



HEINZGLAS
Kleintettau | Germany

Abschlussbericht

Entwicklung einer innovativen Verfahrenskombination bestehend aus modularen bepflanzten Bodenfiltern zur Reinigung von mit Ammonium-Stickstoff, Fluorid und Barium hoch belastetem Industrie- und Glasmattierabwasser

Projektleiter

BÜRO HOLZAPFEL

Braugasse 1

99425 Weimar

fon 03643 – 49 55 60

email info@bueroholzapfel.de

Kooperationspartner

Materialforschungs- und -prüfanstalt

Coudraystrasse 9

99423 Weimar

fon 03643 – 564 353

email peter.kulle@mfa.de

Kooperationspartner

Heinz Glas GmbH & Co. KG

Glashüttenplatz 1 - 7

96355 Tettau

fon 03643 – 77 769

email karsten.kopp@heinz-glas.com

Projektlaufzeit

26.08.2014 – 31.11.2018

Erstellt: Dipl.-Ing. (FH) Karsten Holzapfel,
BÜRO HOLZAPFEL
Dr. Peter Kulle, Materialforschungs-
und -prüfanstalt Weimar
Im Mai 2019

gefördert durch



Deutsche
Bundesstiftung Umwelt

Weimar, im Mai 2019

www.dbu.de

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Foto Versuchsanlage mit Umfeld
- Abbildung 2: Abb. 2: Prinzip Versuchsanlage mit Schächten
- Abbildung 3: Bewachsener Bodenfilter, Pilotanlage der Fa. Heinz Glas in Kleintettau
- Abbildung 4: Bewachsener Bodenfilter, Beschickung über Bohrungen
- Abbildung 5: Vergleich der Zu- und Ablaufwasserdifferenz nach Phasen und Jahreszeiten
- Abbildung 6: Ammonium-Stickstoff Abbau in Prozent nach Beeten und Phasen
- Abbildung 7: pH-Wert nach Zulauf, Ablauf nach Beeten und Phasen
- Abbildung 8: Ammonium-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen
- Abbildung 9: Nitrit-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen
- Abbildung 10: Nitrat-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen
- Abbildung 11: Fluorid Ab- und Zunahme nach Beeten und Phasen
- Abbildung 12: Barium Ab- und Zunahme nach Beeten und Phasen
-
- Tabelle 1: Charakterisierung der Projektphasen
- Tabelle 2: Tägliche Frachten von NH_4 , Ba und F und deren Abbau bzw. Reduktion

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	3
1. Projektkennblatt	4
2. Problemstellung und Situation vor Ort	6
3. Ergebnisse und Umsetzung des Projektes	6
3.1. Pilot- Anlage, Analytik und Projektphasen	7
3.2. Auswertung Ergebnisse Pilotanlage	9
– Projektphasen	9
– Datenlage und -analyse	10
– Ammonium-, Nitrit-, Nitrat-Stickstoff Ab- und Umbau	11
– Fluorid- und Barium- Abbau	14
– Fluorid und Barium im Filtersubstrat und Pflanzenmaterial	15
– Biomasse aus Schilfernte	15
3.3. Auswertung Laborversuche	15
– Filtersubstratoptimierung Ammonium-Stickstoff Ab- und Umbau	15
– Regenwasseruntersuchungen	16
4. Diskussion wissenschaftlich- praktischer Fragestellungen und Ergebnisse	17
5. Zusammenfassung und Ausblick	20
6. Literatur	21
7. Anlagen	
– Anlage 1: Tabelle Auswertung Untersuchungen Pflanzenbeet	
– Anlage 2: Prüfprotokoll „Untersuchung von Pflanzenteilen“ vom 02.11.2018	
– Anlage 3: Prüfprotokoll „Untersuchung von Pflanzenteilen“ (abschließend) vom 02.11.2018	

Einleitung


Die Reinigung oft einseitig hoch belasteter Industrieabwässer stellt nicht nur in den entwickelten Industrieländern, sondern auch in Schwellen- und Entwicklungsländern ein erhebliches Problem dar. Aus Kosten- und Nachhaltigkeitsgründen werden, auch im nationalen Rahmen, relativ einfache, robuste Verfahren benötigt, um adäquate Reinigungseffekte und eine Mehrfachnutzung des aufbereiteten Abwassers zu erzielen und Intoxikationen an Mensch und Umwelt zu vermeiden. Die Firma Heinz Glas GmbH & Co. KG in Tettau ist neben Deutschland und Tschechien beispielsweise auch in Peru und China tätig und hat sich auf dem nationalen und internationalen Markt der Glasver- und -bearbeitung in den zurückliegenden Jahrzehnten stark etabliert.

Mit dem hier vorliegenden Schlussbericht werden die Projektergebnisse zusammengefasst und dargestellt.



Abb. 1: Foto Versuchsanlage mit Umfeld (Quelle: K. Holzapfel)

1. Projektkennblatt

06/02			
Projektkennblatt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt			
Az	31688/01	Referat	Fördersumme 112.350 €
Antragstitel		Entwicklung einer innovativen Verfahrenskombination bestehend aus modularen bepflanzten Bodenfiltern zur Reinigung von mit Ammonium-Stickstoff, Fluorid und Barium hoch belastetem Industrie- und Glasmattierabwasser	
Stichworte			
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)
57 Monate	26.08.2014	31.05.2019	2
Zwischenberichte	1		
Bewilligungsempfänger	Büro Holzapfel	Tel	03643 495560
	Karsten Holzapfel	Fax	03643 7736212
	Braugasse 1	Projektleitung	
	99425 Weimar	Karsten Holzapfel	
Bearbeiter	Karsten Holzapfel		
Kooperationspartner	Materialforschungs- und Prüfanstalt Coudraystraße 9 99423 Weimar Heinz Glas GmbH & Co. KG Glashüttenplatz 1 – 7 96355 Tettau		
<p>Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens</p> <p>Die Reinigung oft einseitig hoch belasteter Industrieabwässer stellt nicht nur in den entwickelten Industrieländern, sondern auch in Schwellen- und Entwicklungsländern ein erhebliches Problem dar. Aus Kosten- und Nachhaltigkeitsgründen werden, auch im nationalen Rahmen, relativ einfache, robuste Verfahren benötigt, um adäquate Reinigungseffekte, eine Mehrfachnutzung des aufbereiteten Abwassers zu erzielen und Intoxikationen an Mensch und Umwelt zu vermeiden.</p> <p>Nach erfolgversprechenden Voruntersuchungen zur Reinigung von Mattierabwasser im Labor- und kleintechnischen Maßstab in den zurückliegenden Jahren durch die MFPA Weimar wurde eine bepflanzte Bodenfilteranlage als Pilotanlage für den Standort durch das Büro Holzapfel geplant und deren bauliche Realisierung als Versuchsanlage begleitet. Erste spezifische Untersuchungen zur Reinigungsleistung der Anlage waren erfolgt.</p> <p>Es sollte erstmalig geprüft und untersucht werden, in wieweit auch ANAMMOX- Prozesse im Bodenfilter verstärkt aktiviert und etabliert werden können, um Prozessstabilität auch hinsichtlich des pH- Wertes und damit langfristig der Säurekapazität zu erreichen. Die modulare Ausführung der Pilotanlage ließ verschiedene zu testende Betriebsvarianten zu.</p>			
Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Bornau 2 • 49090 Osnabrück • Tel 0541/9633-0 • Fax 0541/9633-190 • http://www.dbu.de			

Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden

Die Versuchsanlage wurde mit verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten hinsichtlich Befruchtung, Betriebsregime und Steuerung betrieben. Im Rahmen der Untersuchungen galt besonderes Augenmerk dem Verhalten der kritischen Abwasserkomponenten NH_4 - Stickstoff, Barium und Fluorid. Die gewachsene pflanzliche Biomasse kann hinsichtlich ihres energetischen Potenzials verwertet werden.

Die folgenden Projektaufgaben bzw. Fragestellungen standen im Focus der Untersuchungen:

- Technische Optimierung der Beschickungs- und Steuerungssperipherie
- Optimierung der Oberflächenverteilung des Abwassers
- Ammonium- Abbau:
 - Nitrifikation bei hoher Leitfähigkeit
 - Entwicklung (Stabilität) von pH- Wert und Säurekapazität
 - Optimierung der hydraulischen und NH_4 - Frachten
 - anaerobe Ammoniumoxidation / Anammox in Bodenfiltern
- Optimierung des Betriebsregimes (Parallel- und Reihenbetrieb der Module, Kombinationen)
- Aktivierung der N- umsetzenden Mikroflora im Bodenfilter
- Maßnahmen zur Stabilisierung von pH-Wert, Säurekapazität innerhalb des Betriebsregimes
- Verhalten der Problemstoffe Barium und Fluorid: Bilanzierung, Pflanzen- und Bodenanalysen

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Geplant ist die ausführliche Diskussion der Ergebnisse mit der Firma Heinz Glas GmbH & Co. KG, 96355 Tettau

Fazit

Die Probenahme an der Versuchsanlage wurde von Januar 2015 bis Oktober 2018 durchgeführt. Aus der Fülle der Datensätze wurden 356 in die Auswertung einbezogen.

Die Gesamtbeeinflächung beträgt 72 m², aufgeteilt in drei Beete. Niederschlag und Verdunstung haben Einfluss auf die Ablaufwassermengen und folglich auf die Konzentrationen der Inhaltstoffe. Deshalb wurden die Zulauf- und Ablaufwassermengen separat gemessen und in die Auswertung einbezogen.

Die Versuchsanlage wurde im Rahmen des Forschungsprojekts über Austesten verschiedenster Varianten und Kombinationsmöglichkeiten hinsichtlich Befruchtung, Betriebsregime und Steuerung untersucht. Somit wurde der Untersuchungszeitraum in zwölf Projektphasen, mit jeweils geänderten Betriebszuständen gegliedert. Die durchgeführten „Sonderverfahren“ wie häufige Beschickung, Beschickung über Sprinkler und Zuckerzugabe (BSB) brachten keine positiven Effekte. Das Ammonium-Abbau-Optimum wurde bei hohem Einstau der Filter und der klassischen Beschickung über Bohrungen der Zulaufrohre gefunden.

Zusätzlich zu den Untersuchungen an der Versuchsanlage wurden im Labor kleintechnische Versuche mit dem Originalsubstrat und dem Zusatz von Additiven durchgeführt.

Im November 2018 wurde von den Beeten die oberirdische Schilf-Biomasse von einem Quadratmeter entnommen und untersucht. Die Ergebnisse ergeben einen Heizwert 40 MJ/m², dies entspricht etwa dem doppelten Heizwert von Braunkohlenbriketts. Eine energetische Nutzung der oberirdischen Biomasse „Schilf“ ist im Winter ohne zusätzliche Trocknung realistisch.

Eine Teilreinigung von hoch NH_4 - und Salz- belasteten Industrieabwassers mit Bodenfiltern ist möglich und hinsichtlich Substratadditiven wie Biokohle und Klinoptilolith optimierbar. Dabei können problematische Stoffe wie Barium und Fluorid partiell „eliminiert“ werden, wofür es bisher keine schlüssigen wissenschaftlichen Erklärungen gibt. Die Etablierung von ANAMMOX- Prozessen über Umstellungen innerhalb der bakteriellen Substratbiozönose ist machbar und praktikierbar. Die im Gesamtabbau- Prozess entstehenden Nitrit- und Nitratgehalte sind bei Indirekteinleitern in kommunale Kläranlagen behandelbar. Der Einsatz des Verfahrens in Dritt- bzw. Schwellenländern, aber auch national und in Ländern Osteuropas, ist hinsichtlich seiner Praktikabilität zu empfehlen.

2. Problemstellung und Situation vor Ort

Das Rohabwasser des Glasmattierungswerkes in Tettau ist durch totalen Kohlenstoffmangel, auffällig hohe elektrische Leitfähigkeiten zwischen 8 und 15 mS/cm und Gehalten an Ammonium-Stickstoff von 900 bis $\gg 1.300$ mg/l gekennzeichnet. Die Salzbelastung zeigt sich u. a. in Chloridgehalten von mehr als 4.000 mg/l. Problematische Fluoridkonzentrationen von 12 bis >18 mg/l und Bariumgehalte um ein Milligramm pro Liter sind für derartige Rohabwässer typisch. Aufgrund der ungewöhnlichen Zusammensetzung müssen solche Abwässer als „schwer abbaubar“ und umwelttoxikologisch sehr kritisch eingeordnet werden. Sie stellen an das Reinigungsverfahren besondere Ansprüche. Innovative Verfahrenskombinationen sind gefragt. Neue Erkenntnisse aus der Grundlagen- und technischen Anwendungsforschung wie zum Beispiel die *anaerobe Ammoniumoxidation* bieten Möglichkeiten bei der Optimierung der Stickstoffelimination, auch ggf. bei bewachsenen Bodenfiltern.

Nach erfolgversprechenden Voruntersuchungen zur Reinigung von Mattierabwasser im Labor- und kleintechnischen Maßstab in den zurückliegenden Jahren vor Projektbeginn durch die MFPA Weimar wurde eine bepflanzte Bodenfilteranlage als Pilotanlage für den Standort Kleintettau durch das Büro Holzapfel geplant und deren bauliche Realisierung als Versuchsanlage begleitet. Vor Projektbeginn waren erste spezifische Untersuchungen zur Reinigungsleistung der Anlage erfolgt.

3. Ergebnisse und Umsetzung des Projektes

Die Zielstellung der Untersuchungen bestand in der Umsetzung der Erfahrungen aus den wissenschaftlich-technischen Vorversuchen im Labor- und kleintechnischen Maßstab hinsichtlich der grundsätzlichen Machbarkeit des Verfahrensansatzes. Dabei ging es zunächst u. a. um die Anpassung der Pilotanlage an das hoch belastete Abwasser, das Einfahren der Anlage und erste Tests im Rahmen einer praxisrelevanten Behandlung.

Die Pilotanlage (vgl. Abb. 1) wurde im Rahmen des Forschungsprojekts über Austesten verschiedenster Varianten und Kombinationsmöglichkeiten hinsichtlich Befruchtung, Betriebsregime und Steuerung untersucht. In enger Abstimmung der Projektpartner wurde zu Beginn des Projekts die technische Peripherie etabliert, getestet und Betriebsoptionen hinsichtlich der Flexibilität der Anlage vorbereitet.

Der Schwerpunkt der Arbeiten lag in der Optimierung der Abwasserbehandlung im Dauerbetrieb mit Sommer- und Winteraspekt unter Nutzung eines gekoppelten, modular aufgebauten und variabel zu betreibenden Bodenfilterverfahrens. Im Rahmen der weiterführenden Untersuchungen galt besonderes Augenmerk dem Verhalten der kritischen Abwasserkomponenten NH_4 - Stickstoff, Barium und Fluorid. Die N- Reduzierung bei sehr hohen NH_4 -N- Ausgangskonzentrationen und Salzgehalten im Rohabwasser war dabei eine wesentliche Fragestellung.

In dem praxisrelevanten Forschungsprojekt sollte das Verfahren bis zur Anwendung weiterentwickelt, angepasst und optimiert werden. Dabei ging es dem Industriepartner Heinz Glas GmbH & Co. KG im Wesentlichen um einen hohen Durchsatz an Rohabwasser (hohe hydraulische Fracht: bei vorhandener Pilotanlage von 1 m^3 Abwasser pro Tag) bei hohem Abbaupotenzial (möglichst 50%) und im Folgenden um Kosteneinsparungen als Indirekteinleiter. Im Interesse steht auch eine eventuelle Nutzung der gewachsenen pflanzliche Biomasse (Schilf) hinsichtlich ihres energetischen Potenzials.

3.1. Pilot- Anlage, Analytik und Projektphasen

Die Pilotanlage mit 72 m² Gesamtfläche, 80 cm Gesamtfiltermächtigkeit, 60 cm aktiver Filter – aufgebaut aus den drei gleichflächigen Modulen: Beet 1, Beet 2, Beet 3 – stand für die Untersuchungen auf dem Gelände der Heinz Glas GmbH & Co. KG in Kleintettau zur Verfügung (vgl. Abb. 2 + 3). Die Pilotanlage war durch das Büro Holzapfel geplant und vor Ort bereits fertig gestellt und in Betrieb genommen worden. Zur Aufrüstung, Wartung und Anpassung der Peripherie der Anlage waren zusätzliche Investitionen notwendig.

Der Zulauf wurde auf Beet 1 beschickt, dessen Ablauf zu je 50% anteilig auf Beet 2 und Beet 3 verteilt wurde (vgl. Abb. 4).

Mit physikalisch- chemischen Laboranalysen nach einschlägig anerkannten DIN- bzw. EN- Methoden untersetzte Untersuchungen wurden begleitend durchgeführt.

Im Rahmen der Einfahrphase ging es insbesondere um die Etablierung von und Besiedlung durch typische Boden-Mikroorganismen sowie deren Adaptation einschließlich der gesetzten Schilfpflanzen und -rhizome an das spezifische Rohabwasser und Bodenmilieu, und darüber hinaus dessen wissenschaftlicher Betreuung und Begleitung hinsichtlich der Machbarkeit des Projekts. Die Anlage liegt mit mehr als 700 m über Meeresspiegel in einem besonders in den Wintermonaten strengen und sensiblen Witterungsumfeld.

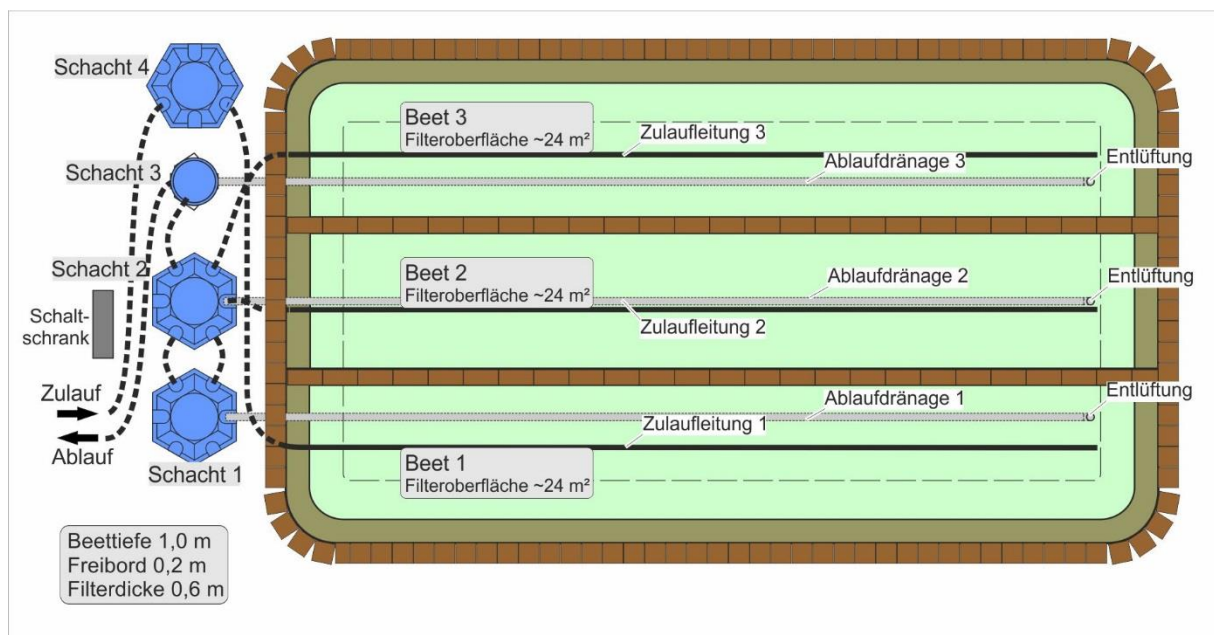


Abb. 2: Prinzip Versuchsanlage mit Schächten



Abb.3: Bewachsener Bodenfilter (Pka), Pilotanlage der Fa. Heinz Glas in Kleintettau (Frühsommer)



Abb.4: Bewachsener Bodenfilter (Pka), Beschickung über Bohrungen (Frühjahr)

Das Betriebslabor der Firma Heinz Glas GmbH & Co. KG sowie das Umweltlabor der MFPA Weimar konnten die Umsetzung der zeitnah notwendigen Analysen absichern. Eine intensive Mitbetreuung der Pilotanlage vor Ort durch die Firma Heinz Glas GmbH & Co. KG ist erfolgt. Dabei wurde anfangs täglich, später wöchentlich montags, mittwochs und freitags beprobt und die Parameter pH- Wert, elektrische Leitfähigkeit, NH₄-N, NO₂-N, NO₃-N, Chlorid, Barium und Fluorid im Betriebslabor bestimmt. Vergleichende Analysen erfolgten in der MFPA Weimar, insbesondere zu Regenwasserproben, ausgewählten Abwasserproben, bei den Optimierungsarbeiten zum Filtersubstrat, Bodenfilter- und Pflanzenmaterial (ober- und unterirdische Pflanzenteile).

Die hydraulischen Zulauffrachten bzw. Ablauffrachten der Anlage wurden durch die Firma Heinz Glas & Co. KG erfasst und zur Verfügung gestellt.

3.2. Auswertung Ergebnisse Pilotanlage

– Projektphasen

Der Untersuchungszeitraum wurde in zwölf **Projektphasen** (vgl. Tab. 1, Anlage1) gegliedert und ist wie folgt charakterisiert:

Tab. 1: Charakterisierung der Projektphasen

	Zulaufmenge	Beschickung	Wasserspiegelstand (ab Sohle Pka)		Sonstiges	
			B 1	B 2+3		
	l/d	n/d	cm	cm		
Phase 0	720	6	30	40	Beschickung über Bohrungen	
Phase 1	1080		65			
Phase 2	1080					
Phase 3	1080					
Phase 4	960	20	80	100	Beschickung über Sprinkler	
Phase 5	960					
Phase 6	1080	6	60	110	Beschickung über Bohrungen	Intervallbeschi- ckung
Phase 7	960			40		
Phase 8	960					
Phase 9	960					
Phase 10	720	60/100				BSB ₅ Zugabe
Phase 11	720					

Mit der Zielsetzung, den optimalen Betriebszustand – maximaler Ammoniumabbau - zu finden, wurde innerhalb des Projektes die Parameter Zulaufmenge, Beschickungsintervall, Beschickungsart geändert. Zusätzlich wurde eine gezielte BSB₅- Zugabe in Form von Zucker durchgeführt.

Wie die weiteren Auswertungen zeigen, lag das Optimum bei hohem Einstau der Filter und der klassischen Beschickung über Bohrungen der Zulaufrohre. Die durchgeführten „Sonderverfahren“ wie häufige Beschickung, Beschickung über Sprinkler und Zuckerzugabe brachten keine sichtbaren positiven Effekte.

– **Datenlage und -analyse**

Die Probenahme wurde von Januar 2015 bis Oktober 2018 durchgeführt. Für die Parameter pH-Wert, Leitfähigkeit, Wassermenge und Ammonium-N liegen 510 Datensätze vor, davon wurden 356 Datensätze in die Auswertung einbezogen. Für die Parameter Nitrit-N, Nitrat-N, Chlorid, Fluorid und Barium liegen 360 Datensätze vor, davon wurden 111 Datensätze in die Auswertung einbezogen (vgl. Anlage1).

Die Gesamtbeetfläche beträgt 72 m², Niederschlag und Verdunstung können je nach Wetterlage und Jahreszeit erheblichen Einfluss auf die Ablaufwassermengen haben und die Konzentrationen der Inhaltstoffe verringern oder erhöhen. Deshalb wurden die Zulauf- und Ablaufwassermengen separat gemessen und in die Auswertung einbezogen (vgl. Abb. 5).

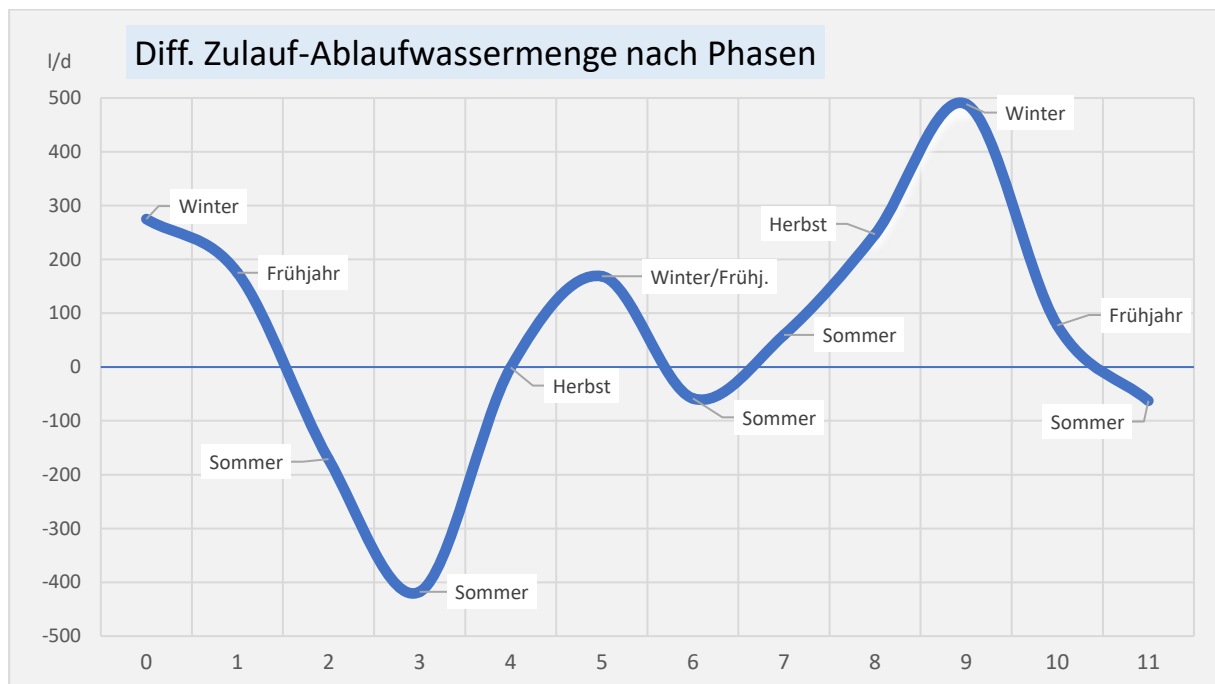


Abbildung 5: Vergleich der Zu- und Ablaufwasserdifferenz nach Phasen und Jahreszeiten

Die Differenz aus Niederschlag und Verdunstung erreichte im Winterhalbjahr positive Werte (z.B. Phase 9 / Winter) und im Sommerhalbjahr negative Werte (z.B. Phase 3 / Sommer).

Tabelle 2: Tägliche Frachten von NH₄, Ba und F und deren Abbau bzw. Reduktion innerhalb der Versuchsphasen (Zusammenfassende tabellarische Darstellung)

Phase	Zeit d	NH ₄ -N Zulauf		Abbau / Reduktion [%]					
		B1	B2/3	NH ₄ -N		Fluorid		Barium	
		[g/m ² •d]	[g/m ² •d]	B1	B2/3	B1	B2/3	B1	B2/3
0	54/9	44,9	16,6	17	12	0,4	9,1	-14,7	-14,1
1	65/11	56,9	23,7	17	13	33,7	-1,3	30,6	-61,2
2	47/16	46,6	19,1	18	16	21,8	45,9	62,6	-62,2
3	39/11	47,2	15,4	35	38	8,9	65,1	68,4	-5,3
4	66/20	33,4	14,6	13	6	1,8	35,4	30,9	-158,2
5	104/29	47,3	20,4	14	20	-0,5	9,8	36,1	4,1
6	76/22	44,4	17,8	20	0	-2,7	-12,3	33,2	16,7
7	70/16	35,9	15,3	14	14	-6,6	17,8	-13,5	-13,6
8	100/32	42,4	19,1	10	3	-4,8	8,0	-7,6	-1,4
9	28/4	42,2	17,9	15	0	18,6	-45,3	-18,7	23,4
10	47/6	24,9	11,9	5	9	0,9	-36,7	-5,3	19,6
11	66/20	35,5	14,7	17	12	30,1	-33,3	-75,8	17,0

– **Ammonium-, Nitrit-, Nitrat-Stickstoff Ab- und Umbau**

Die umfangreichen Analysen waren erfolversprechend und belegen einen (deutlichen) Abbau von Ammonium-N in den Bodenfilterstufen (Beeten) 1 bzw. 2 und 3, wobei in den einzelnen Projektphasen deutliche Unterschiede auftraten. Dabei zeigte sich in der Projektphase 3 der höchste und auffallendste Ammoniumabbau bei relativ hoher Flächenbelastung bzw. Befruchtung (vgl. Tab. 2, Abb. 6 + 8). In den anderen Projektphasen lag dieser teilweise deutlich niedriger.

Der Ammonium- Abbau der Gesamtanlage lag in Phase 3 bei 60% und für Beet 1 bei 35%. In den Phasen 0, 2 und 5 konnte Ammonium-N zu > 30% reduziert werden.

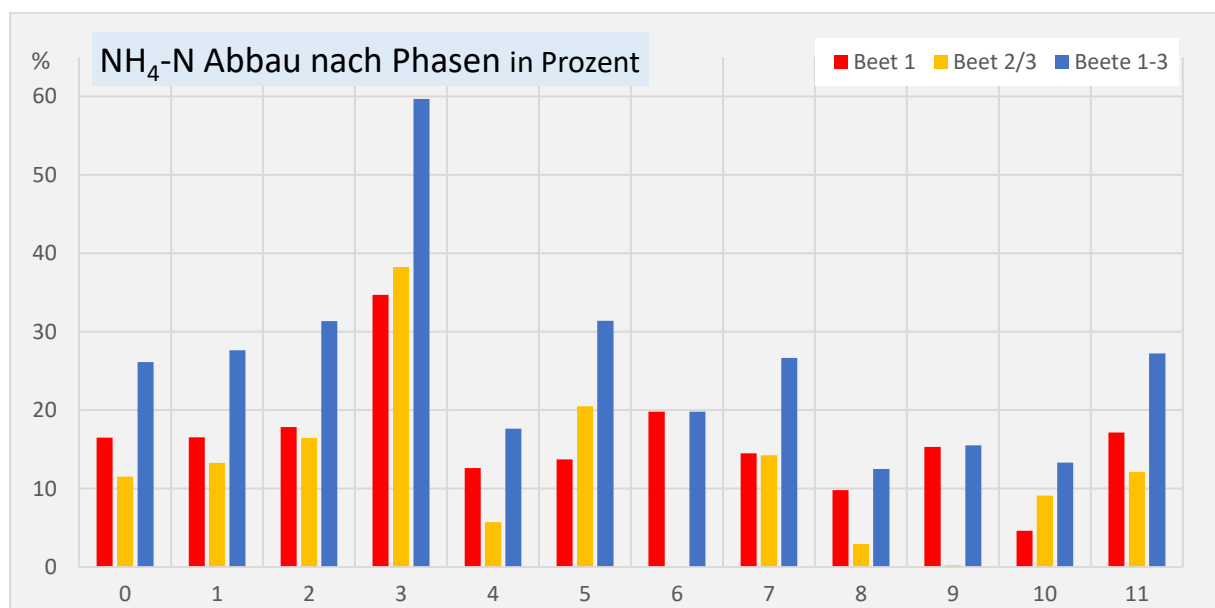


Abbildung 6: Ammonium-Stickstoff Abbau in Prozent nach Beeten und Phasen

Bei umfangreicher Nitrifikation insbesondere in den Versuchsphasen 0, 1 und 2 fiel der pH-Wert in saure Bereiche von teilweise nur knapp über 6, wobei sich die Säurekapazität nicht erschöpfte (vgl. Abb. 7). Die elektrische Leitfähigkeit wurde reduziert. Bereits die umfangreichen Labor- und kleintechnischen Versuche zeigten eine überraschend stabile Säurekapazität.

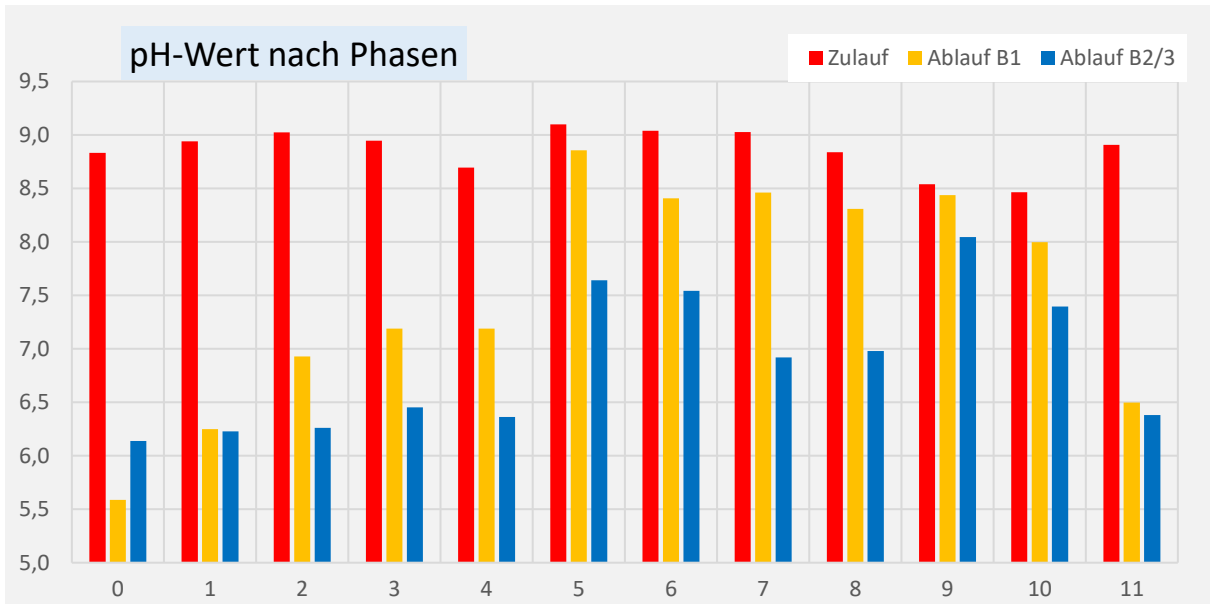


Abbildung 7: pH-Wert nach Zulauf, Ablauf nach Beeten und Phasen

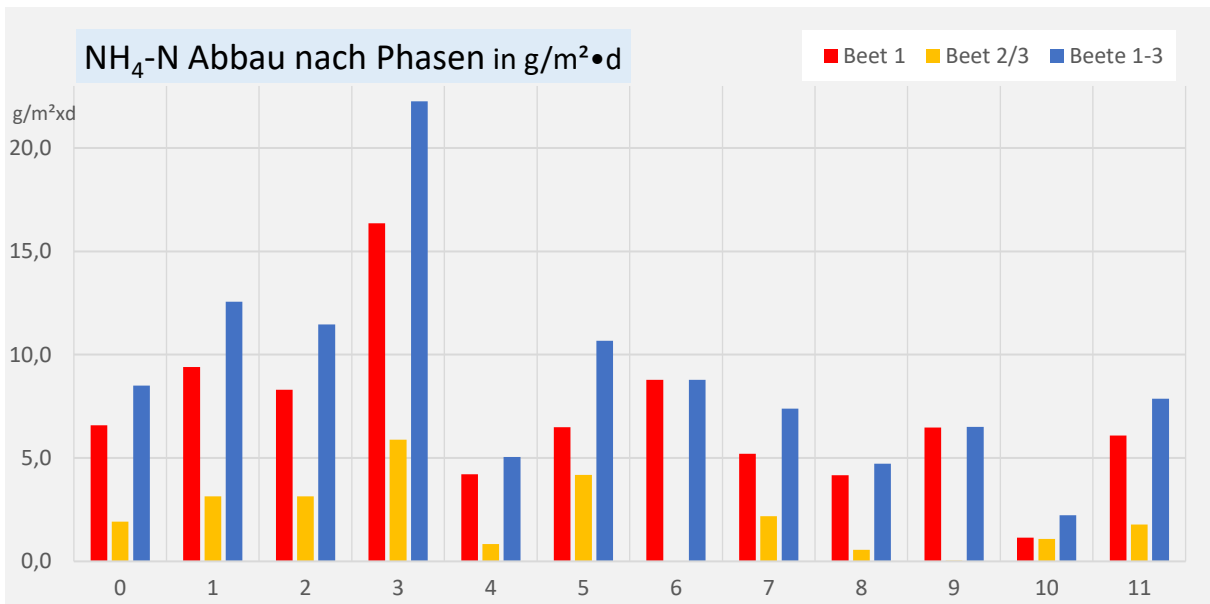


Abbildung 8: Ammonium-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen

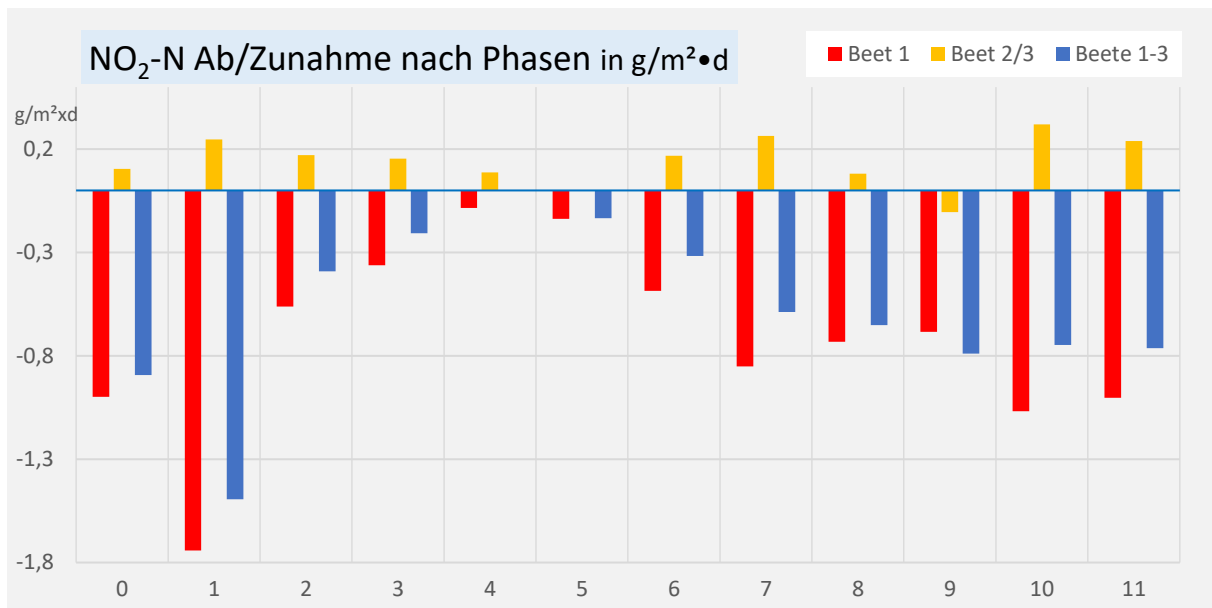


Abbildung 9: Nitrit-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen

In den Phasen 0 – 2 und 11 kam es zu erhöhter Nitrat- Bildung innerhalb der Anlagenteile (vgl. Abb. 10). Ein ähnlicher, wesentlich auffälliger Trend zeigte sich beim Nitrit-N (vgl. Abb. 9).

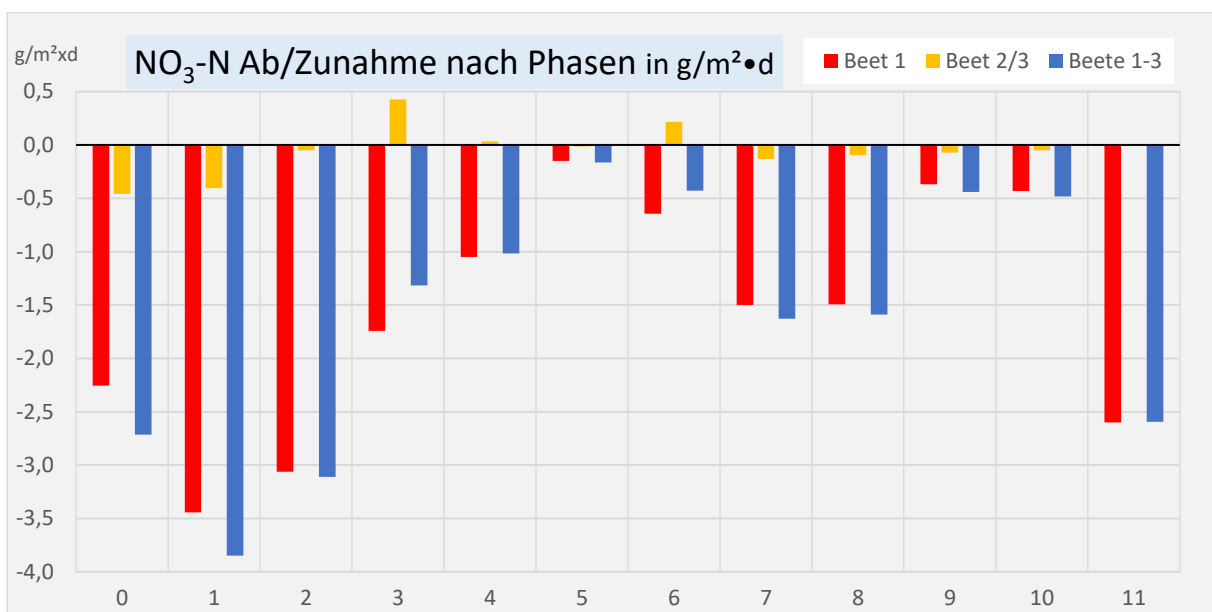


Abbildung 10: Nitrat-N Ab- und Aufbau nach Beeten und Phasen bezogen auf Beetoberflächen

– **Fluorid und Barium Abbau**

Hinsichtlich Fluorid und Barium gab es Phasen mit auffälliger oder auch geringer Reduzierung wie auch Phasen, die durch eine Erhöhung der Ablaufkonzentrationen bzw. -frachten auffielen (vgl. Abb. 11 + 12). Bei Fluorid und Barium konnten die Analysen den gefundenen Trend aus den Labor- und kleintechnischen Versuchen nicht immer untersetzen: Während nach Passage von Beet 1 der Bariumgehalt teilweise deutlich reduziert wurde, konnte im Ablauf der Gesamtanlage eine darunter liegende, geringere Reduzierung bzw. Erhöhung gefunden werden.

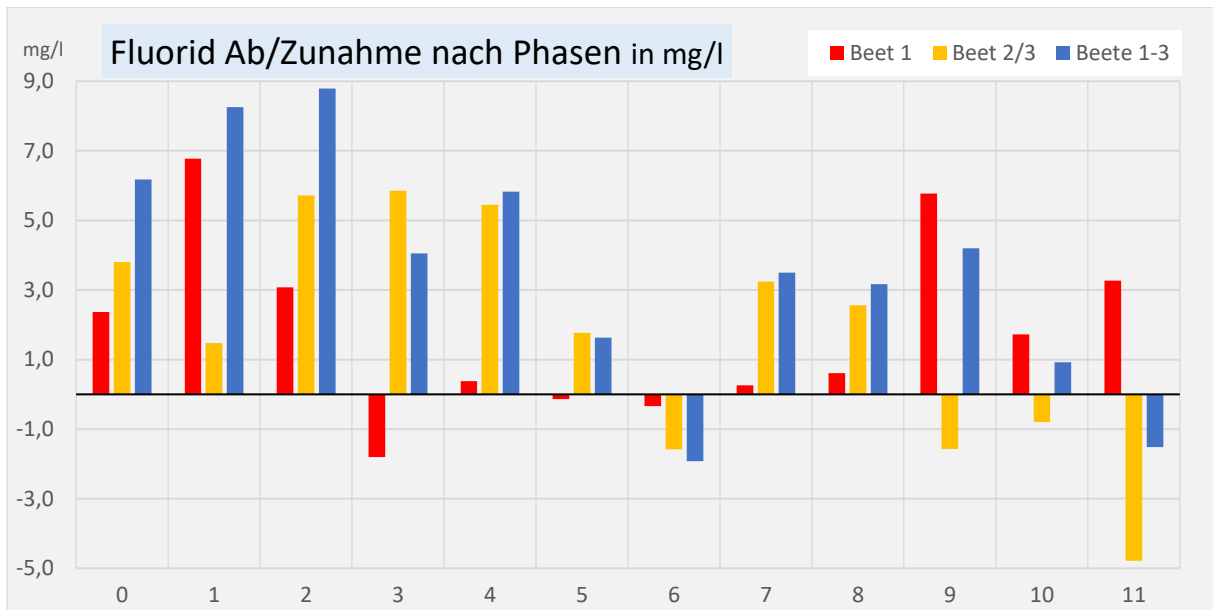


Abbildung 11: Fluorid Ab- und Zunahme nach Beeten und Phasen

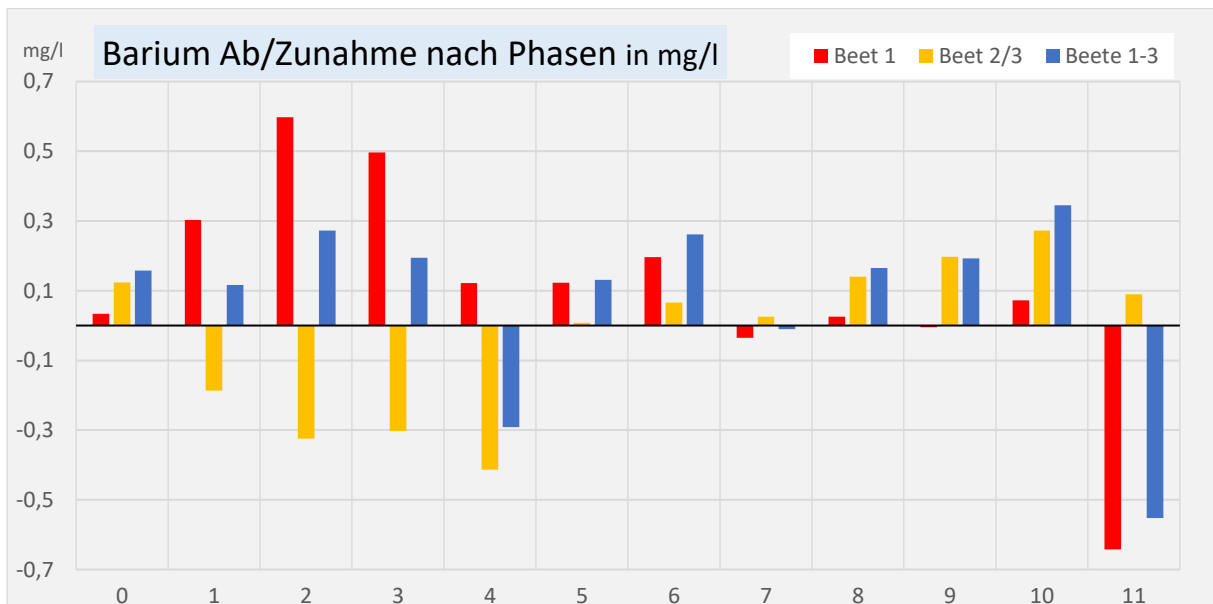


Abbildung 12: Barium Ab- und Zunahme nach Beeten und Phasen

– **Fluorid und Barium im Filtersubstrat und Pflanzenmaterial**

Die zumindest teilweise (auffällige) Reduzierung toxischer Stoffe wie Fluorid und Barium im Rahmen der Behandlung von Rohmattierabwasser war mehr als überraschend und sollte durch detaillierte Untersuchungen von Filter- und Pflanzenmaterial betrachtet werden. In den oberirdischen Pflanzensprossen wurden Gehalte von 3,5 bis 38,4 mg/kg Barium (Veraschung) und < 0,01 bis 23,8 mg/kg Fluor (aus TS) gefunden. In den Wurzeln/Rhizomen konnten Konzentrationen in Bereichen von 10 bis 132 mg/kg Ba (Veraschung) und < 0,01 bis 29,3 mg/kg F (aus TS) nachgewiesen werden. Im Substrat des Bodenfilters wurden zwischen 57,8 und 160 mg/kg Ba (Veraschung) bzw. 2,7 bis 37 mg/kg F (aus TS) analytisch bestimmt. Pro m² Beetfläche konnten mit Vegetationsende nach Frischgewicht 2004 g (Beet 1), 1786 g (Beet 2) und 2456 g (Beet 3) Schilfbiomasse geerntet werden (vgl. Anlage2).

Auch bzgl. anderer stofflicher Gehalte (Ca, K, Mg, Cl ...) gab es auffällige Akkumulationen in der pflanzlichen Biomasse.

– **Biomasse aus Schilfernte**

Von jedem Pflanzenbeet wurde die oberirdische Biomasse geerntet und analysiert. Im Mittel wurden 2.080 g/m² Feuchtmasse Schilf geerntet. Die enthaltene Trockensubstanz (bei 105°) beträgt 93 Ma.-%, somit 1,9 kg TS/m² (vgl. Anlage2). Da der Erntezeitpunkt im November lag, ist der natürliche Wassergehalt von Schilf sehr niedrig. Der Heizwert von Schilf wird mit 5.000 kcal/kg angegeben, Wissing (1995). Daraus errechnet sich ein Heizwert 40 MJ/m², dies entspricht etwa dem doppelten Heizwert von Braunkohlenbriketts.

Eine energetische Nutzung der oberirdischen Biomasse „Schilf“ ist im Winter ohne zusätzliche Trocknung realistisch. Schilfbeete mit Biomasseentnahme sollten konzeptionell darauf ausgelegt sein.

3.3. Auswertung Laborversuche

– **Filtersubstratoptimierung Ammonium-Stickstoff Ab- und Umbau**

Optimierungsversuche zum Substrat wurden in 2,3-Liter-Laborreaktoren durchgeführt. In ersten Tests wurde Substrat der Pilotanlage Tettau verwendet, wobei Filterreaktor 1 zu 50%, Filter 2 zu 100% und Filter 3 zu 100% mit Substrat der Pilotanlage und anteilig 15 V-% Biokohle (nur Filter 3) gefüllt waren. Die Filterreaktoren wurden über 5 Monate täglich (außer Samstag/Sonntag) jeweils mit 300 ml Rohabwasser über 10 h beaufschlagt. Nach einer zweiwöchigen Einfahrzeit wurden die zu untersuchenden Proben als wöchentliche Mischproben aus den täglichen Beprobungen gezogen.

In einem zweiten Substrat-Optimierungsschritt wurden in selbigen Reaktoren Substrate der Pilotanlage (1) und Biokohle mit einem Mischsubstrat aus (1) und Biocalith (Feinkorn; Fa. Dispo GmbH) im Volumen-anteiligen Verhältnis von 40/60 sowie einem Mischsubstrat aus (1) mit Biokohle (wie zuvor) und 15% Anteil Klinoptilolith verglichen. Die Beschickung erfolgte wie zuvor bei halbiertes Beschickungszeit.

Die im Labormaßstab in Kleinreaktoren durchgeführten Versuche mit Substrat der Pilotanlage zeigten folgendes Bild: Eine doppelte Filtermächtigkeit führte zu einem um 10% höheren Ammoniumabbau.

Die anteilige Zugabe von Biokohle erbrachte insgesamt einen um 35% erhöhten Abbau von $\text{NH}_4\text{-N}$ (bei doppelter Filtermächtigkeit). Die anteilige Zugabe von Klinoptilolith zeigte gegenüber „Normalsubstrat mit Biokohle“ wie auch gegenüber Substrat mit Biocalith einen auffällig höheren Abbau von $\text{NH}_4\text{-N}$.

– **Regenwasseruntersuchungen**

Die im Regenwasser vor Ort im Bereich der Pilotanlage gemessenen Gehalte an $\text{NH}_4\text{-N}$ und $\text{NO}_3\text{-N}$ lagen zwischen 0,2 und 5,6 mg/l. Für Barium bzw. Fluorid wurden Konzentrationen zwischen 0,94 und 60 $\mu\text{g/l}$ (Ba) und < 0,1 bis 0,56 mg/l (F) gefunden. Deren Messungen wurden vorgenommen, um ggf. Umwelteinflüsse „von Außen“ auf die Pilotanlage zu evaluieren.

4. Diskussion wissenschaftlich- praktischer Fragestellungen und Ergebnisse

Die (zumindest teilweise) Reinigung von hoch belasteten Stickstoff- und Salz- haltigen Industrie(Mattier)abwasser mit auffälligen toxischen Belastungen wie beispielsweise Barium und Fluorid stellt eine besondere Herausforderung an ein Verfahren und seine Optimierung dar.

Im Rahmen des Projekts sollte erstmalig geprüft und untersucht werden, in wieweit über gezielte betriebliche und verfahrenstechnische Steuermöglichkeiten *anaerobe Ammoniumoxidierer (Planctomycetes)* im Bodenfilter verstärkt aktiviert und etabliert werden können, um Prozessstabilität auch hinsichtlich des pH- Wertes und damit langfristig der Säurekapazität zu erreichen. Dies konnte mittels zunehmendem Einstau der Beete (ab Phase 3) erreicht werden. Eine Stabilisierung des pH- Wertes setzte zunehmend ein. In den Phasen 0, 1 und 2 war der NH_4 - Abbau in erster Linie umfangreichen Nitrifikationsprozessen zuzuschreiben, die sich in erhöhten Nitrat- und Nitrit- Konzentrationen und tendenziell niedrigeren pH- Werten zeigten. Mit zunehmendem Einstau der Anlage kam es zu reduzierten Nitrat- und Nitrit- Konzentrationen im Ablauf der Anlage, sowie zu einer Stabilisierung des pH- Wertes im schwach sauren oder auch basischen Bereich.

Die Analysen der *vermicon AG* (vgl. Anlage3) konnten mittels Gensondentechnologie den Nachweis erbringen, dass im Filtersubstrat bei Einstau ANAMMOX- Bakterien auftreten, bei Absenkung des Wasserspiegels und damit größerer O_2 - Verfügbarkeit jedoch nicht. Die auffälligen N- Abbauleistungen in Phase 3 müssen mit dem nahezu vollständigen Einstau und der damit anlaufenden Nitrifikation, zumindest bis zum Nitrit, zusammenhängen, wobei bei technischen ANAMMOX- Prozessen bekannt ist, dass die Nitritbildung und der Rest-Ammoniumgehalt in ausgewogenem Verhältnis liegen müssen, um den Prozess am Laufen zu halten. Der Anteil der ammoniumoxidierenden Bakterien (AOB) lag in Bereichen von 1 – 5% Anteil an der lebenden Gesamtpopulation.

Die modulare Ausführung der Pilotanlage ließ verschiedene zu testende Betriebsvarianten zu. Die Pilot- Anlage hatte zunächst hinsichtlich einer optimierten, gleichmäßigen Oberflächenverteilung der Abwassermenge während der Beschickungszyklen Reserven. Hierzu wurde über Sprenklersysteme eine gleichmäßigere Verteilung des Rohabwassers auf Beet 1 installiert, die allerdings keine Effekte erbrachte. Auf eine Rezirkulation wurde verzichtet, da die Anlage ohnehin mit hoher hydraulischer Belastung (an ihrer Grenze) gefahren wurde.

Die Ergänzung mit Filtersubstratadditiven zur Optimierung des Filtersubstrates und Aktivierung der *heterotrophen Nitrifikanten* stellten weitere interessante Varianten und Möglichkeiten der Optimierung des Systems dar und wurden im Labormaßstab getestet. Die Erhöhung der Mächtigkeit des Filters im Rahmen von begleitenden Labroptimierungsversuchen hatte einen erhöhten Ammonium- Abbau zur Folge. Die anteilige Verwendung von Biokohle und Klinoptilolith im Filtermaterial förderte ebenfalls auffällig die Reduzierung von NH_4 -N.

Die *Anammoxbakterien* haben sowohl in Forschung als auch mittlerweile Anwendung hohes Interesse geweckt (Kartal et al., 2013). Die anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox) wurde erst in den 1980er Jahren als wichtiger Stoffwechselweg im Stickstoffkreislauf entdeckt, bis schließlich vor etwas mehr als 20 Jahren und in der Folgezeit interessante Untersuchungen an Meeresbakterien auf sich aufmerksam machten (Van de Graaf et al., 1995; Könneke, 2005).

In technischen Systemen der Abwasserreinigung wie Belebungsanlagen (SBR) zur Behandlung von Deponie-, Industrie- und Kommunalabwasser kommen diese Bakterien bereits gezielt zum Einsatz.

Die Deutsche Bundesstiftung Umwelt förderte in den zurückliegenden Jahren die Entwicklung und Realisierung des Anammox- Verfahrens für (Industrie-)Abwässer mit hohen Ammoniumkonzentrationen und ungünstigem Kohlenstoff/Stickstoff- Verhältnis in technischen Reinigungssystemen (*Kunst, 2001-2004 und 2005-2007; Denecke, 2010-2013*).

Die Erfahrungen und Erkenntnisse aus den genannten Projekten sollten soweit als möglich in den Betrieb und die Steuerung des naturnahen Verfahrens (bewachsener) Bodenfilter einfließen und Anwendung finden, wobei die „Steuerung“ eines naturnahen Verfahrens stark eingeschränkt und im Vergleich mit technischen Verfahren aufgrund seiner Komplexität ggf. anders zu bewerten ist. Insbesondere Bodenfilter stellen nach wie vor eine gewisse „black box“ dar.

Die Erprobung und Untersuchungen über die Wirkungen eines intermittierenden Anlagenbetriebs mit Stillstandzeiten sowie reduzierter täglicher Befruchtung der Pilotanlage sowie die Zugabe einer C- Quelle zur Stimulation heterotropher Nitrifikanten erbrachten überraschenderweise keine nennenswerten Effekte.

Auf der Kläranlage Rotterdam wurden Ende der 90er Jahre erste erfolversprechende Versuche mit dem Anammox- Verfahren durchgeführt. Mittlerweile sind Anammoxbakterien neben aquatischen Systemen auch in terrestrischen Habitaten wie Marschsedimenten, Agrar- und Permafrostböden sowie Feuchtgebieten nachgewiesen worden (*Zopfi et al., 2009*). *Long et al. (2010)* konnten zeigen, dass Anammoxbakterien in Bodenökosystemen nicht ubiquitär vorkommen. Für eine gezielte Etablierung dieser Bakterien im System waren Maßnahmen der Beimpfung und Anreicherung nicht notwendig.

Neu entdeckte phylogenetische Bakterienformen, die für den Stickstoffkreislauf von Bedeutung sind und sich von den „klassischen“ Ammoniumoxidierern unterscheiden, wurden mittlerweile nachgewiesen (*Stahl und de la Torre, 2012*). Bislang wenig untersuchte *Archaeen* haben sich an unterschiedlichste pH- Werte der Böden angepasst. So konnte bei den sogenannten *Thaumarchaeen* selbst bei sauren pH- Werten eine signifikante Ammoniumoxidation und offensichtliche ökologische Nischenspezialisierung nachgewiesen werden (*Gubry-Rangin et al., 2011*). Weiterhin zeigte sich, dass unter den Anammoxbakterien auch nicht obligat chemolithotrophe Formen existieren, was einen bemerkenswerten Hinweis auf deren ökologische Vielfalt und Anpasstheit bzw. Toleranz gibt (*Hatzenpichler et al., 2008; Nicol et al., 2008*).

Die bereits in Vorprojekten festgestellte, überraschende Reduzierung der Problemstoffe *Barium* und *Fluorid* konnte teilweise bestätigt werden. Andererseits kam es offensichtlich zu Rücklösungen der Stoffe (quasi Ionenaustauscher), die insbesondere mit Regenereignissen korrelierten.

Die Umweltfolgen der Fluoride wurden in den 80er und 90er Jahren intensiv in Ländern der ehemaligen Sowjetunion untersucht. Sie können in industriellen Abwässern, bei der Kohleverbrennung und Vulkanismus sowie in Phosphordüngemitteln mit erhöhten Konzentrationen auftreten. In Bodenmineralien wie Fluorit, Apatit, Flussspat, Glimmer und Tonen wurden teilweise hohe Fluoridgehalte nachgewiesen. Fluoride werden durch die Pflanzenwurzeln aufgenommen und in anorganischer Form, aber besonders in organischer Form nach Umwandlung in Monofluoracetat in jungen Blättern und Sprossen, später auch im Samen in gesättigten Fettsäuren und Fluorölsäure akkumuliert bzw. inkorporiert (*Vickery und Vickery, 1975*). Sogenannte Fluorophyten können teilweise beträchtliche Mengen Fluorid aufnehmen und werden auch als Fluorakkumulatoren bezeichnet. Fluorgehalte in Böden von > 1000 mg/kg führen nachweislich zu Aktivitätsverlusten von Mikroorganismen. Hohe Konzentrationen verursachen Schäden bei Nutz- und Wasserpflanzen.

Überraschenderweise wird das als giftig eingestufte lösliche Fluorid durch Regenwürmer ohne erkennbare Intoxikation akkumuliert.

Die im Projekt nachgewiesene Aufnahme der Problemstoffe F und Ba in die Schilfpflanzen sowie Adsorptionen an die Filtermatrix reichen nicht aus, um deren Reduktion über längere Zeiträume zu erklären. Es ist nachgewiesen, dass Metalle wie Barium über Prozesse der Biosorption und Immobilisierung durch Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere, aber auch innerhalb der Bodenmatrix zurückgehalten und eingelagert bzw. akkumuliert werden können (Eccles, 1999; Malik, 2004). Derartige bio- und geogene „Zwischendepots“ können zur Entgiftung von Umweltmedien, zumindest zwischenzeitlich, beitragen. Die sogenannte Bioremediation, insbesondere Phytoremediation wurde und wird weltweit im Zusammenhang mit Schwermetallen und kontaminierten Böden und Wässern intensiv untersucht (Salt et al., 1998; Pilon-Smits, 2005).

Gy et al. (2011) und Kowalska et al. (2011) konnten für Barium aus der Erzförderung und Kohleverbrennung eine bemerkenswerte Akkumulation bei *Phragmites australis*, *Miscanthus floridulus* und *Verbascum densiflora* nachweisen. Neben anderen Schwermetallen wie Strontium, Cadmium, Uranium, Thorium, Nickel und Blei wurde bei den genannten Pflanzen eine Hyperakkumulation von Barium festgestellt, deren molekularer Mechanismus bereits Gegenstand intensiver Untersuchungen war (Sagiroglu et al., 2006; Verbruggen et al., 2009). Die sehr komplexen Symbiosen zwischen Pflanzen und Mikroorganismen innerhalb der sogenannten Rhizosphäre stellen hierbei einen entscheidenden Mechanismus und interaktiven Weg im Rahmen der Phytoremediation dar (Anderson et al., 1993; Kuiper et al., 2004; Wu et al., 2006; Bever et al., 2012). Um die Prozesse der Aufnahme, Akkumulation und „Reduzierung“, aber auch offensichtlicher Freisetzung der Problemstoffe Barium und Fluorid besser zu verstehen, sind umfangreichere Untersuchungen notwendig. Beide Stoffe zählen zu den Nervengiften.

Bisher existierten keine umsetzbaren Erfahrungen mit Bodenfiltern hinsichtlich der spezifischen Reinigung derartiger hoch Ammonium- und Salz- belasteter Mattierabwässer mit Kohlenstoffmangel und auffälligen Barium- und Fluoridgehalten. Sie kommen in ihren Eigenschaften den Deponiesickerwässern (Kulle und Bidlingmaier, 2003) noch am nächsten. Daher waren die intensiven Untersuchungen im Rahmen eines umfangreicheren Pilotprojektes notwendig und sinnvoll. Spätere Anwendungen könnten sich auf spezifische Bergwerkswässer, Industrie- und Sickerwässer, nicht nur in Dritt- und Schwellenländern, sondern auch in Osteuropa ausdehnen.

Die Auswirkungen einer erhöhten Verdunstung bei bewachsenen Bodenfiltern in den Sommermonaten und die Einflüsse jahreszeitlich bedingter Temperaturen sowie eines etablierten und entwickelten Pflanzenbestandes konnten im Rahmen der mehrjährigen Untersuchungen berücksichtigt werden.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Eine zumindest Teilreinigung von hoch NH_4 - und Salz- belasteten Industrieabwassers mit Bodenfiltern ist möglich und hinsichtlich Substratadditiva wie Biokohle und Klinoptilolith optimierbar. Dabei können problematische Stoffe wie Barium und Fluorid partiell „eliminiert“ werden, wofür es bisher keine schlüssigen wissenschaftlichen Erklärungen gibt. Die Etablierung von ANAMMOX-Prozessen über Umstellungen innerhalb der bakteriellen Substratbiozönose ist machbar und praktikierbar. Die im Gesamtabbau- Prozess entstehenden Nitrit- und Nitratgehalte sind bei Indirektleitern potentiell gespeicherter (chemisch gebundener) Sauerstoff und wären damit problemlos behandelbar (Situation in Tettau). Der Einsatz des Verfahrens in Dritt- bzw. Schwellenländern, aber auch national und in Ländern Osteuropas, ist hinsichtlich seiner Praktikabilität zu empfehlen, allerdings noch einer näheren Kostenprüfung zu unterziehen.

Weimar, im Mai 2019

6. Literatur

Wissing, Friedrich, (1995): *Wasserreinigung mit Pflanzen*
Wissing. – Stuttgart : Ulmer, ISBN 3-8001-3094-7

Anderson, T.A., E.A. Guthrie, B.T. Walton (1993): *Bioremediation in the rhizosphere.*
Environ. Sci. Technol. 27: 2630 – 2636.

Bever, J.D., T.G. Platt, E.R. Morton (2012): *Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities.* Annu. Rev. Microbiol. 66: 265 – 283.

Denecke, M. (2010-2013): *Entwicklung einer Kombination aus anaerober Ammoniumoxidation (ANAMMOX) und Denitrifikation.* DBU- Forschungsprojekt, Univ. Duisburg-Essen.

Eccles, H. (1999): *Treatment of metal-contaminated wastes: why select a biological process?*
Trends Biotechnol. 17: 462 – 465.

Gubry-Rangin, C., B. Hai, C. Quince, M. Engel, B.C. Thomson, P. James, M. Schloter, R.I. Griffiths, J.I. Prosser, G.W. Nicol (2011): *Niche specialization of terrestrial archaeal ammonia oxidizers.* Proceedings of the National Academy of Sciences. PNAS December 8.

Gy, L., N. Hu, D.X. Ding, J.F. Zheng, Y.L. Liu, Y.D. Wang, X.Q. Nie (2011): *Screening of plant species for phytoremediation of uranium, thorium, barium, nickel, strontium and lead contaminated soils from uranium mill tailings repository in South China.*
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 86 (6): 646 – 652.

Hatzenpichler, R. et al. (2008): *A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring.* Proceedings of the National Academy of Sciences USA 105, 2134-2139.

Kartal, B., N.M. de Almeida, J.M. Wouter, H.J.M. Op den Camp, M.S.M. Jetten, J.T. Keltjens (2013): *How to make a living from anaerobic ammonium oxidation.*
FEMS Microbiol. Rev. 37: 428-461.

Könneke, M. et al. (2005): *Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon.*
Nature 437: 543-546.

Kowalska, J., E. Stryjewska, G. Bystrzejewska-Piotrowska, K. Lewandowski, M. Tobiasz, J. Paldyna, J. Gollimowski (2011): *Studies of plants useful in the re-cultivation of heavy metals-contaminated wasteland - a new Hyperaccumulator of Barium?*
Pol. J. Environ. Stud. 21(2): 401 – 405.

Kuiper, I., E.L. Lagendijk, G.V. Blomberg, B.J. Lugtenberg (2004): *Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction.* Mol. Plant-Microbe Interact. 17: 6 – 15.

Kulle, E.- P., Bidlingmaier, W. (2003): *Ein neuartiges Verfahren mit Kompostfilter und bewachsenem Bodenfilter zur Reinigung schwach belasteter Deponiesickerwässer.*
Müll und Abfall, Ausgabe 02, S. 79 - 85.

Kunst, S. (2001-2004): *Entwicklung und großtechnische Realisierung eines innovativen einstufigen Verfahrens zur N- Elimination aus hochgradig N- belasteten Abwasserströmen mit niedrigem C/N- Verhältnis.* DBU- Forschungsprojekt, Univ. Hannover.

Kunst, S. (2005-2010): *Entwicklung von Betriebsstrategien für die abwassertechnische Nutzung des Anammoxprozesses in Sequencing Batch Reaktoren zur N- Elimination.*
DBU- Forschungsprojekt, Univ. Hannover.

Long, A., J. Heitman, C. Tobias (2010): *Importance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) in agricultural soils.* ASA, CSSA and SSSA International Annual Meeting. Long Beach, CA, USA;
Oct. 31 – Nov. 4.

Malik, A. (2004): *Metal bioremediation through growing cells.* Environ. Int. 30: 261 – 278.
Abschlussbericht AZ 31688/01

Nicol, G.W., S. Leininger, C. Schleper, J.I. Prosser (2008): *The influence of soil pH on the diversity, abundance transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria.* Environ. Microbiol. 10, 2966-2978.

Pilon-Smits, E. (2005): *Phytoremediation.* Annu. Rev. Plant Biol. 56: 15 – 39.

Sagiroglu, A., A. Sasmaz, Ö. Sen (2006): *Hyperaccumulator plants of the Keban mining district and their possible impact on the environment.* Pol. J. Environ. Stud. 15: 317.

Salt, D.E., R.D. Smith, I. Raskin (1998): *Phytoremediation.* Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 643 – 668.

Stahl, D.A., J. de la Torre (2012): *Physiology and diversity of ammonia-oxidizing bacteria.* Annu. Rev. Microbiol. 66, 83-101.

Van de Graaf, A.A., A. Mulder, P. de Bruijn, M.S.M. Jetten, L.A. Robertson, J.G. Kuenen (1995): *Anaerobic oxidation of ammonia is a biologically mediated process.* Appl. Environ. Microbiol. 61: 1246-1251.

Verbruggen, N., Ch. Hermans, H. Schat (2009): *Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants.* New Phytol. 181: 759.

Vickery, B., M.L. Vickery (1975): *The synthesis and defluorination of monofluoroacetate in some Dichapetalum species.* Phytochemistry 14: 423-427.

Wu, C.H., T.K. Wood, A. Mulchandani, W. Chen (2006): *Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals.* Appl. Environ. Microbiol. 72 (2): 1129 – 1134.

Zopfi, A., S. Humbert, A. Bagnoud, S. Tarnawski, F. Conen, B. Seth (2009): *Anammox in terrestrial ecosystems: Distribution, diversity and activity.* Goldschmidt Conference, Switzerland

Anlage 1 - Tabelle Auswertung Untersuchungen Pflanzenbeete

Anlage 2 Prüfprotokoll „Untersuchung von Pflanzenteilen“ (abschließend) vom 02.11.2018

Wissenschaftlicher Direktor: Prof. Dr.-Ing. habil. C. Könke
Abteilung: Baustoffe
Abteilungsleiter: Dipl.-Ing. A. Fischer

MFA Weimar
Coudraystr. 9
99423 Weimar
Frau K. Krause
Tel. 03643 / 564 356
Fax 03643 / 564 201
Email katrin.krause@mfa.de

Prüfprotokoll Nr. P 13.19.135.01



Auftrag: Untersuchung von Pflanzenteilen

Auftrags-Nr. (MFA): 19.135/1-9

Auftraggeber: MFA, Abteilung 50, Herr Dr. Kulle

Auftrag vom: 02.11.2018

Normen /Vorschriften

/1/ DIN 38414-4: 1984-10	Eluierbarkeit mit Wasser (in Anlehnung)
/2/ DIN EN ISO 10304-1:2009-07	Bestimmung der gelösten Anionen mittels IC
/3/ DIN 38405-4:1985-07	Bestimmung von Fluorid (D 4)
/4/ DIN EN ISO 11885:2009-09	Bestimmung von ausgewählten Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES)
/5/ DIN EN 13657:2003-01	Königswasseraufschluss

Weimar,
17.04.2019



Dipl.-Chem. K. Krause
Laborleiterin

1 Allgemeine Angaben

Aufgabenstellung:	Bestimmung von wasserlöslichen Bestandteilen: F, Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ Königswasseraufschluß: Na, K, Ca, Mg, P, Ba Feuchte und Glühverlust
Probenart:	Pflanzenteile, Boden
Probenanzahl:	9
Probenbezeichnung:	siehe Ergebnistabellen
Probeneingang:	02.11.2018
Probenehmer:	Auftraggeber
Bearbeiter:	Graba, Martin, Rudolph, Schütz

2 Untersuchungen

Untersuchung nach Prüfdurchführung gemäß /1/ bis /5/

3 Ergebnisse

Analysenparameter	Einheit	Pflanzen Beet 1	Pflanzen Beet 2	Pflanzen Beet 3	Bemerkung
		19.135-1	19.135-2	19.135-3	
Feuchte 105°C	Ma.-%	8,65	6,67	6,79	
GV 550°C	Ma.-%	92,7	96,1	95,9	
wasserlösliche Salze					
NO ₃ - N	mg/kg TS	157,0	76,4	81,2	aus TS
F	mg/kg TS	11,0	7,5	23,8	aus TS
Cl	mg/kg TS	12850	10850	8500	aus TS
SO ₄	mg/kg TS	3210	5350	4050	aus TS
Königswasseraufschluß					
Na	mg/kg TS	1024	1114	1407	aus Asche
Na ₂ O	mg/kg TS	1380	1501	1897	aus Asche
K	mg/kg TS	7926	3012	3836	aus Asche
K ₂ O	mg/kg TS	9547	3628	4621	aus Asche
Ca	mg/kg TS	9050	4172	3905	aus Asche
CaO	mg/kg TS	12663	5837	5464	aus Asche
Mg	mg/kg TS	1301	609	523	aus Asche
MgO	mg/kg TS	2158	1009	866	aus Asche
P	mg/kg TS	1005	1031	987	aus Asche
P ₂ O ₅	mg/kg TS	2302	2362	2262	aus Asche
Ba	mg/kg TS	23,4	11,8	23,9	aus Asche

Analysenparameter	Einheit	Wurzeln Beet 1	Wurzeln Beet 2	Wurzeln Beet 3	Bemerkung
		19.135-4	19.135-5	19.135-6	
Feuchte 105°C	Ma.-%	7,59	4,55	1,35	
GV 550°C	Ma.-%	74,0	57,7	59,8	
wasserlösliche Salze					
NO ₃ - N	mg/kg TS	2123	5907	3908	aus TS
F	mg/kg TS	21,8	12,5	29,3	aus TS
Cl	mg/kg TS	16100	9150	16550	aus TS
SO ₄	mg/kg TS	1315	1180	1885	aus TS
Königswasseraufschluß					
Na	mg/kg TS	2692	2021	1667	aus Asche
Na ₂ O	mg/kg TS	3629	2724	2248	aus Asche
K	mg/kg TS	8499	7941	5926	aus Asche
K ₂ O	mg/kg TS	10238	9566	7139	aus Asche
Ca	mg/kg TS	6093	5786	3600	aus Asche
CaO	mg/kg TS	11274	9697	5038	aus Asche
Mg	mg/kg TS	1381	1777	1424	aus Asche
MgO	mg/kg TS	2290	2947	2361	aus Asche
P	mg/kg TS	1621	2307	1272	aus Asche
P ₂ O ₅	mg/kg TS	3713	6653	2913	aus Asche
Ba	mg/kg TS	132	63,4	71,9	aus Asche

Analysenparameter	Einheit	Beet 1	Beet 2	Beet 3	Bemerkung
		19.135-7	19.135-8	19.135-9	
Feuchte 105°C	Ma.-%	16,92	13,46	22,52	
GV 550°C	Ma.-%	5,52	4,37	5,42	
wasserlösliche Salze					
NO ₃ - N	mg/kg TS	278	165	225	aus TS
F	mg/kg TS	21,3	15,5	21,0	aus TS
Cl	mg/kg TS	1040	144	1070	aus TS
SO ₄	mg/kg TS	129	52	79	aus TS
Königswasseraufschluß					
Na	mg/kg TS	306	260	327	aus Asche
Na ₂ O	mg/kg TS	412	350	442	aus Asche
K	mg/kg TS	3160	3825	3812	aus Asche
K ₂ O	mg/kg TS	3807	4608	4591	aus Asche
Ca	mg/kg TS	1470	1570	2383	aus Asche
CaO	mg/kg TS	2056	2196	3334	aus Asche
Mg	mg/kg TS	1641	2317	2224	aus Asche
MgO	mg/kg TS	2721	3842	3687	aus Asche
P	mg/kg TS	329	372	403	aus Asche
P ₂ O ₅	mg/kg TS	753	843	924	aus Asche
Ba	mg/kg TS	72,7	78,0	82,0	aus Asche

Ende des Prüfprotokolls

Anlage 3 - Analysenbericht „Spezifische Analyse von anaeroben Ammoniumoxidierern (ANAMMOX)“

Spezifische Analyse von anaeroben Ammoniumoxidierern (ANAMMOX) mittels der VIT® Gensondentechnologie

KUNDE:	MFPA Weimar	KONTAKT:	Herr Dr. Kulle
KUNDEN-NR:	K182017	REFERENZ/AUFTRAGS-NR:	B18-1054
PROBENEINGANG:	26.10.2018	PROJEKT:	P1810133
ANGEWANDTE METHODE:	VIT® Gensondentechnologie	ANZAHL DER PROBEN:	3

A. PROJEKT

Bodenfiltermaterial (Sand / Kies) der MFPA Weimar wurden mit Hilfe der molekularbiologischen vermicon-Gensondentechnik hinsichtlich ihres Gehaltes an anaeroben Ammoniumoxidierern (ANAMMOX-Bakterien) untersucht. Als Kontrolle wurde in allen Proben zusätzlich ein Test auf aerobe Nitrifikanten durchgeführt.

B. VIT® GENSONDENTECHNOLOGIE

Das Prinzip der VIT® Gensondentechnologie basiert darauf, dass Fluoreszenz-markierte Gensonden in die morphologisch intakten Zellen eindringen und diese anschließend fest an ihre spezifischen Zielstellen innerhalb der Zellen binden. Eine Identifizierung und Quantifizierung findet nach Anregung des an die Gensonden gekoppelten Fluoreszenzfarbstoffes unter dem Fluoreszenzmikroskop statt. Diese molekularbiologische Analysenmethode ermöglicht es, Mikroorganismen spezifisch, individuell und kultivierungsunabhängig direkt in der Untersuchungsprobe (*in situ*) zu visualisieren, zu identifizieren und zu quantifizieren. Der große Vorteil der Methode liegt darin, dass die Identifizierung auf dem Nachweis der Erbsubstanz beruht und somit nicht von phänotypischen Merkmalen abhängt, die gerade bei vielen Bakterien sehr variabel sein können. Es lassen sich mikrobielle Charakteristika von Schlämmen und Populationsveränderungen sehr exakt analysieren. Da der Nachweis nicht auf der DNS der Zellen, sondern auf der rRNS der Zellen beruht, werden mit den Gensonden nur lebende, physiologisch aktive Zellen nachgewiesen. Dabei spiegelt die Signalstärke die Aktivität der einzelnen Zellen wider: Je aktiver die Zellen sind, desto mehr ribosomale RNA ist in den Zellen vorhanden und umso heller erscheint das Fluoreszenzsignal durch die erhöhte Anzahl an gebundenen Gensonden. Die Nachweisgrenze dieser Methode entspricht in etwa 1.000 Zellen / ml.

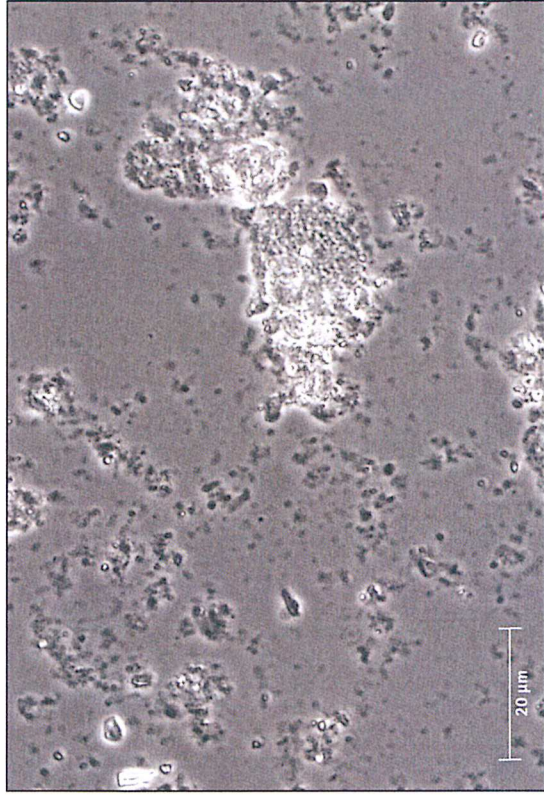
C. DURCHFÜHRUNG

Im Einzelnen wurden folgende Arbeiten durchgeführt:

- Ablösen des Biofilms von dem jeweiligen Bodenfiltermaterial inkl. Ultraschall und starkem Vortexen.
- Untersuchung des Probenmaterials mit einer fluoreszenzmarkierten Gensonde, die spezifisch die ANAMMOX-Bakterien sowie einer universellen Gensonde, die alle lebenden Bakterien erfasst, sowie den spezifischen Gensonden für die aeroben Nitrifikanten
- Analyse der bakteriellen Populationen mittels Fluoreszenzmikroskopie: Quantifizierung der aeroben und anaeroben Nitrifikanten in Relation zur lebenden Gesamtpopulation
- Dokumentation der Ergebnisse

Spezifische Analyse von ANAMMOX-Bakterien; MFPA Weimar, Bodenfiltermaterial B3, 24.10.18

A



B



Bild A:

Phasenkontrast;

Bilder B-C: Identische

Ausschnitte unter Fluoreszenz:

Bild B:

Spezifischer Nachweis der
ANAMMOX-Bakterien in rot

C

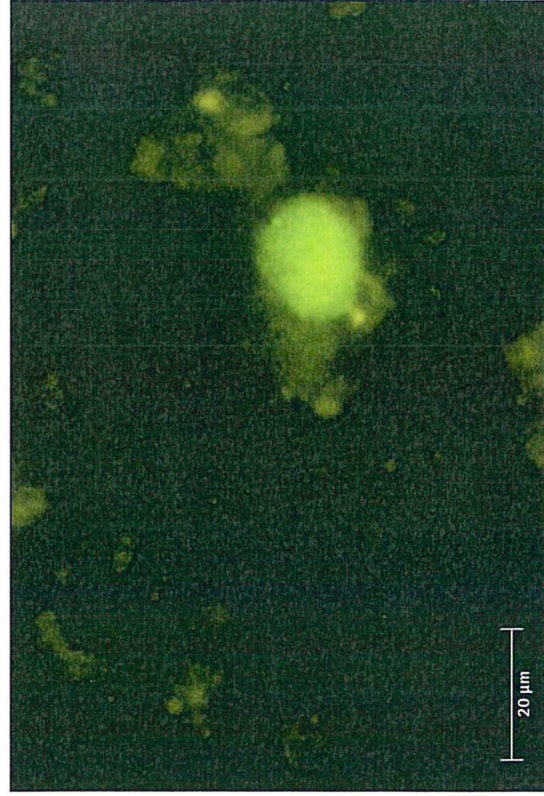
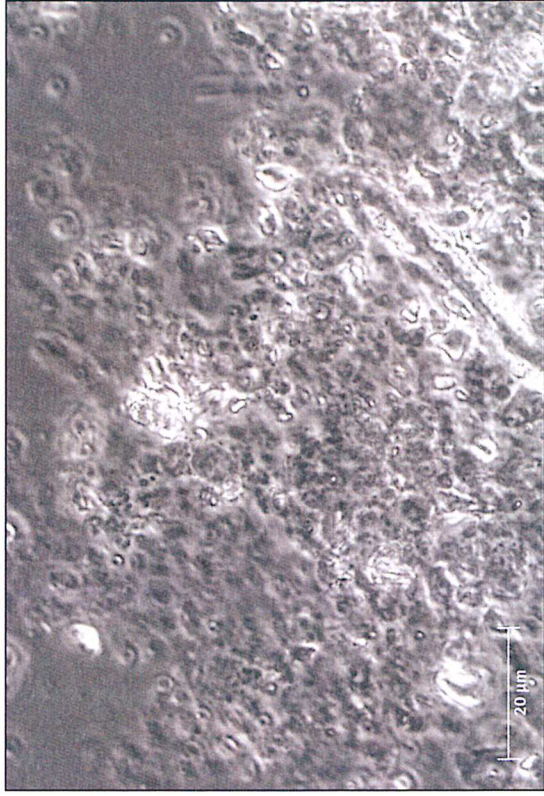


Bild C:

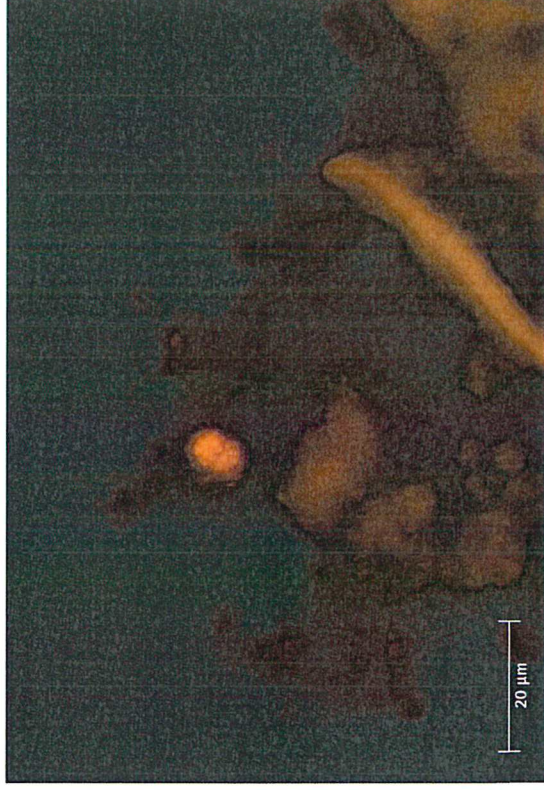
Nachweis der **lebenden**
Bakterien in grün

Aerobe Nitrifikantenanalyse; MFPA Weimar, Bodenfiltermaterial B1, B2

A



B



Probe B1, 24.10.18

Bild A:

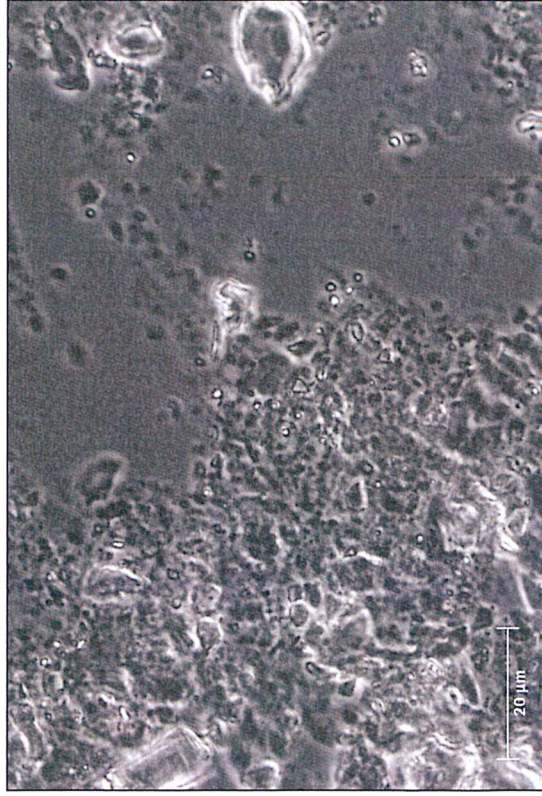
Phasenkontrast;

Identischer Ausschnitt unter
Fluoreszenz:

Bild B:

Spezifischer Nachweis der AOB
in rot

C



Probe B2, 24.10.18

Bild C:

Phasenkontrast;

Identischer Ausschnitt unter
Fluoreszenz

Bild D:

Spezifischer Nachweis der AOB
in rot



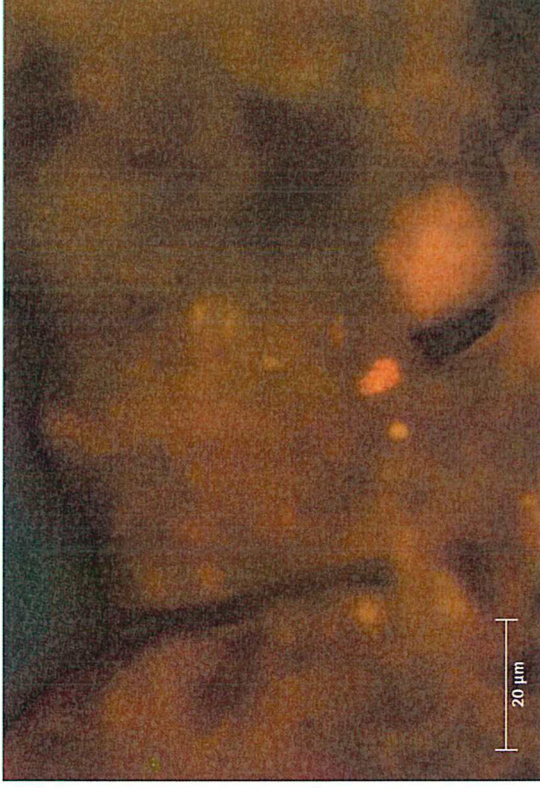
Gesamtvergrößerung der
mikroskopischen Aufnahme: 1000-fach

D

A



B



Probe B3, 24.10.18

Bild A:

Phasenkontrast;

Identischer Ausschnitt unter
Fluoreszenz:

Bild B:

Spezifischer Nachweis der AOB
in rot

D. ERGEBNISSE

Aus den Proben konnten insgesamtvergleichsweise wenige lebende Bakterien extrahiert werden. Anaerobe Ammonium-Oxidierer (ANAMMOX-Bakterien) wurden dabei nur in der Probe B3 in Form der typischen dicht gepackten Zellcluster nachgewiesen. Der prozentuale Anteil der ANAMMOX-Bakterien an allen lebenden Bakterien wurde dabei mit 10% bestimmt.

Als Kontrolle wurden zudem die aeroben Nitrifikanten analysiert. Nitrit-oxidierende Bakterien (NOB) wurden in keiner Probe nachgewiesen, Ammonium-oxidierende Bakterien (AOB) wurden mit steigenden Anteilen von der Probe 1 bis 3 nachgewiesen (siehe auch Foto-Dokumentation). Sie wurden in kleinen kompakten Zellclustern nachgewiesen.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Analysenergebnisse

Untersuchte Proben	Anaerobe Ammoniumoxidierer (ANAMMOX-Bakterien) Anteil an der lebenden Gesamtpopulation	AOB Anteil an der lebenden Gesamtpopulation
B1, 24.10.18	n. n.	1%
B2, 24.10.18	n. n.	3%
B3, 24.10.18	10%	5%

n. n. = nicht nachweisbar

E. ANHANG

Bilddokumentation der Ergebnisse

vermicon AG, München, 27.11.2018



Dr. Claudia Beimfohr