt konsumiert wird oder nicht. Unerwünschter Geschmack und Geruch bei Fischen tritt unter anderem als sogenannter Off-Flavour auf und kann unterschiedliche Ursachen haben. Es ist bekannt, dass Fische chemische Verbindungen aus ihrer Umwelt durch die Aufnahme von Nahrung oder durch Absorption aus dem Wasser aufnehmen können (Badiola et al. 2012, Dalsgaard et al. 2013). Um zu evaluieren, ob der SID-Reaktor einen positiven oder negativen Einfluss auf Geschmack und oder Geruch von Fischfilets hat, wurden die Filets von Fischen aus drei unterschiedlichen Kreisläufen beprobt und mit einander Verglichen.

8.7.2 Versuchssystem und -design

Im Rahmen des Versuches wurde die Auswirkung von drei unterschiedlichen Haltungssystemen (Kapitel 6.2.2, RAS-C, RAS-M und RAS-P) auf die Filetqualität von Zandern im Hinblick auf Geruch und Geschmack untersucht. Das erste RAS wurde als Kontrolle ohne Denitrifikationssystem betrieben (RAS-C). Das zweite RAS wurde mit einem SID-Reaktor ausgestattet, der mit Methanol als externe Kohlenstoffquelle betrieben wurde (RAS-M). Das dritte RAS wurde mit einem SID-Reaktor ausgestattet, der mit PHA-Granulat betrieben wurde (RAS-P). Für den Versuch mit einer Dauer von insgesamt 110 Tagen wurden insgesamt 385 Zander (*Sander lucioperca*) mit einem anfänglichen Körpergewicht von etwa 190 g zufällig auf die drei RAS verteilt, was zu einer durchschnittlichen Start-Biomasse von 24,3 kg pro RAS führte. Das Lichtregime wurde auf 14 Stunden Licht und 10 Stunden Dunkelheit eingestellt. Ab dem zweiten Tag nach dem Besatz wurden die Zander täglich mit 243 g eines handelsüblichen Futtermittels (Aller Metabolica, Emsland Aqua GmbH, Golßen, Deutschland) über Bandfutterautomaten gefüttert. Die Futtermenge wurde zu Beginn des experimentellen Versuchs auf 1% der gesamten Biomasse pro Tank eingestellt.

Während der Versuchsdauer waren die Zander in RAS-C steigenden Nitratkonzentrationen im Haltungswasser ausgesetzt, die am Ende des Versuchs eine Konzentration von 450 mg NO_3^- -N L^{-1} erreicht hatten. In RAS-M wurde am Ende des Versuches eine Nitrat Konzentration von 50 mg NO_3^- -N L^{-1} erreicht und in RAS-P eine Nitrat Konzentration von 160

mg NO₃-N L⁻¹. Die vorherrschenden Versuchsbedingungen sind detailliert in Kapitel 8.6 erläutert.

Der Einfluss des SID-Reaktors bzw. des Denitrifikationsprozesses auf Geruch & Geschmack (Off-Flavour) der Filets der kultivierten Fischart wurde parallel zu dem in Kapitel 8.6 beschriebenen Versuch durchgeführt. Die Beurteilung orientierte sich nach dem Torry-Schemata für Magerfische (Tabelle 17), wobei aus jedem Filetstück die in Abbildung 19 gekennzeichneten Teilstücke genutzt wurden. Die Filetstücke wurden ohne Zusatz von Salz oder Gewürzen in verschlossenen Zipp-Beuteln in einem Wasserbad bei 90-95 °C so lange gegart, bis im Kern der Stücke 65-70 °C erreicht waren (Vorversuche wurden durchgeführt).

Tabelle 17: Torry Bewertungsschema für die sensorische Bewertung von gegartem Magerfischfilet.

Geruch	Geschmack/Aroma	Punkte
Anfänglich schwacher Geruch nach gekochter Vollmilch, Stärke, gefolgt von einer Verstärkung dieser Eindrücke	wässrig, metallisch, nach Stärke, Anfänglich keine Süße, aber Fleischaroma mit leichter Süße kann vorkommen	10
Krebsfleisch, Algen, gekochtes Fleisch	süß, nach Fleisch, charakteristisch	9
Verlust des Geruchs, neutral	Süße und charakteristische Aromen, aber in der Intensität reduziert	8
Sägespäne, Vanille	neutral	7
Kondensmilch, gekochte Kartoffeln	fade	6
nach Milchkanne, erinnert an gekochte Wäsche	leicht säuerlich, Spur von unangenehmen Gerüchen	5
Milchsäure, Sauermilch, Trimethylamin (fischig)	leicht bitter, sauer, unangenehme Gerüche, Trimethylamin (fischig)	4
Niedere Fettsäuren (Wie Essigsäure oder Buttersäure), verrottetes Gras, seifig, Rübe, talgig	stark bitter, Gummi, leicht schwefelig (Schwefelwasserstoff)	3

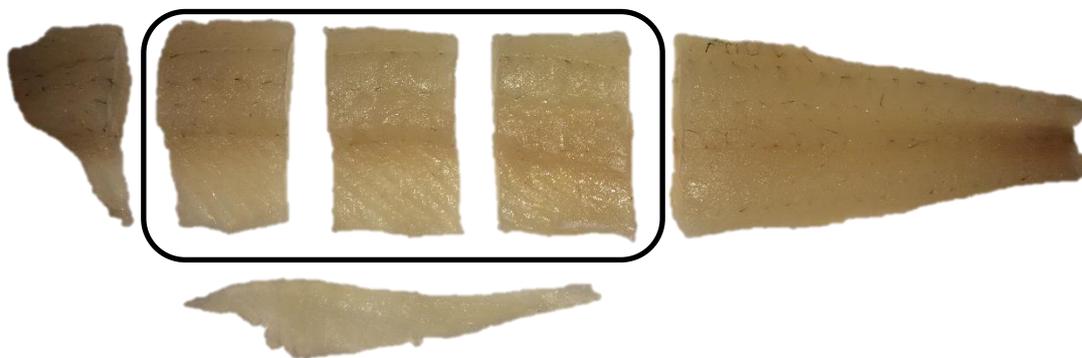


Abbildung 19: Die für die Beurteilung von Geruch und Geschmack (Off-Flavour) genutzten drei Teilstücke eines Zander-Filets (durch schwarzen Kasten markiert).

8.7.3 Ergebnisse und Diskussion

Wie in Abbildung 20 zu sehen, konnten aufgrund der hohen Standardabweichung der Werte keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Zander-Filets aus den unterschiedlichen Kreisläufen festgestellt werden. Jedoch ist eine Tendenz sowohl im Geruch und Geschmack als auch im Gesamturteil zu erkennen. Die Filets von den Fischen aus RAS-P zeigten in allen drei Kategorien die höchste Punktzahl und somit das beste Ergebnis. Bei der Bewertung des Geruches erzielten die Filets 7,0 Punkte, beim Geschmackstest 7,1 und im Gesamturteil 6,6 Punkte. Filets von Fischen aus RAS-C zeigten hingegen die geringste Punktzahl in allen drei Kategorien und somit die schlechteste Qualität. Hier wurden im Schnitt 4,9 Punkte bei der Bewertung des Geruches, 6,1 Punkte beim Geschmackstest und 5,1 Punkte beim Gesamturteil erzielt. Die Filets von den Zandern aus RAS-M liegen punktemäßig in allen Kategorien zwischen den beiden anderen. So wurden im Durchschnitt 6,0 Punkte für den Geruch, 6,7 Punkte für Geschmack und 5,7 Punkte im Gesamturteil vergeben.

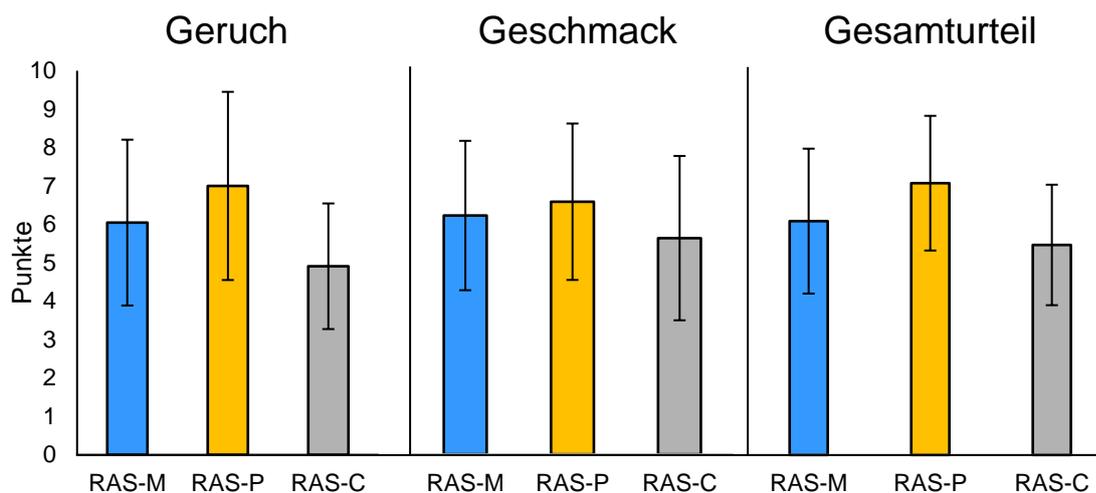


Abbildung 20: Bewertung der Zander-Filets nach Geruch, Geschmack und Gesamturteil von 0 bis 10 Punkten, wobei 10 Punkte die bestmögliche Qualität darstellt.

Aus den Ergebnissen des Versuchs kann abgeleitet werden, dass sowohl der Methanol als auch der PHA betriebene SID-Reaktor keinen negativen Einfluss auf die Filetqualität im Vergleich zu dem Kreislauf ohne Denitrifikationsreaktor hatten. Es ist somit auszuschließen, dass in den SID-Reaktoren Substanzen durch Bakterien produziert wurden, die die Produktqualität verschlechtern würden. Im Gegenteil scheint es, dass ein Denitrifikationssystem generell einen positiven Einfluss auf Geruch und Geschmack eines Fischfilets hat und somit die Produktqualität verbessern kann. Im weiteren Vergleich der Ergebnisse aus den zwei Kreisläufen mit einem SID-Reaktor ist zu sehen, dass ein

Denitrifikationssystem betrieben mit einem biologisch abbaubaren Kunststoff tendenziell sich noch positiver auf die Produktqualität auswirkt.

Bakterien und Pilze im Haltungswasser können einen negativen Einfluss auf die Fleischqualität von Fischen ausüben, indem sie Substanzen wie 2-Methylisoborneol (MIB) oder Geosmin ins Wasser abgeben. Diese Stoffe tragen durch ihre hohe Bioakkumulationsrate zum sogenannten Off-Flavour, einem unerwünschten Geruch und Geschmack, von Fischen bei (Tucker 2000, Mara et al. 2003, Badiola et al. 2012, Dalsgaard et al. 2013). Es wird angenommen, dass Biologische Filter, wie zum Beispiel Denitrifikationssysteme, zur Reduktion dieser Stoffe beitragen können (Elhadi et al. 2004, Ho et al. 2007, Eaton & Sandusky 2009, McDowall et al. 2009). Zum einen wird vermutet, dass chemische Verbindungen wie MIB oder Geosmin direkt von anaeroben Bakterien in Denitrifikationssystemen verstoffwechselt werden können und somit die Konzentration im Haltungswasser sinkt. Zum anderen können Denitrifikationssysteme wie der SID-Reaktor zu einer Reduktion der Bakterienanzahl im Haltungswasser beitragen. Somit werden auch die Populationen der Bakterien reduziert, die für die Produktion von MIB, Geosmin, etc. verantwortlich sind, sodass die Konzentration der Off-Flavour Substanzen indirekt reduziert wird. In kommerziellen Anlagen wirkt man dem unerwünschten Geruch bzw. Geschmack der Fische durch Aushältern entgegen (Einen & Thomassen 1998, Tucker 2000). Dabei werden die Fische für eine gewisse Zeit ohne Zufütterung in frischem Wasser gehalten. Dieses Vorgehen ist vergleichsweise kostenintensiv, da die Fische in dieser Zeit nicht wachsen, Platz einnehmen und Betriebskosten verursachen. Ein Verkürzen dieser Prozedur durch einen SID-Reaktor kann zur Rentabilität einer Anlage beitragen. Im Idealfall könnte ein integrierter Denitrifikationsreaktor ein Aushältern komplett unnötig machen.

8.7.4 Zusammenfassung

Die Ergebnisse des Versuches zeigen, dass der Betrieb eines SID-Reaktors keinen negativen Einfluss auf den Geschmack und Geruch der Filets hat. Die im SID-Reaktor für die Reduktion von Nitrat verantwortlichen Bakterien produzieren somit selbst keine Off-Flavour verursachenden Substanzen. Generell zeigt sich eher ein tendenziell positiver Einfluss der SID-Reaktoren auf die Filetqualität. Der SID-Reaktor kann somit indirekt durch die Minimierung von Off-Flavour die Betriebskosten einer Anlage minimieren, wenn das Hältern der schlachtreifen Fische im sauberen Wasser verkürzt oder komplett ausgelassen werden kann. Ob im SID-Reaktor Off-Flavour verursachende Substanzen direkt abgebaut werden oder indirekt durch die Reduktion der Bakterienanzahl im System beeinflusst werden sollte in folgenden Studien geklärt werden.

8.8 Ökonomische Bilanzierung (AP 2)

Die ökonomische Bilanzierung basiert auf Daten, die im Rahmen des Projektes erhoben wurden. Da es sich bei den genutzten Kreislaufanlagen um Versuchsanlagen der GMA mbH mit maximal 40 m³ Anlagenvolumen handelt, sollten die Bilanzierungen als erste Einschätzungen gedeutet werden. Ob die Aussagen auf kommerziell arbeitende Anlagen übertragen und skaliert werden können muss im Einzelfall evaluiert werden. Dabei spielen einzelne Anlagenkomponenten, verwendete Futtermittel, Wasserqualität des genutzten Wasser, Auflagen bei der Wasserentsorgung, die kultivierte Fischart und deren Nitrattoleranz, etc. eine wichtige Rolle und müssen für jede Anlage an ihrem individuellen Standort berücksichtigt werden. Des Weiteren wurde bei der Bilanzierung der Anschaffungspreis des Reaktors, Kosten, die mit der Installation des SID-Reaktors verbundenen sind, und eventuelle Schulungskosten des Anlagenpersonals nicht berücksichtigt. Diese Kosten sind im Einzelfall mit dem Hersteller des SID-Reaktors abzusprechen bzw. zu verhandeln.

8.8.1 Maximale Nitratreduktion durch den SID-Reaktor

Das genutzte kommerzielle Futtermittel (Aller Green, Emsland Aller Aqua GmbH, Golßen, Deutschland) mit einem Proteinanteil von 40%, enthielt 0,4 kg Protein pro 1 kg Futter. Bei einem angenommenen relativ schlechten FCR von 2 sind laut Herstellerangaben aus 1 kg Futter 0,006 kg Stickstoff in den Faeces enthalten und 0,0464 kg Stickstoff werden in das Wasser abgegeben. Für die weitere Berechnung wird davon ausgegangen, dass das Haltungswasser durch den Stickstoffanteil der Faeces nicht belastet wird, da die partikulären Bestandteile durch mechanische Reinigungsstufen aus dem System entfernt werden. Das Auswaschen des Stickstoffes aus den Faeces wird an dieser Stelle vernachlässigt. Die aus 1 kg Futter stammenden 0,0464 kg Stickstoff werden im Rahmen der Nitrifizierung in den aeroben biologischen Filtern zu 0,0464 kg NO₃⁻-N umgewandelt.

Im Rahmen des Projektes wurde für den Methanol betriebenen SID-Reaktor eine maximale Denitrifikationsrate von $1,042 \pm 0,489$ NO₃⁻-N kg d⁻¹ m³ Aufwuchskörper ermittelt. Die Berechnungen sind auf einen SID-Reaktor mit einem Fassungsvermögen von 1 m³ Aufwuchskörper angepasst.

Aus den oben genannten Daten lässt sich folgende Berechnung durchführen:

Nitrat-Belastung: 0,0464 kg NO₃⁻-N kg⁻¹ Futter
Nitrat-Reduktion durch SID-Reaktor: 1,042 NO₃⁻-N kg d⁻¹m³ Aufwuchskörper

$$\frac{1,042 \text{ kg NO}_3^- \text{ N d}^{-1} \text{ m}^3 \text{ Aufwuchskörper}}{0,0464 \text{ kg NO}_3^- \text{ N kg}^{-1} \text{ Futter}} = 22,5 \text{ kg Futter d}^{-1} \text{ m}^{-3} \text{ Aufwuchskörper}$$

Folglich:

Es ist möglich mit einem SID-Reaktor, der 1 m³ Aufwuchskörper enthält pro Tag die Nitratbelastung, die aus 22,5 kg Futter entsteht, zu neutralisieren.

8.8.2 Wassereinsparpotential

Bei der Berechnung zum Wassereinsparpotential werden Wasserverluste durch Verdunstung etc. vernachlässigt. Die Berechnungen basieren ebenfalls auf einem SID-Reaktor, der 1 m³ Aufwuchskörper enthält. Des Weiteren wird das Wassereinsparpotential auf 1 kg verfüttertes kommerzielles Futter (Aller Green) berechnet. Wie in Kapitel 8.6 gezeigt, kann der SID-Reaktor eine Denitrifikationseffizienz von bis zu 98% erreichen. Für die Berechnungen wird eine Denitrifikationseffizienz von 100% angenommen.

Da die erzielte Nitratreduktion von 1,042 NO₃⁻-N kg d⁻¹ m³ Aufwuchskörper bei einer hydraulischen Retentionszeit von 2 h (833 L h⁻¹ bei 1 m³ Aufwuchskörper) erzielt wurde müssen folglich 20 000 L d⁻¹ Anlagenwasser durch den SID-Reaktor behandelt werden um diese Nitratreduktion zu erzielen. 20 000 L d⁻¹ (20 m³ d⁻¹) entsprechen dabei 50% des Anlagenvolumens von 40 m³. Um den gleichen Effekt durch einen Wasseraustausch zu erzielen, müsste die gleiche Menge Anlagenwasser durch Frischwasser ausgetauscht werden.

Folglich:

20 000 L d⁻¹ Anlagenwasser müssen durch Frischwasser ersetzt werden oder durch den SID-Reaktor behandelt werden um die Nitratlast aus 22,5 kg Futter zu neutralisieren.

Bzw.

888 L d⁻¹ Anlagenwasser müssen durch Frischwasser ersetzt werden oder durch den SID-Reaktor behandelt werden um die Nitratlast aus 1 kg Futter zu neutralisieren.

8.8.3 Energiekosten

Wasserwechsel

Die bei einem Wasserwechsel anfallenden Energiekosten werden an dieser Stelle nur für die Temperierung des Wassers berechnet und wurden nicht empirisch ermittelt.

Um 1 g Wasser um 1 °C zu erwärmen wird 1 cal benötigt. Bei 1 kg sind das entsprechend 1 kcal beziehungsweise ca. 4,19 kJ. Dies entspricht der Wärmekapazität von Wasser. Des Weiteren entspricht 1 Wh = 3,6 kWh (60 sec. x 60 sec. = 3 600 geteilt durch 1 000) oder 3,6 kJ. Da die spezifische Wärmekapazität von 1 kg Wasser mit 4,19 kJ und der Zusammenhang von Wh zu kJ bekannt ist, werden 4,19 kJ durch 3,6 geteilt, um den Faktor von 1,16 zu erhalten.

Um 1 kg Wasser um 1 °C zu erwärmen werden 4,19 kJ bzw. 1,16 Wh benötigt. Um 1 m³ Wasser um 1 °C zu erwärmen werden 1,16 kWh benötigt. Dementsprechend werden, um 1 m³ Frischwasser mit 15 °C auf 25 °C zu temperieren, 11,6 kWh benötigt.

Folglich:

Um 888 L d⁻¹ Frischwasser verbunden mit der Fütterung von 1 kg Futter von 15°C auf 25°C zu temperieren werden 10,3 kWh benötigt.

SID-Reaktor

Beim Einsatz eines SID-Reaktors ist eine Temperierung des zu behandelnden Wassers nicht notwendig. Ferner wurde der in diesem Projekt genutzte SID-Reaktor an eine bestehende wasserführende Rohrleitung angeschlossen, sodass keine zusätzliche Pumpe für die Wasserführung benötigt wurde. Der Hauptenergieverbraucher ist die Seitenkanal-Vakuumpumpe (0,55 kW, $120 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ Gasstrom, 100 mbar, Typ: SV 8.130/1-01, Gebr. Becker GmbH, Wuppertal, Deutschland). Der Energieverbrauch ist von der Dimensionierung und dem Typ des SID-Reaktors bzw. der Seitenkanal-Vakuumpumpe abhängig.

Folglich:

Da die Seitenkanal-Vakuumpumpe unabhängig von der Futtermenge 1 Minute pro Stunde bzw. 0,4 Stunden pro Tag läuft, ergibt sich ein fixer Energieverbrauch von 0,22 kWh pro Tag.

8.8.4 Rückgewinnung von Härte-Äquivalenten

Eine Berechnung des Einsparpotentials von Alkalinitätszusätzen auf absolute Werte ist an dieser Stelle nicht zielführend, da der Einsatz von Alkalinitätszusätzen maßgeblich vom eingesetzten Futtermittel, der vorherrschenden Wasserhärte des Frischwassers und weiteren Faktoren abhängig ist. Die Menge an benötigten Alkalinitätszusätzen kann sich daher zwischen Anlagen stark unterscheiden.

Laut Stöchiometrie nimmt die Alkalinität während der Nitrifikation um $7,14 \text{ mg CaCO}_3$ pro $\text{mg NH}_4^+\text{-N}$ ab. Während der heterotrophen Denitrifikation steigt die Alkalinität um $3,57 \text{ mg CaCO}_3$ pro $\text{mg NH}_4^+\text{-N}$ (van Rijn et al. 2006). Aufgrund der stöchiometrischen Berechnung kann eine Einsparung von Alkalinitätszusätzen von 50% erwartet werden. Wie in Kapitel 8.6.5 dargestellt, konnte dieses Einsparpotential auch in diesem Projekt beobachtet und nachgewiesen werden.

8.8.5 Kosten für die Kohlenstoffquelle

Für die Berechnungen wird davon ausgegangen, dass Methanol als Kohlenstoffquelle genutzt wird, da dies eine gängige Kohlenstoffquelle in Denitrifikationsreaktoren ist. Da der Methanolpreis von der Abnahmemenge und dem Lieferanten abhängig ist, können die Kosten an dieser Stelle stark schwanken. Für die Berechnung wird ein Methanolpreis von 1,13 € pro kg zu Grunde gelegt. Um 1 kg NO_3^- -N zu reduzieren werden 2,3 kg Methanol benötigt (Kapitel 8.2.4.6).

Folglich:

Um 1,043 kg NO_3^- -N resultierend aus 22,5 kg Futter zu reduzieren werden 2,399 kg MeOH benötigt

Bzw.

Um 0,0464 kg NO_3^- -N resultierend aus 1 kg Futter zu reduzieren werden 0,107 kg MeOH benötigt

8.8.6 Zusammenfassende Kostenkalkulation

Bei der in diesem Projekt genutzten geschlossenen Kreislaufanlage muss pro eingesetztem Kilogramm Futter 888 L Anlagenwasser entweder durch einen Wasserwechsel ausgetauscht werden oder durch den SID-Reaktor behandelt werden, um die daraus resultierende Nitratlast zu neutralisieren. Bei einem Wasserwechsel würden Kosten von 3,88 € und bei dem Einsatz eines SID-Reaktors von 0,30 € pro Kilogramm eingesetztem Futter entstehen (Tabelle 18).

Es sei jedoch anzumerken, dass bei den angenommenen 22,5 kg Futter bei der genutzten Anlage der GMA mbH von 40 m³ ein Wasserwechsel von 20 000 L d⁻¹ (20 m³ d⁻¹) einer täglichen Austauschrate von 50% entspräche. Diese Austauschraten sind für Kreislaufanlagen nicht repräsentativ und entsprechen eher einem Durchflusssystem. Nimmt man für kommerzielle Kreislaufanlagen eine tägliche Wasseraustauschrate von 10% an, ergibt sich ein Frischwasserbedarf von 4000 L für 22,5 kg eingesetztes Futter bzw. 178 L für 1 kg eingesetztes Futter. Berechnet man die Kosten aus Tabelle 18 für einen Wasserwechsel von 178 L pro eingesetztes kg Futter ergeben sich Kosten von 0,78 €. Bei einer Wasseraustauschrate von 10% werden jedoch deutlich höhere Nitratkonzentrationen im Haltungswasser erwartet, die das grundlegende Problem der geringen Wasseraustauschraten in RAS darstellen.

Tabelle 18: Kosten verbunden mit einem Wasserwechsel bzw. Denitrifikationskosten basierend auf dem Einsatz von 1 kg Futtermittel.

Kostenpunkt	Kosten pro eingesetztem kg Futter			
	Wasserwechsel		SID-Reaktor	
Frischwasser ⁷	889 L x 0,71 € m ⁻³	0,63 €	-	-
Abwasserkosten ⁸	889 L x 1,91 € m ⁻³	1,70 €	-	-
Energiekosten ⁹	10,3 kWh x 0,15 € kWh ⁻¹	1,55 €	0,22 kWh x 0,15 € kWh ⁻¹	0,03 € (pro Tag)
Alkalinitätszusätze	100%		50%	
Kohlenstoffquelle	-	-	0,107 kg MeOH x 1,13 € kg ⁻¹	0,12 €
Zusätzliche Personalkosten (Wartung etc.)	-	-	0,01 h x 15 € h ⁻¹	0,15 €
Summe		3,88 €		0,30 €

Generell ist der Einsatz des SID-Reaktors unter Berücksichtigung der laufenden Kosten als wirtschaftlich rentabel anzusehen. Um das tatsächliche Kosteneinsparpotential durch einen SID-Reaktor zu ermitteln, wird jedoch empfohlen eine detaillierte Kosten-Nutzen-Analyse unter der Berücksichtigung der kultivierten Fischart, aller am jeweiligen Standort kritischen Faktoren und Anschaffungskosten durchzuführen.

Ob der Einsatz des SID-Reaktors ökonomisch rentabel ist wird maßgeblich von zwei Faktoren abhängig sein. Zum einen können die vorherrschenden Auflagen bezüglich der Nitratkonzentration im Abwasser der Kreislaufanlage ein Denitrifikationssystem erforderlich machen. Zum anderen definiert die kultivierte Fischart die tolerierbaren Nitratkonzentrationen in der Anlage. Sollte die Fischart besonders Nitrat tolerant sein, sodass die akkumulierte Nitratkonzentration keine negativen Effekte auf relevante Parameter wie z.B. Wachstum, Gesundheit, Futtermittelverwertung und Filet-Qualität zeigt, kann der Einsatz eines Denitrifikationssystems und aller damit verbundenen Kosten (Anschaffungskosten, laufende Kosten, Instandhaltung, etc.) wirtschaftlich nicht rentabel sein. Da der SID-Reaktor sich abgesehen von der Nitrat Reduktion auch weitere Faktoren (Einsparung von Alkalinitätssupplementen, Reduktion der Bakterienlast im Haltungswasser, Reduktion von Off-Flavour im Fischfilet) positiv auswirkt kann der Betrieb einer Denitrifikationseinheit auch bei Nitrat toleranten Arten rentabel sein. Ist die kultivierte Fischart hingegen empfindlich gegenüber Nitrat würde durch Produktionseinbußen und aus Sicht der Tiergesundheit ein Denitrifikationssystem erforderlich und wirtschaftlich rentabel sein.

⁷ Kosten für Frischwasser sind der Allgemeinen Trinkwasserversorgungsbedingungen (ATVB) des Wasserverbandes Norderdithmarschen entnommen. Für die Berechnung wurde allein der Wasserpreis berücksichtigt. Der Anschlussgrundpreis und der Zählergrundpreis sind nicht berücksichtigt.

⁸ Kosten für Abwasser sind dem "Preisblatt - Schmutzwasserbeseitigung in der Gemeinde Büsum" entnommen. Für die Berechnung wurde allein der Zusatzpreis (Arbeitspreis) berücksichtigt. Der Abwassergrundpreis ist nicht berücksichtigt.

⁹ Stromkosten sind der "Machbarkeitsstudie zur Verwendung von salzhaltigem Grundwasser für die kreislaufbasierte Aquakultur in Schleswig-Holstein" entnommen (Weirup et al. 2019).

9 Berichtswesen und Veröffentlichungen

Während dieser Arbeit wurde ein hoher Grad an Wissenstransfer angestrebt. Durch Publikationen, Präsentationen auf nationalen und internationalen Konferenzen und Informationsveranstaltungen wurden die Ergebnisse dieses Projektes Fachleuten, der interessierten Öffentlichkeit und potentiellen Käufern des SID-Reaktor zugänglich gemacht. Neben den wissenschaftlichen Ergebnissen garantierte der enge Kontakt zu Produzenten, Forschungseinrichtungen, kommerziellen Sea Life-Zentren und die enge Zusammenarbeit zwischen der GMA mbH und der Spranger-Kunststoffe GmbH (Projektpartner und Hersteller des SID-Reaktors) eine praxisorientierte Durchführung des gesamten Projekts. Aufgrund dieses engen Kontakts und der Unterweisung der Kunden vor Ort wurde ein SID-Reaktor-Handbuch verfasst (Anzufragen bei Spranger-Kunststoffe GmbH). Das Handbuch beinhaltet allgemeine Informationen zur SID-Reaktor-Technik und zum biologischen Hintergrund, sowie Erläuterungen zu der Handhabung des Startvorgangs, den Einfluss der Betriebsparameter, die Wartung und die Fehlerbehebung. Der stetige Wissensgewinn durch Experimente und das Feedback der Kunden tragen zur ständigen Verbesserung des Handbuchs bei.

Die Projektergebnisse sind bislang in zwei Publikationen veröffentlicht (dritte Publikation im Review Prozess), in 14 Fachvorträgen auf nationalen und internationalen Seminaren und Konferenzen präsentiert. Des Weiteren wurde der SID-Reaktor und Forschungsergebnisse aus dem Projekt auf drei internationalen Fachmessen präsentiert. Zudem wurden im Rahmen des Projektes eine Projektierungsarbeit, zwei Bachelorarbeiten, eine Masterarbeit, eine Dissertation und ein Handbuch angefertigt.

Publikationen:

Torno, J., Einwächter, V., Schroeder, J. P., & Schulz, C. (2018). Nitrate has a low impact on performance parameters and health status of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in RAS. *Aquaculture*, 489, 21-27.

Torno, J., Naas, C., Schroeder, J. P., & Schulz, C. (2018). Impact of hydraulic retention time, backflushing intervals, and C/N ratio on the SID-reactor denitrification performance in marine RAS. *Aquaculture*, 496, 112-122.

Fachvorträge:

August 2018, Deutscher Fischereitag, Lübeck
Neue Erkenntnisse aus der Forschungseinrichtung GMA Büsum für die Aquakultur-Praxis

Oktober 2017, Aquaculture Europe, Dubrovnik
Application of biodegradable plastics in a new biological denitrification-reactor for an efficient and save use in RAS

Oktober 2017, NordicRAS, Aalborg
Replacement of methanol by biodegradable polyhydroxyalkanoate (PHA) plastics in a new biological denitrification-reactor for an efficient and safe use in recirculating aquaculture systems

Juni 2017, 8. Büsumer Fischtage, Büsum
Denitrifikation in geschlossenen Kreislaufanlagen - so einfach und sicher wie Nitrifikation?

Februar 2017, 5. Fischforum Schweiz, Lindau
Möglichkeiten zum optimierten Nitratabbau in einem Moving-bed-Denitrifikationsreaktor

Januar 2017, Seminar zur aktuellen Forschung, Kiel
Optimization of a Self-cleaning Inertgas Denitrification Reactor (SID-Reactor) for marine aquaculture

Juli 2016, ISOS-Course, Büsum
Optimization of a Self-cleaning Inertgas Denitrification Reactor (SID-Reactor) for marine aquaculture

Juni 2016, 7. Büsumer Fischtage, Büsum
Möglichkeiten zum optimierten Nitratabbau in einem Moving-bed-Denitrifikationsreaktor

Februar 2016, Fish International, Bremen
Optimierung eines Selbstreinigenden-Innertgas-Denitrifikations-Reaktors für die marine Aquakultur

Januar 2016, Seminar zur aktuellen Forschung, Kiel
Optimization of a Self-cleaning Inertgas Denitrification Reactor - SID Reactor

Oktober 2015, Aquaculture Europe, Rotterdam
Evaluation of a new biological Denitrification-Reactor for an efficient and save use in marine Recirculating Aquaculture Systems (RAS)

Juni 2015, 6. Büsumer Fischtag, Büsum
Vortrag; Einsatz eines Moving-bed-Denitrifikationsreaktors zur Nitrat-Elimination in marinen Aquakultur-Kreislaufsystemen

November 2014, Seminar zur aktuellen Forschung, Kiel
Optimization of a new biological denitrification-reactor for efficient and save use in marine Recirculating Aquaculture Systems (RAS)

September 2013, Internationale Flusskrebstagung, Schleiden-Gemünd
Effektive Aufzucht von Edelkrebssömmerlingen zur Verkürzung der Speisekrebsproduktion

Fachmessen:

Oktober 2017, Aquaculture Europe, Dubrovnik

September 2016, Aquaculture Europe, Edinburgh

Oktober 2015, Aquaculture Europe, Rotterdam

Abschlussarbeiten:

Torno, J. (2018). Innovations for nitrate removal in recirculating aquaculture systems. Dissertation, Christian-Albrecht-Universität zu Kiel, urn:nbn:de:gbv:8-diss-241058

Strauß, P. (2018). Einsatz und Dosierung von Acetol-20 als Kohlenstoffquelle im Selbstreinigenden-Innertgas-Denitrifikations-Reaktor. Bachelorarbeit, Hochschule Bremerhaven.

Einwächter, V. (2015). Der Einfluss von Nitrat auf Wachstums- und Gesundheitsparameter beim europäischen Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*). Bachelorarbeit, Hochschule Bremerhaven.

Naas, C. (2016). Effects of varying biocarrier circulation intervals and methanol dosages on the denitrification performance of a SID-Reactor. Masterarbeit, Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow.

10 Abschließende Beurteilung des Projektes

Die Integration des **Selbstreinigenden-Innertgas-Denitrifikations-Reaktors** (SID-Reaktor) in eine bestehende geschlossene Kreislaufanlage konnte ohne Probleme durchgeführt werden. Die Umstellung des SID-Reaktors von aeroben auf anoxischen Betrieb konnte innerhalb von wenigen Tagen realisiert werden. Ferner konnte durch die Evaluierung optimaler Betriebsparameter ein wartungs- und betreuungsarmer Betrieb des Reaktors erarbeitet werden, sodass ein kontinuierlicher Betrieb des Reaktors stattfinden konnte und zu anhaltender Nitratreduktion im System führte.

Die mikrobiologischen Untersuchungen zeigten, dass sich eine stabile Bakterienpopulation im SID-Reaktor höchstwahrscheinlich bedingt durch die experimentellen Änderungen an der Betriebsweise des Reaktors nicht eingestellt hat. Es scheint jedoch dass insbesondere die vorherrschende diverse Bakteriengemeinschaft es ermöglichte, dass die Denitrifikationsprozesse trotz sich ändernder Betriebsparameter stabil und kontinuierlich stattfinden konnten. Das Monitoring der Bakterienaktivität konnte zeigen, dass der SID-Reaktor die Bakterienaktivität und somit schlussfolgernd auch die Bakterienbelastung im Haltungswasser reduziert.

Der Einsatz von Methanol hat sich, wie schon in anderen Studien gezeigt, als geeignet für den Betrieb einer Denitrifikationsstufe erwiesen. Methanol kann jedoch auch Risiken für Fische und Anlagenbetreiber mit sich bringen. Um den Einsatz des SID-Reaktors auf den letzten Stand der Forschung zu bringen, wurde ein ungefährlicher, biologisch abbaubarer Kunststoff als geeignete Kohlenstoffquelle und als Aufwuchskörper eingesetzt. Auch wenn die Denitrifikationseffizienz beim PHA im Vergleich zum Methanol betriebenen SID-Reaktor geringer war, zeigte der Einsatz von PHA erhebliche Vorteile, die als richtungsweisend für die Zukunft zu bewerten sind.

Durch die enge Zusammenarbeit der GMA mbH als Forschungseinrichtung und Kunststoff-Spranger GmbH als wirtschaftlicher Kooperationspartner war eine zielgerichtete und praxisorientierte Durchführung des Projektes möglich. Die errungenen Erkenntnisse und der technologische Zugewinn konnte durch Publikationen, zahlreiche Fachvorträge, universitäre Abschlussarbeiten und auf Fachmessen der breiten Öffentlichkeit und insbesondere Betreibern von Aquakultur Kreislaufanlagen zugänglich gemacht werden.

11 Literaturverzeichnis

- ABOUTBOUL, Y.; ARVIV, R.; VAN RIJN, J. (1995). *Anaerobic treatment of intensive fish culture effluents: volatile fatty acid mediated denitrification*. *Aquaculture* 133(1):21–32.
- ADAMS, S. M.; CRUMBY, W. D.; GREELEY, M. S.; RYON, M. G.; SCHILLING, E. M. (1992). *Relationships between physiological and fish population responses in a contaminated stream*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11(11):1549–1557.
- ADDY, K.; GOLD, A. J.; CHRISTIANSON, L. E.; DAVID, M. B.; SCHIPPER, L. A.; RATIGAN, N. A. (2016). *Denitrifying Bioreactors for Nitrate Removal: A Meta-Analysis*. *Journal of Environment Quality* 45(3):873.
- ALGERS, B.; BLOKHUIS, H. J.; BØTNER, A.; BROOM, D. M.; COSTA, P.; DOMINGO, M.; GREINER, M.; GUÉMENE, D.; HARTUNG, J.; KOENEN, F.; MÜLLER-GRAF, C.; MORTON, D. B.; OSTERHAUS, A.; PFEIFFER, D. U.; RAJ, M.; ROBERTS, R.; SANAN, M.; SHARP, J. M.; VANNIER, P.; WIERUP, M. (2008). *Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Welfare on a request from the European Commission on animal welfare aspects of husbandry systems for farmed European seabass and Gilthead seabream*. *The EFSA Journal* 844(October):1–21.
- ALI, I.; JAMIL, N. (2016). *Polyhydroxyalkanoates: Current applications in the medical field*. *Frontiers in Biology* 11(1):19–27.
- ALONSO, C.; SUIDAN, M. T.; SORIAL, G. A.; LEE SMITH, F.; BISWAS, P.; SMITH, P. J.; BRENNER, R. C. (1997). *Gas Treatment in Trickle-Bed Biofilters: Biomass, How Much Is Enough?*. *Biotechnology and Bioengineering* 54(6):583–594.
- ARBIV, R.; VAN RIJN, J. (1995). *Performance of a treatment system for inorganic nitrogen removal in intensive aquaculture systems*. *Aquacultural Engineering* 14(2):189–203.
- BADIOLA, M.; MENDIOLA, D.; BOSTOCK, J. (2012). *Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges*. *Aquacultural Engineering* 51:26–35.
- BAGNI, M. (2005). *Cultured Aquatic Species Information Programme. Dicentrarchus labrax*.
- BATH, R. N.; EDDY, F. B. (1980). *Transport of Nitrite Across Fish Gills*. *Journal of Experimental Zoology* 214(1):119–121.
- BERGMANN, M.; GUTOW, L.; KLAGES, M., editors. (2015). *Marine Anthropogenic Litter*. Springer International Publishing, Cham.
- BLANCHETON, J. P. (2000). *Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species*. *Aquacultural Engineering* 22(1–2):17–31.
- BOLEY, A.; MÜLLER, W.-R.; HAIDER, G. (2000). *Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems*. *Aquacultural Engineering* 22(1–2):75–85.
- BREGBALLE, J. (2015). *A Guide to Recirculation Aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations & Eurofish:100.
- BUSCAINO, G.; FILICOTTO, F.; BUFFA, G.; BELLANTE, A.; STEFANO, V. DI; ASSENZA, A.; FAZIO, F.; CAOLA, G.; MAZZOLA, S. (2010). *Impact of an acoustic stimulus on the motility and blood parameters of European sea bass (Dicentrarchus labrax L.) and gilthead sea bream (Sparus aurata L.)*. *Marine Environmental Research* 69(3):136–142.
- VAN BUSSEL, C. G. J.; SCHROEDER, J. P.; WUERTZ, S.; SCHULZ, C. (2012). *The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (Psetta maxima)*. *Aquaculture* 326–329:163–167.
- CAMARGO, J. A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. (2005). *Nitrate toxicity to aquatic animals: a review*

- with new data for freshwater invertebrates*. *Chemosphere* 58(9):1255–1267.
- CHAUDHARY, D. S.; VIGNESWARAN, S.; NGO, H.-H.; SHIM, W. G.; MOON, H. (2003). *Biofilter in water and wastewater treatment*. *Korean Journal of Chemical Engineering* 20(6):1054–1065.
- CHEN, G.-Q.; WU, Q. (2005). *The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials*. *Biomaterials* 26(33):6565–6578.
- CHEREMISINOFF, P. N. (1995). *Waste minimization and cost reduction for the process industries*. Elsevier.
- CHRISTIANSON, L. E.; SCHIPPER, L. A. (2016). *Moving Denitrifying Bioreactors beyond Proof of Concept: Introduction to the Special Section*. *Journal of Environmental Quality* 45:757–761.
- CHRISTIANSON, L.; LEPINE, C.; TSUKUDA, S.; SAITO, K.; SUMMERFELT, S. (2015). *Nitrate removal effectiveness of fluidized sulfur-based autotrophic denitrification biofilters for recirculating aquaculture systems*. *Aquacultural Engineering* 68:10–18.
- CHU, L.; WANG, J. (2011a). *Nitrogen removal using biodegradable polymers as carbon source and biofilm carriers in a moving bed biofilm reactor*. *Chemical Engineering Journal* 170(1):220–225.
- CHU, L.; WANG, J. (2011b). *Comparison of polyurethane foam and biodegradable polymer as carriers in moving bed biofilm reactor for treating wastewater with a low C/N ratio*. *Chemosphere* 83(1):63–68.
- CHU, L.; WANG, J. (2013). *Denitrification performance and biofilm characteristics using biodegradable polymers PCL as carriers and carbon source*. *Chemosphere* 91(9):1310–1316.
- CHU, L.; WANG, J. (2016a). *Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity*. *Chemosphere* 155:463–470.
- CHU, L.; WANG, J. (2016b). *Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity*. *Chemosphere* 155:463–470.
- CLAIREAUX, G.; COUTURIER, C.; GROISON, A.-L. (2006). *Effect of temperature on maximum swimming speed and cost of transport in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)*. *Journal of Experimental Biology* 209(17):3420–3428.
- CLIFFORD, D.; LIU, X. (1993). *Biological denitrification of spent regenerant brine using a sequencing batch reactor*. *Water Research* 27(9):1477–1484.
- CONIDES, A. J.; GLAMUZINA, B. (2006). *Laboratory simulation of the effects of environmental salinity on acclimation, feeding and growth of wild-caught juveniles of European sea bass *Dicentrarchus labrax* and gilthead sea bream, *Sparus aurata**. *Aquaculture* 256(1–4):235–245.
- DALSGAARD, J.; LUND, I.; THORARINSDOTTIR, R.; DRENGSTIG, A.; ARVONEN, K.; PEDERSEN, P. B. (2013). *Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives*. *Aquacultural Engineering* 53:2–13.
- DAVIDSON, J.; GOOD, C.; WELSH, C.; SUMMERFELT, S. T. (2014). *Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems*. *Aquacultural Engineering* 59:30–40.
- DAVIDSON, J.; GOOD, C.; WILLIAMS, C.; SUMMERFELT, S. T. (2017). *Evaluating the chronic effects of nitrate on the health and performance of post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* in freshwater recirculation aquaculture systems*. *Aquacultural Engineering* 79(May):1–8.
- DOSDAT, A.; PERSON-LE RUYET, J.; COVÈS, D.; DUTTO, G.; GASSET, E.; LE ROUX, A.; LEMARIÉ, G. (2003). *Effect of chronic exposure to ammonia on growth, food utilisation and metabolism of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)*. *Aquatic Living Resources* 16(6):509–520.
- DRTEL, M.; NÉMETH, P.; BUDAY, J.; BODÍK, I.; HUTŇAN, M. (1999). *Regulation of Denitrification Using Continually Measured ORP and pH Signal*. *Chem. Papers* 53(1):75–81.
- DÜLGER, N.; KUMLU, M.; TÜRKMEN, S.; ÖLÇÜLÜ, A.; TUFAN EROLDUĞAN, O.; ASUMAN YILMAZ, H.;

- ÖÇAL, N. (2012). *Thermal tolerance of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles acclimated to three temperature levels*. Journal of Thermal Biology 37(1):79–82.
- EATON, R. W.; SANDUSKY, P. (2009). *Biotransformations of 2-Methylisoborneol by Camphor-Degrading Bacteria* □ 75(3):583–588.
- EDING, E. H.; KAMSTRA, A.; VERRETH, J. A. J.; HUISMAN, E. A.; KLAPWIJK, A. (2006). *Design and operation of nitrifying trickling filters in recirculating aquaculture: A review*. Aquacultural Engineering 34(3):234–260.
- EINEN, O.; THOMASSEN, M. S. (1998). *Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*)*. Aquaculture 169(1–2):37–53.
- ELHADI, S. L. N.; HUCK, P. M.; SLAWSON, R. M. (2004). *Removal of geosmin and 2-methylisoborneol by biological filtration*. Water Science and Technology 49(9):273–280.
- EROLDOĞAN, O. T.; KUMLU, M. (2002). *Growth Performance, Body Traits and Fillet Composition of the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Reared in Various Salinities and Fresh Water*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 26(5):993–1001.
- EROLDOĞAN, O. T.; KUMLU, M.; AKTAŞ, M. (2004). *Optimum feeding rates for European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. reared in seawater and freshwater*. Aquaculture 231(1–4):501–515.
- FREITAG, A. R.; THAYER, L. R.; LEONETTI, C.; STAPLETON, H. M.; HAMLIN, H. J. (2015). *Effects of elevated nitrate on endocrine function in Atlantic salmon, *Salmo salar**. Aquaculture 436:8–12.
- GELFAND, I.; BARAK, Y.; EVEN-CHEN, Z.; CYTRYN, E.; VAN RIJN, J.; KROM, M. D.; NEORI, A. (2003). *A novel zero discharge intensive Seawater recirculating system for the culture of marine fish*. Journal of the World Aquaculture Society 34(3):344–358.
- GESAMP. (2015). *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment*. Page Kershaw, P.J., ed. Rep. Stud. GESAMP No. 90, 96 p.
- GOOD, C.; DAVIDSON, J.; IWANOWICZ, L.; MEYER, M.; DIETZE, J.; KOLPIN, D. W.; MARANCIK, D.; BIRKETT, J.; WILLIAMS, C.; SUMMERFELT, S. (2017). *Investigating the influence of nitrate nitrogen on post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* reproductive physiology in freshwater recirculation aquaculture systems*. Aquacultural Engineering 78:2–8.
- GRIESS, P. (1879). *Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Weselsky und Benedikt "Ueber einige Azoverbindungen"*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 12(1):426–428.
- GROSELL, M.; JENSEN, F. B. (1999). *NO₂-uptake and HCO₃-excretion in the intestine of the European flounder (*Platichthys flesus*)*. The Journal of Experimental Biology 202(Pt 15):2103–2110.
- GUO, Y.; GUO, L.; SUN, M.; ZHAO, Y.; GAO, M.; SHE, Z. (2017). *Effects of hydraulic retention time (HRT) on denitrification using waste activated sludge thermal hydrolysis liquid and acidogenic liquid as carbon sources*. Bioresource Technology 224:147–156.
- GUTIERREZ-WING, M. T.; MALONE, R. F.; RUSCH, K. A. (2012). *Evaluation of polyhydroxybutyrate as a carbon source for recirculating aquaculture water denitrification*. Aquacultural Engineering 51:36–43.
- HAMLIN, H. J.; MICHAELS, J. T.; BEAULATON, C. M.; GRAHAM, W. F.; DUTT, W.; STEINBACH, P.; LOSORDO, T. M.; SCHRADER, K. K.; MAIN, K. L. (2008a). *Comparing denitrification rates and carbon sources in commercial scale upflow denitrification biological filters in aquaculture*. Aquacultural Engineering 38(2):79–92.
- HAMLIN, H. J.; MOORE, B. C.; EDWARDS, T. M.; LARKIN, I. L. V.; BOGGS, A.; HIGH, W. J.; MAIN, K. L.; GUILLETTE, L. J. (2008b). *Nitrate-induced elevations in circulating sex steroid concentrations in female Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) in commercial aquaculture*. Aquaculture 281(1–4):118–125.
- HEALY, M. G.; BARRETT, M.; LANIGAN, G. J.; JOÃO SERRENHO, A.; IBRAHIM, T. G.; THORNTON, S.

- F.; ROLFE, S. A.; HUANG, W. E.; FENTON, O. (2015). *Optimizing nitrate removal and evaluating pollution swapping trade-offs from laboratory denitrification bioreactors*. Ecological Engineering 74:290–301.
- HICKEY, C. . W.; MARTIN, M. L. (2009). *A review of nitrate toxicity to freshwater aquatic species*. Page Environment Canterbury.
- HIRAISHI, A.; KHAN, S. T. (2003). *Application of polyhydroxyalkanoates for denitrification in water and wastewater treatment*. Applied Microbiology and Biotechnology 61(2):103–109.
- HO, L.; HOEFEL, D.; BOCK, F.; SAINT, C. P. (2007). *Biodegradation rates of 2-methylisoborneol (MIB) and geosmin through sand filters and in bioreactors* 66:2210–2218.
- HOZALSKI, R. M.; BOUWER, E. J. (1998). *Deposition and retention of bacteria in backwashed filters: Biomass accumulation in laboratory-scale filters is not impaired by backwash with water alone*. American Water Works Association 90(1):71–85.
- JENSEN, F. B. (1995). *Uptake and effects of nitrite and nitrate in animals*Jensen, F.B., 1995. *Uptake and effects of nitrite and nitrate in animals*. Nitrogen Metab. Excretion. CRC Press. Boca Rat. 289–303.. Nitrogen Metabolism and Excretion. CRC Press, Boca Raton:289–303.
- JENSEN, M. K.; MADSEN, S. S.; KRISTIANSEN, K. (1998). *Osmoregulation and Salinity Effects on the Expression and Activity of Na + ,K + -ATPase in the Gills of European Sea Bass, Dicentrarchuslabrax (L.)*. THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL ZOOLOGY 282:290–300.
- KADLEC, R.; WALLACE, S. (2008). *Treatment Wetlands, Second Edition*second edi. CRC Press.
- KAMSTRA, A.; BLOM, E.; TERJESEN, B. F. (2017). *Mixing and scale affect moving bed biofilm reactor (MBBR) performance*. Aquacultural Engineering 78:9–17.
- KAMSTRA, A.; VAN DER HEUL, J. .; NIJHOF, M. (1998). *Performance and optimisation of trickling filters on eel farms*. Aquacultural Engineering 17(3):175–192.
- KAVIRAJ, A.; BHUNIA, F.; SAHA, N. C. (2004). *Toxicity of Methanol to Fish, Crustacean, Oligochaete Worm, and Aquatic Ecosystem*. International Journal of Toxicology 23(1):55–63.
- KESSLER, B.; WEUSTHUIS, R.; WITHOLT, B.; EGGINK, G. (2001). *Production of Microbial Polyesters: Fermentation and Downstream Processes*. Pages 159–182 Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology.
- KINCHELOE, J. W.; WEDEMEYER, G. A.; KOCH, D. L. (1979). *Tolerance of developing salmonid eggs and fry to nitrate exposure*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 23(1):575–578.
- KLAS, S.; MOZES, N.; LAHAV, O. (2006). *Development of a single-sludge denitrification method for nitrate removal from RAS effluents: Lab-scale results vs. model prediction*. Aquaculture 259(1–4):342–353.
- KLATT, S. F. (2012). “ *Influence of nitrate and ozone on activity of nitrifying bacteria in marine recirculating aquaculture systems .*”
- KROUPOVA, H.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. (2005). *Nitrite influence on fish: a review*. Veterinarni Medicina 50(11):461–471.
- LAMPE, D. G.; ZHANG, T. C. (1996). *Evaluation of Sulfur-Based Autotrophic Denitrification*.
- LEARMONTH, C.; CARVALHO, A. P. (2015). *Acute and Chronic Toxicity of Nitrate to Early Life Stages of Zebrafish-Setting Nitrate Safety Levels for Zebrafish Rearing.. Zebrafish* 0(0):305–11.
- LEE, P. G.; LEA, R. N.; DOHMANN, E.; PREBILSKY, W.; TURK, P. E.; YING, H.; WHITSON, J. L. (2000). *Denitrification in aquaculture systems: an example of a fuzzy logic control problem*. Aquacultural Engineering 23:37–59.
- LEKANG, O.-I. (2013). *Aquaculture Engineering - Second Edition*.
- LEMARIÉ, G.; DOSDAT, A.; COVÈS, D.; DUTTO, G.; GASSET, E.; PERSON-LE RUYET, J. (2004). *Effect*

- of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (Dicentrarchus labrax) juveniles.* Aquaculture 229(1–4):479–491.
- LEMARIÉ, G.; TOFTEN, H. (2002). *Water quality, feed intake and growth in European seabass (Dicentrarchus labrax L.) in relation to water renewal rate.* Page Programkonferanse havbruk og villaks, Norwegian Research Council, September 16–18 2002, Tromsø, Norway.
- LEPINE, C.; CHRISTIANSON, L.; SHARRER, K.; SUMMERFELT, S. (2016). *Optimizing Hydraulic Retention Times in Denitrifying Woodchip Bioreactors Treating Recirculating Aquaculture System Wastewater.* Journal of Environment Quality 45(3):813.
- LETELIER-GORDO, C. O.; PEDERSEN, P. B.; DALSGAARD, A. J. T. (2017). *Transforming waste into new resources: optimizing sludge hydrolysis to improve nitrogen removal in aquaculture through denitrification.*
- LEVIT, S. M. (2010). *A Literature Review of Effects of Ammonia on Fish.* The Nature Conservancy, Montana:1–10.
- LI, P.; ZUO, J.; WANG, Y.; ZHAO, J.; TANG, L.; LI, Z. (2016a). *Tertiary nitrogen removal for municipal wastewater using a solid-phase denitrifying biofilter with polycaprolactone as the carbon source and filtration medium.* Water Research 93:74–83.
- LI, Z.; YANG, J.; LOH, X. J. (2016b). *Polyhydroxyalkanoates: opening doors for a sustainable future.* NPG Asia Materials 8(4):e265–e265.
- LIU, Y.; XU, H.-L.; YANG, S.-F.; TAY, J.-H. (2003). *Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor.* Water Research 37(3):661–673.
- LUSHER, A. L.; HOLLMAN, P. C. H.; MENDOZA-HILL, J. J. (2017). *Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety.* Page FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper.
- MARA, D.; HORAN, N.; WONG, C. H.; BARTON, G. W.; BARFOR, J. P. (2003). *Handbook of Water and Wastewater Microbiology.* Elsevier.
- MARINO, G.; CATALDI, E.; PUCCI, P.; BRONZI, P.; CATAUDELLA, S. (1994). *Acclimation trials of wild and hatchery sea bass (Dicentrarchus labrax) fry at different salinities.* Journal of Applied Ichthyology 10(1):57–63.
- MARTINS, C. I. M.; EDING, E. H.; VERDEGEM, M. C. J.; HEINSBROEK, L. T. N.; SCHNEIDER, O.; BLANCHETON, J. P.; D'ORBCASTEL, E. R.; VERRETH, J. A. J. (2010). *New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability.* Aquacultural Engineering 43(3):83–93.
- MCDOWALL, B.; HOEFEL, D.; NEWCOMBE, G.; SAINT, C. P.; HO, L. (2009). *Enhancing the biofiltration of geosmin by seeding sand filter columns with a consortium of geosmin-degrading bacteria.* Water Research 43(2):433–440.
- MCGURK, M. D.; LANDRY, F.; TANG, A.; HANKS, C. C. (2006). *Acute and chronic toxicity of nitrate to early life stages of lake trout (Salvelinus namaycush) and lake whitefish (Coregonus clupeaformis).* Environmental Toxicology and Chemistry 25(8):2187–2196.
- MCMILLAN, J. D.; WHEATON, F. W.; HOCHHEIMER, J. N.; SOARES, J. (2003). *Pumping effect on particle sizes in a recirculating aquaculture system.* Aquacultural Engineering 27(1):53–59.
- MÉTRIS, A.; GEORGE, S. M.; PECK, M. W.; BARANYI, J. (2003). *Distribution of turbidity detection times produced by single cell-generated bacterial populations.* Journal of microbiological methods 55(3):821–7.
- MICHAUD, L.; BLANCHETON, J. P.; BRUNI, V.; PIEDRAHITA, R. (2006). *Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters.* Aquacultural Engineering 34(3):224–233.
- MORETTI, A.; FERNANDEZ-CRIADO, M. P.; CITTOLIN, G.; RUGGERO GUIDASTRI. (1999a). *Manual on*

- Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, Volume 1.* Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- MORETTI, A.; FERNANDEZ-CRIADO, M. P.; CITTOLIN, G.; RUGGERO GUIDASTRI. (1999b). *Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, Volume 2.* Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- MÜLLER-BELECKE, A.; SPRANGER, U. (2014). *Verfahren zum biologischen Nitratabbau in Flüssigkeiten.* Deutsche Patent- und Markenamt, DE.
- MÜLLER-BELECKE, A.; ZIENERT, S.; THÜRMER, C.; KAUFHOLD, S.; SPRANGER, U. (2013). *The “self cleaning inherent gas denitrification-reactor” for nitrate elimination in RAS for pike perch (*Sander lucioperca*) production.* *Aquacultural Engineering* 57:18–23.
- OH, J.; SILVERSTEIN, J. (1999). *Oxygen inhibition of activated sludge denitrification.* *Water Research* 33(8):1925–1937.
- OH, S. E.; YOO, Y. B.; YOUNG, J. C.; KIM, I. S. (2001). *Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions.* *Journal of Biotechnology* 92(1):1–8.
- PALLER, M. H.; LEWIS, W. M. (1982). *Reciprocating biofilter for water reuse in aquaculture.* *Aquacultural Engineering* 1(2):139–151.
- PENG, S.-W.; GUO, X.-Y.; SHANG, G.-G.; LI, J.; XU, X.-Y.; YOU, M.-L.; LI, P.; CHEN, G.-Q. (2011). *An assessment of the risks of carcinogenicity associated with polyhydroxyalkanoates through an analysis of DNA aneuploid and telomerase activity.* *Biomaterials* 32(10):2546–2555.
- PEREIRA, A.; CARVALHO, A. P.; CRUZ, C.; SARAIVA, A. (2017). *Histopathological changes and zootechnical performance in juvenile zebrafish (*Danio rerio*) under chronic exposure to nitrate.* *Aquaculture* 473:197–205.
- PERSON-LE RUYET, J.; MAHÉ, K.; LE BAYON, N.; LE DELLIU, H. (2004). *Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*.* *Aquaculture* 237(1–4):269–280.
- PHILLIPS, J. B.; LOVE, N. G. (1998). *Biological denitrification using upflow biofiltration in recirculating aquaculture systems: pilot-scale experience and implications for full-scale.* Pages 171–178 *The Second International Conference on Recirculating Aquaculture, Cooperative Extension/Sea Grant, Virginia Tech, Blacksburg, Virginia.*
- PICHAVANT, K.; PERSON-LE-RUYET, J.; LE BAYON, N.; SEVERE, A.; LE ROUX, A.; BOEUF, G. (2001). *Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European sea bass.* *Journal of Fish Biology* 59:875–883.
- PIERCE, R. H.; WEEKS, J. M.; PRAPPAS, J. M. (1993). *Nitrate Toxicity to Five Species of Marine Fish.* *Journal of the World Aquaculture Society* 24(1):105–107.
- PLÓSZ, B. G.; JOBBÁGY, A.; GRADY, C. P. L. (2003). *Factors influencing deterioration of denitrification by oxygen entering an anoxic reactor through the surface.* *Water Research* 37(4):853–863.
- RAKOCY, J. E.; MASSER, M. P.; LOSORDO, T. M. (2006). *Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics- integrating fish and plant culture..* SRAC publication - southern regional aquaculture center (454):16.
- RAZA, Z. A.; ABID, S.; BANAT, I. M. (2018). *Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications.* *International Biodeterioration & Biodegradation* 126:45–56.
- REISER, S.; WUERTZ, S.; SCHROEDER, J. P.; KLOAS, W.; HANEL, R. (2011). *Risks of seawater ozonation in recirculation aquaculture—Effects of oxidative stress on animal welfare of juvenile turbot (*Psetta maxima*, L.).* *Aquatic toxicology* 105(3–4):508–517.
- VAN RIJN, J.; BARAK, Y. (1998). *Denitrification in recirculating aquaculture systems: from*

- biochemistry to biofilters*. Pages 179–187 The Second International Conference on Recirculating Aquaculture, Cooperative Extension/Sea Grant, Virginia Tech, Blacksburg, Virginia.
- VAN RIJN, J.; RIVERA, G. (1990). *Aerobic and anaerobic biofiltration in an aquaculture unit—Nitrite accumulation as a result of nitrification and denitrification*. *Aquacultural Engineering* 9(4):217–234.
- VAN RIJN, J.; TAL, Y.; SCHREIER, H. J. (2006). *Denitrification in recirculating systems: Theory and applications*. *Aquacultural Engineering* 34(3):364–376.
- ROMANO, N.; ZENG, C. (2007). *Effects of potassium on nitrate mediated alterations of osmoregulation in marine crabs*. *Aquatic Toxicology* 85(3):202–208.
- ROMANO, N.; ZENG, C. (2009). *Evaluating the newly proposed protocol of incorporated potassium in nitrate toxicity experiments at different salinities: A case study with the tiger prawn, *Penaeus monodon*, juveniles*. *Aquaculture* 289(3–4):304–309.
- SAMMOUTH, S.; D'ORBCASTEL, E. R.; GASSET, E.; LEMARIÉ, G.; BREUIL, G.; MARINO, G.; COEURDACIER, J. L.; FIVELSTAD, S.; BLANCHETON, J. P. (2009). *The effect of density on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) performance in a tank-based recirculating system*. *Aquacultural Engineering* 40(2):72–78.
- SASTRY, B. N.; DELOSREYES, A. A.; RUSCH, K. A.; MALONE, R. F. (1999). *Nitrification performance of a bubble-washed bead filter for combined solids removal and biological filtration in a recirculating aquaculture system*. *Aquacultural Engineering* 19(2):105–117.
- SAUTHIER, N.; GRASMICK, A.; BLANCHETON, J. P. (1998). *Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system*. *Water Research* 32(6):1932–1938.
- SCHRAM, E.; ROQUES, J. A. . C.; ABBINK, W.; YOKOHAMA, Y.; SPANINGS, T.; DE VRIES, P.; BIERMAN, S.; VAN DE VIS, H.; FLIK, G. (2012). *The impact of elevated water nitrate concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822)*. *Aquaculture Research* 45(9):1–13.
- SCHRAM, E.; ROQUES, J. A. C.; VAN KUIJK, T.; ABBINK, W.; VAN DE HEUL, J.; DE VRIES, P.; BIERMAN, S.; VAN DE VIS, H.; FLIK, G. (2014). *The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pikeperch (*Sander lucioperca*)*. *Aquaculture* 420–421:95–104.
- SCHROEDER, J. P.; GÄRTNER, A.; WALLER, U.; HANEL, R. (2010). *The toxicity of ozone-produced oxidants to the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei**. *Aquaculture* 305(1–4):6–11.
- SCOTT, G.; CRUNKILTON, R. L. (2000). *Acute and chronic toxicity of nitrate to fathead minnows (*Pimephales promelas*), *Ceriodaphnia dubia*, and *Daphnia magna**. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19(12):2918–2922.
- SHEN, Z.; WANG, J. (2011). *Biological denitrification using cross-linked starch/PCL blends as solid carbon source and biofilm carrier*. *Bioresource Technology* 102(19):8835–8838.
- SHEN, Z.; ZHOU, Y.; HU, J.; WANG, J. (2013a). *Denitrification performance and microbial diversity in a packed-bed bioreactor using biodegradable polymer as carbon source and biofilm support*. *Journal of Hazardous Materials* 250–251(251):431–438.
- SHEN, Z.; ZHOU, Y.; WANG, J. (2013b). *Comparison of denitrification performance and microbial diversity using starch/polylactic acid blends and ethanol as electron donor for nitrate removal*. *Bioresource Technology* 131:33–39.
- SHIMURA, R.; IJIRI, K.; MIZUNO, R.; NAGAOKA, S. (2002). *Aquatic animal research in space station and its issues — focus on support technology on nitrate toxicity —*. *Advances in Space Research* 30(4):803–808.
- SHIMURA, R.; MA, Y. X.; IJIRI, K.; NAGAOKA, S.; UCHIYAMA, M. (2004). *Nitrate Toxicity on Visceral Organs of Medaka Fish, *Oryzias latipes*: Aiming to Raise Fish from Egg to Egg in Space*.

- Biological Sciences in Space 18(1):7–12.
- SHNEL, N.; BARAK, Y.; EZER, T.; DAFNI, Z.; VAN RIJN, J. (2002). *Design and performance of a zero-discharge tilapia recirculating system*. *Aquacultural Engineering* 26(3):191–203.
- SKIBA, U. (2008). *Denitrification*. Pages 866–871 *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier.
- STEINBÜCHEL, A. (1992). *Biodegradable plastics*. *Current Opinion in Biotechnology* 3(3):291–297.
- STORMER, J.; JENSEN, F. B.; RANKIN, J. C. (1996). *Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): effects on ionic balance*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53(9):1943–1950.
- SUHR, K. I.; PEDERSEN, P. B.; ARVIN, E. (2013). *End-of-pipe denitrification using RAS effluent waste streams: Effect of C/N-ratio and hydraulic retention time*. *Aquacultural Engineering* 53:57–64.
- SUMMERFELT, S. T. (2006). *Design and management of conventional fluidized-sand biofilters*. *Aquacultural Engineering* 34(3):275–302.
- TANDOI, V.; ROSSETTI, S.; WANNER, J. (2017). *Activated Sludge Separation Problems: Theory, Control Measures, Practical Experiences*. IWA.
- TAYLOR, M. L.; GWINNETT, C.; ROBINSON, L. F.; WOODALL, L. C. (2016). *Plastic microfibre ingestion by deep-sea organisms*. *Scientific Reports* 6(1):33997.
- THEIS, T. L.; HICKS, A. (2012). *Methanol Use in Wastewater Denitrification (white paper)*.
- THETMEYER, H.; WALLER, U.; BLACK, K. D.; INSELMANN, S.; ROSENTHAL, H. (1999). *Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions*. *Aquaculture* 174(3–4):355–367.
- TIMMERMANS, P.; VAN HAUTE, A. (1983). *Denitrification with methanol. Fundamental study of the growth and denitrification capacity of *Hyphomicrobium* sp.*. *Water Research* 17(10):1249–1255.
- TORNO, J.; EINWÄCHTER, V.; SCHROEDER, J. P.; SCHULZ, C. (2018). *Nitrate has a low impact on performance parameters and health status of on-growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) reared in RAS*. *Aquaculture* 489:21–27.
- TUCKER, C. S. (2000). *Off-Flavor Problems in Aquaculture*. *Reviews in Fisheries Science* 8(1):45–88.
- VECTESI, D.; KOTZAMANIS, I.; HENRY, M. A.; VATSOS, I. N. (2012). *Haematological and immunological responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to a short-term exposure to increased water levels of nitrate*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 11(2):430–439.
- WALLER, U.; BUHMANN, A. K.; ERNST, A.; HANKE, V.; KULAKOWSKI, A.; WECKER, B.; ORELLANA, J.; PAPENBROCK, J. (2015). *Integrated multi-trophic aquaculture in a zero-exchange recirculation aquaculture system for marine fish and hydroponic halophyte production*. *Aquaculture International* 23(6):1473–1489.
- WANG, J.; CHU, L. (2016). *Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-phase denitrification process*. *Biotechnology Advances* 34(6):1103–1112.
- WEIRUP, L.; DAMMSHÄUSER, A.; HAMER, H.; REITNER, A.; MEYER, S. (2019). *Machbarkeitsstudie zur Verwendung von salzhaltigem Grundwasser für die kreislaufbasierte Aquakultur in Schleswig-Holstein*. Austen, G., Büsum.
- WENDELAAR BONGA, S. E. (1997). *The stress response in fish*. *Physiological Reviews* 77(3):591–625.
- WESTIN, D. T. (1974). *Nitrate and Nitrite Toxicity to Salmonoid Fishes*. *The Progressive Fish-Culturist* 36(2):86–89.
- WRIGHT, P. A.; ANDERSON, P. M. (2001). *Nitrogen Excretion*. Page P. A. Wright and P. M. Anderson, editors. Academic Press.
- WU, W.; YANG, F.; YANG, L. (2012). *Biological denitrification with a novel biodegradable polymer as carbon source and biofilm carrier*. *Bioresource Technology* 118:136–140.

-
- WUERTZ, S.; SCHULZE, S. G. E.; EBERHARDT, U.; SCHULZ, C.; SCHROEDER, J. P. (2013). *Acute and chronic nitrite toxicity in juvenile pike-perch (Sander lucioperca) and its compensation by chloride*. Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology 157(4):352–360.
- YANG, S.-F.; TAY, J.-H.; LIU, Y. (2003). *A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater*. Journal of Biotechnology 106(1):77–86.
- YANG, X.; WANG, S.; ZHOU, L. (2012). *Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by Pseudomonas stutzeri D6*. Bioresource Technology 104:65–72.
- ZHANG, B.; CARLSON, R.; SRIENC, F. (2006). *Engineering the Monomer Composition of Polyhydroxyalkanoates Synthesized in Saccharomyces cerevisiae*. Applied and Environmental Microbiology 72(1):536–543.